



Departamento de  
Química Orgánica

Instituto de Química  
Orgánica General

**Síntesis de nuevos catalizadores basados en  
prolina y evaluación de su actividad en la  
reacción aldólica**

Memoria que para optar al grado de doctor presenta:

Elisa García Doyagüez

Director:

Dr. Alfonso Fernández-Mayoralas Álvarez

Madrid, Noviembre de 2009



## Acrónimos y abreviaturas

Ab	Siglas en inglés para anticuerpo
AIBN	Azobisisobutironitrilo
AMA	Siglas en inglés de ácido arilmetoxiacético
Asp	Ácido aspártico
Bn	Bencilo
<sup>t</sup> Bu	<i>terc</i> -Butilo
Cbz	Carbobenciloxi
CD	Ciclodextrina
Cy	Ciclohexilo
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNJ	Desoxinojirimicina
EM	Espectrometría de masas
ET	Estado de transición
FucA	Fuculosa aldolasa
GPC	Cromatografía de permeación en gel
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
IEP	Siglas en inglés para punto isoeléctrico
IR	Infrarrojo
ITQ	Instituto de Tecnología Química
MCM-41	Mobil Composition of Matter nº 41
Me	Metil
NOE	Siglas en inglés de efecto nuclear Overhauser
pdb	Protein data bank
PEG	Polietilenglicol
Phe	Fenilalanina
Pro	Prolina
PS	Siglas en inglés para poliestireno
RSC	Royal Society of Chemistry
Ser	Serina
Thr	Treonina
TEMPO	Radical tetrametilpiperidinoxilo

TFA	Ácido trifluoroacético
Ts	<i>p</i> -Toluensulfonilo (Tosilo)
TS	Siglas en inglés para estado de transición
THF	Tetrahidrofurano
<i>p</i> -TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
Tyr	Tirosina
RMN	Resonancia magnética nuclear
TMS	Trimetilsililo

## Índice

### **Página 1. Capítulo 1: Introducción y objetivos**

*Página 3.* 1.1 Introducción

*Página 5.* 1.1.1 L-Prolina: aplicaciones como organocatalizador

*Página 14.* 1.1.2 Inmovilización de catalizadores orgánicos

*Página 15.* 1.1.2a Materiales mesoporosos como soporte

*Página 16.* 1.1.2b Polímeros basados en monómeros de hidroxiprolina

*Página 20.* 1.1.3 Diseño de enzimas artificiales basado en el empleo de prolina

*Página 22.* 1.2 Objetivos.

### **Página 25. Capítulo 2: Síntesis de iminoazúcares mediante una reacción aldólica catalizada por prolina en fase homogénea y evaluación biológica de los mismos como inhibidores de enzimas glicosidasas**

*Página 27.* 2.1 Introducción y objetivos

*Página 27.* 2.1.1. La reacción aldólica catalizada por prolina

*Página 33.* 2.1.2 Síntesis organocatalítica de carbohidratos

*Página 35.* 2.1.3 Objetivos

*Página 38.* 2.2 Resultados y discusión

*Página 38.* 2.2.1 Síntesis de iminoazúcares mediante una reacción aldólica catalizada por prolina en disolución

*Página 38.* 2.2.1a Síntesis de los aldehídos

*Página 39.* 2.2.1b Reacciones aldólicas catalizadas por prolina en fase homogénea

*Página 42.* 2.2.1c Estudio del origen de la doble inducción asimétrica en la reacción aldólica catalizada por prolina entre el aldehído **16** y la cetona **1**

*Página 54.* 2.2.1d Obtención de iminoazúcares de 5 miembros a partir de los aldeoles obtenidos en el punto 2.2.1.b

*Página 57.* 2.2.2 Evaluación biológica de los iminoazúcares obtenidos como inhibidores de enzimas glicosidasas

*Página 57.* 2.2.2a Iminoazúcares como inhibidores de glicosidasas

*Página 62.* 2.2.2b Evaluación biológica de los productos sintetizados como inhibidores de enzimas glicosidasas

*Página 66.* 2.2.2c Estudio estructura/actividad de los iminoazúcares ensayados como inhibidores empleando técnicas computacionales de acoplamiento molecular (docking)

### **Página 73. Capítulo 3: Estudio de la reacción aldólica catalizada por prolina heterogeneizada sobre un material mesoporoso**

*Página 75.* 3.1 Introducción y objetivos

*Página 75.* 3.1.1. La reacción aldólica catalizada por prolina inmovilizada

*Página 76.* 3.1.2 Materiales mesoporosos funcionalizados

*Página 78.* 3.1.3 Objetivos

*Página 79.* 3.2 Resultados y discusión

*Página 79.* 3.2.1 Síntesis del catalizador

*Página 81.* 3.2.2 Reacciones aldólicas con MCM41-Pro como catalizador

### **Página 93. Capítulo 4: Estudio de la reacción aldólica catalizada por polímeros preparados a partir de monómeros metacrílicos de hidroxiprolina**

*Página 95.* 4.1 Introducción y objetivos

*Página 95.* 4.1.1. Catalizadores soportados sobre soportes poliméricos

*Página 97.* 4.1.2 Prolina y sus derivados soportados sobre polímeros como catalizadores de la reacción aldólica

*Página 100.* 4.1.3 La reacción aldólica asimétrica organocatalizada en medios acuosos

*Página 104.* 4.1.4 Objetivos

*Página 106.* 4.2 Resultados y discusión

*Página 106.* 4.2.1 Síntesis de los monómeros

*Página 107.* 4.2.2 Preparación de los homopolímeros. Reacción de polimerización

*Página 113.* 4.2.3 Estudios de sensibilidad al pH de los homopolímeros **A** y **B**.

*Página 116.* 4.2.4 Evaluación de los homopolímeros **A** y **B** como catalizadores de la reacción aldólica

*Página 118.* 4.2.5 Preparación de los copolímeros

*Página 125.* 4.2.6 Evaluación de los homopolímeros **C** y **D** como catalizadores de la reacción aldólica

*Página 135.* 4.2.7 Polímeros lineales frente a polímeros entrecruzados

## **Página 139. Capítulo 5: Diseño de enzimas artificiales basados en $\beta$ -ciclodextrinas modificadas con derivados de prolina**

*Página 141.* 5.1 Introducción y objetivos

*Página 141.* 5.1.1 Introducción a la química de las ciclodextrinas

*Página 144.* 5.1.2 Moléculas basadas en ciclodextrinas como catalizadores de la reacción aldólica

*Página 146.* 5.1.3 Objetivos

*Página 149.* 5.2 Resultados y discusión

*Página 149.* 5.2.1 Síntesis de los catalizadores

*Página 154.* 5.2.2 Evaluación de los derivados de  $\beta$ -ciclodextrina funcionalizados con prolina como catalizadores de la reacción aldólica

*Página 168.* 5.2.3 Conclusiones acerca de los resultados obtenidos

## **Página 171. Conclusiones**

## **Página 175. Parte experimental**

**Página 257. Apéndice I: Resumen de la Tesis y Conclusiones en Inglés.  
(Requisitos para la Mención Doctorado Europeo)**

**Página 271. Apéndice II: Curriculum Vitae**



## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS**



## 1.1 INTRODUCCIÓN

La organocatálisis puede definirse como el empleo de moléculas orgánicas pequeñas para catalizar reacciones orgánicas. Es un tema de investigación relativamente nuevo y popular en el campo de la síntesis enantioselectiva, presentándose como una alternativa al uso de los tradicionales complejos metal-ligando o las enzimas.

A pesar de que transformaciones químicas que utilizan catalizadores orgánicos ya habían sido descritas ocasionalmente a lo largo del siglo pasado, no fue hasta finales de los años 90 cuando realmente puede decirse que nació la organocatálisis, a través de un pequeño número de publicaciones que provocaron toda una revolución en la investigación en este campo.<sup>1</sup> Entre ellas destacan las publicadas por Benjamin List y Carlos Barbas III, en las cuales se describen reacciones aldólicas enantioselectivas, así como transformaciones tipo Michael y reacciones de Mannich.<sup>2</sup>

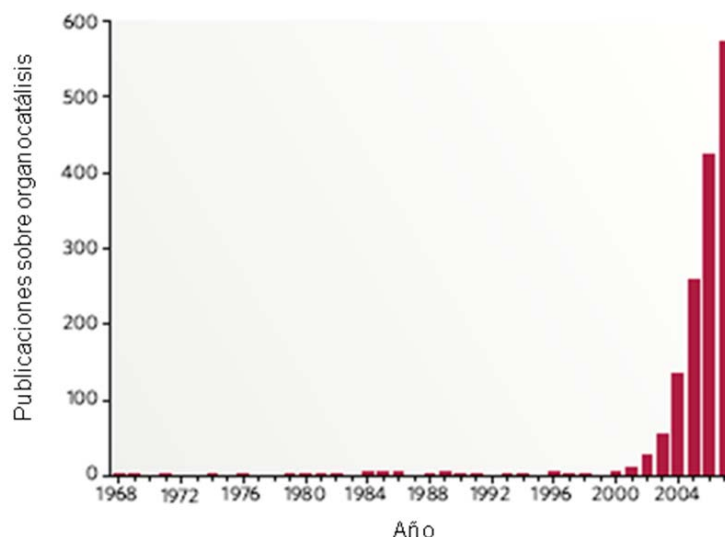
Estos artículos inspiraron a otros grupos de investigación y estimularon el trabajo desarrollado en este campo. Entre los años 1998 y 2008 se publicaron por lo menos 1500 manuscritos que describían el uso de organocatalizadores en más de 130 tipos de reacciones, como se muestra en la figura 1.1, tomada de un artículo publicado por David W. C. MacMillan en *Nature*.<sup>3</sup> En ella podemos observar que el número de estos artículos se ha incrementado e incluso doblado año tras año. Y actualmente se encuentra ampliamente aceptado el hecho de que la organocatálisis es una de las ramas principales de la síntesis enantioselectiva, junto con la catálisis enzimática y la organometálica.

---

<sup>1</sup> Berkessel, A.; Gröger, H. en *Asymmetric Organocatalysis: from Biomimetic Concepts to Applications in Asymmetric Synthesis*, VCH, Wiley, **2005**.

<sup>2</sup> (a) List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-2396.(b) Sakthivel, K.; Notz, W.; Bui, T.; Barbas III, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5260-5267.

<sup>3</sup> MacMillan, D. W. C. *Nature* **2008**, *455*, 304-308.



**Figura 1.1.** Incremento del número de artículos publicados en el campo de la organocatálisis desde 1968 hasta 2008. Los datos fueron obtenidos mediante una búsqueda en el ISI Web of Knowledge en mayo de 2008 empleando como palabras clave organocatálisis y sus derivados, transferencia de fase, enamina y Hajos.<sup>3</sup>

Aunque inicialmente sólo se conocían unos pocos ejemplos específicos, desde el año 2000 este área de investigación se expandió rápidamente, ampliándose al mismo tiempo el conocimiento sobre diseño de catalizadores, activación de sustratos y consideraciones mecánísticas.

Esta rápida expansión del campo de la organocatálisis es posible solamente cuando algo ofrece verdaderas ventajas a los investigadores que lo explotan. En este caso, las ventajas que ofrece radican en el ahorro tanto en coste, como en procedimientos experimentales más sencillos y reducción de los residuos químicos. Estos beneficios surgen de tres factores: 1) las moléculas orgánicas son generalmente insensibles al oxígeno y la humedad de la atmósfera, por lo tanto no hay necesidad de emplear matraces de reacción especiales ni técnicas de secado de reactivos o disolventes; 2) una amplia variedad de reactivos orgánicos tales como aminoácidos, carbohidratos o hidroxácidos son accesibles a partir de fuentes naturales como un único enantiómero, lo cual conlleva que organocatalizadores simples basados en estas moléculas sean baratos y fácilmente accesibles en cantidades adecuadas tanto para llevar a cabo reacciones a pequeña escala como para reacciones a escala industrial; 3) la mayor parte de las moléculas pequeñas (como los aminoácidos) en que se basan los organocatalizadores normalmente son inocuas, incrementando así la seguridad en los centros de investigación.

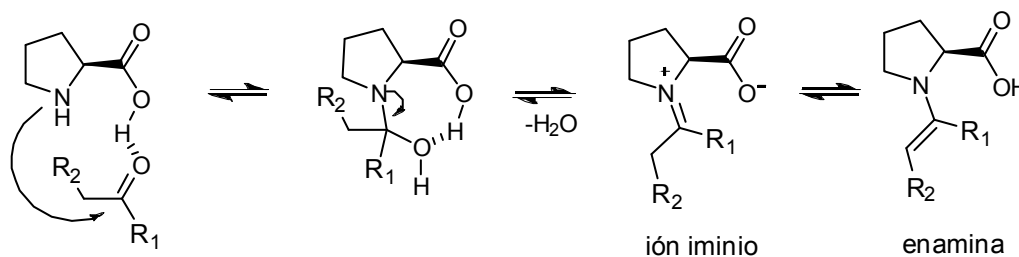
Además, los organocatalizadores son más manejables a la hora de anclarlos a un soporte que los catalizadores metálicos o las enzimas, y esta inmovilización facilitaría la recuperación y el reciclaje del catalizador.

Dadas todas las ventajas que presenta y el fuerte crecimiento que ha experimentado a lo largo de la última década, va a ser realmente interesante observar el desarrollo que este campo va a continuar experimentando durante los próximos años.

### 1.1.1 L-Prolina: aplicaciones como organocatalizador

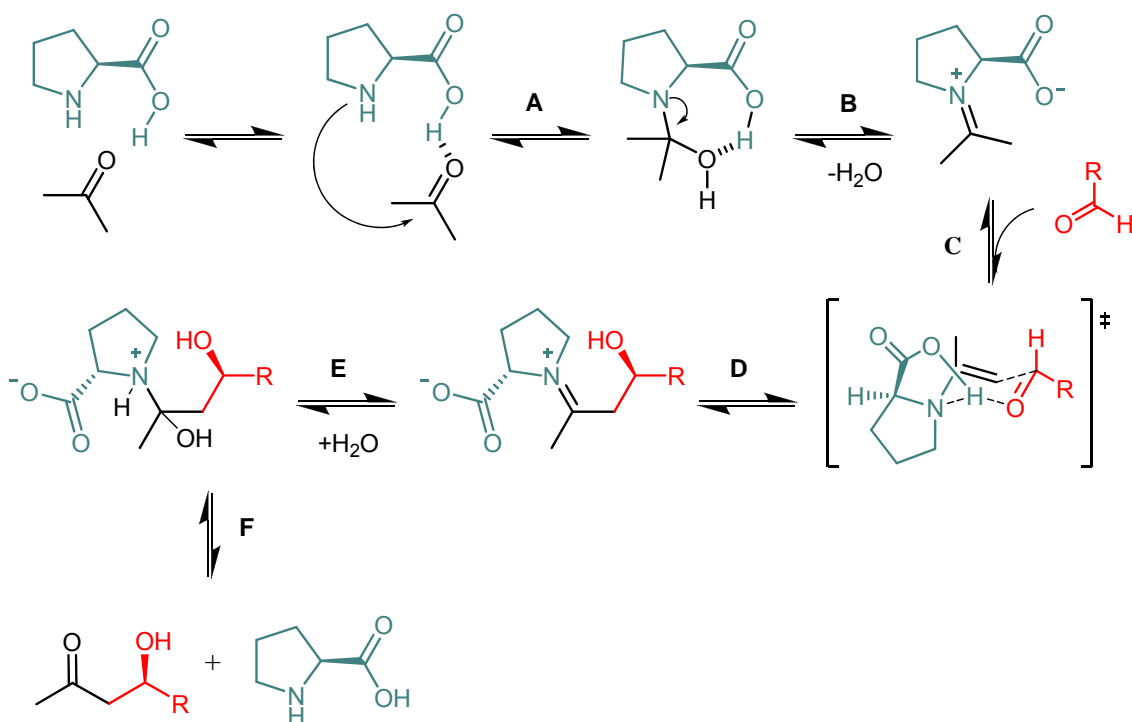
Uno de los organocatalizadores más ampliamente utilizados ha sido el aminoácido *prolina*. Aunque la forma natural L- es la que se usa más comúnmente, la prolina se encuentra disponible comercialmente en sus dos formas enantioméricas, lo cual hace posible catalizar reacciones enantiocomplementarias. Además, la hidroxiprolina está también disponible comercialmente, y la presencia de este grupo hidroxilo permite derivatizar este aminoácido, así como su anclaje a diferentes soportes.

Pero, ¿por qué ha sido la prolina el aminoácido elegido? La prolina es el único aminoácido natural que presenta una funcionalidad amina secundaria, y, como consecuencia de ello, el átomo de nitrógeno posee un  $pK_a$  más elevado que los demás aminoácidos, y por tanto presenta una mayor nucleofilia. Así, la prolina es capaz de actuar como nucleófilo, particularmente con compuestos carbonílicos o aceptores de Michael, para formar un ión iminio o una enamina (esquema 1.1). En estas reacciones, la función carboxílica actúa como un ácido de Brønsted, convirtiendo así a la prolina en un catalizador bifuncional.



Esquema 1.1.

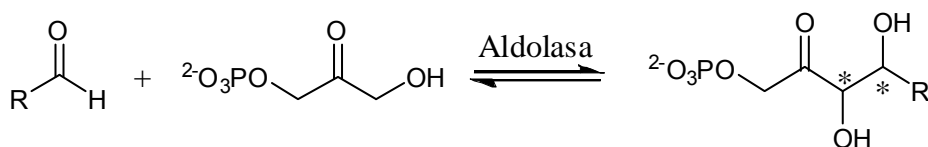
En el esquema 1.2 se muestra el mecanismo aceptado actualmente para la reacción aldólica intermolecular catalizada por L-Prolina entre la acetona y un aldehído. Éste comienza con el ataque nucleófilo del grupo amino al donador (etapa A), deshidratación del intermedio amino carbinol (etapa B), desprotonación de la especie imínica formada (etapa C), formación del enlace C-C por ataque nucleófilo de la enamina, (etapa D) y por último la hidrólisis del aldol-iminio formado (etapas E y F) dando lugar al aldol final.



Esquema 1.2

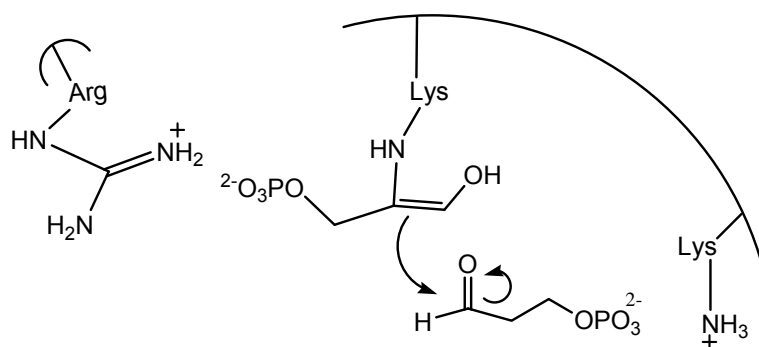
La alta y, en ocasiones, excepcional enantioselectividad de las reacciones llevadas a cabo por prolina se puede explicar por la capacidad de esta molécula para articular estados de transición altamente organizados. En todas las reacciones mediadas por prolina, la transferencia del protón del grupo carboxílico al alcóxido incipiente es esencial para la estabilización de la carga, así como para facilitar la formación del enlace C-C.

Las reacciones aldólicas catalizadas por prolina pueden considerarse como una versión minimalista de las enzimas aldolasas,<sup>4,5</sup> las cuales catalizan reacciones aldólicas enantioselectivas a partir de aldehídos y dihidroxiacetona fosfato (esquema 1.3).<sup>6</sup>



**Esquema 1.3.** Reacción aldólica entre un aldehído y dihidroxiacetona fosfato catalizada por una enzima aldolasa. Dependiendo de la aldolasa empleada, puede obtenerse específicamente uno de los cuatro estereoisómeros posibles del aldol: *D-treo* (3*S*, 4*R*), *L-treo* (3*R*, 4*S*), *L-erythro* (3*S*, 4*S*), *D-erythro* (3*R*, 4*R*).

En este caso, la prolina mimetiza el estado de transición “tipo enamina” de las aldolasas tipo I (figura 1.2).<sup>7</sup>



**Figura 1.2.** Mecanismo de reacción de las aldolasas tipo I.

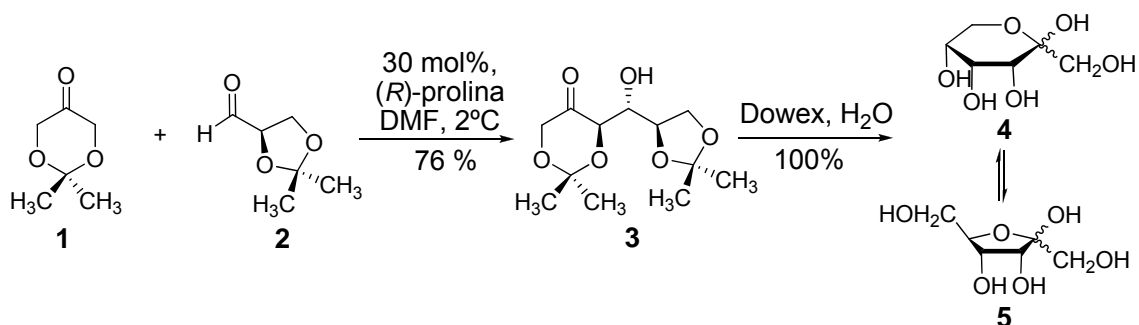
<sup>4</sup> (a) Término introducido en: <sup>2a</sup> List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-2396. (b) E. N. Jacobsen la definió como la “enzima más simple”: Movassaghi, M.; Jacobsen, E. N. *Science*, **2002**, *298*, 1904-1905.

<sup>5</sup> Prolina como mimético de aldolasa ver: (a) Suri, J. T.; Mitsumori, S.; Albertshofer, K.; Tanaka, F.; Barbas, C. F., III, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3822-3828. (b) Suri, J. T.; Ramachary, D. B.; Barbas, C. F., III, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1383-1385. (c) Ibrahim, I.; Zou, W.; Xu, Y.; Córdova, A. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 211-222.

<sup>6</sup> (a) Fessner, W. -D.; Sinerius, G.; Schneider, A.; Dreyer, M.; Schulz, G. E.; Badía, J.; Aguilar, J. *Angew. Chem. Int. ed. Engl.* **1991**, *30*, 555-558. (b) Espelt, L.; Clapés, P.; Esquena, J.; Manich, A.; Solans, C. *Langmuir* **2003**, *19*, 1337-1346.

<sup>7</sup> Wong, C. -H.; Whitesides, G. M. en *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Pergamon Press: Oxford, **1994**.

Al igual que la naturaleza utiliza rutinariamente la reacción aldólica catalizada por aldolasas para llevar a cabo la síntesis de carbohidratos, en este campo la organocatálisis también ha encontrado aplicaciones sintéticas. Así, Enders,<sup>8</sup> empleando el derivado protegido de dihidroxiacetona, 2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-ona (dioxanona, **1**, esquema 1.4) con varios derivados del gliceraldehído en la reacción aldólica catalizada por (*R*)-prolina generó, con excelentes estereoselectividades, aldoles con la misma configuración absoluta que los productos de la enzima fuculosa aldolasa (Fuc A). La hidrólisis ácida de los aldoles obtenidos dio lugar a derivados de D-psicosa (esquema 1.4), proporcionando una ruta directa para la obtención de hexulosas.



Esquema 1.4

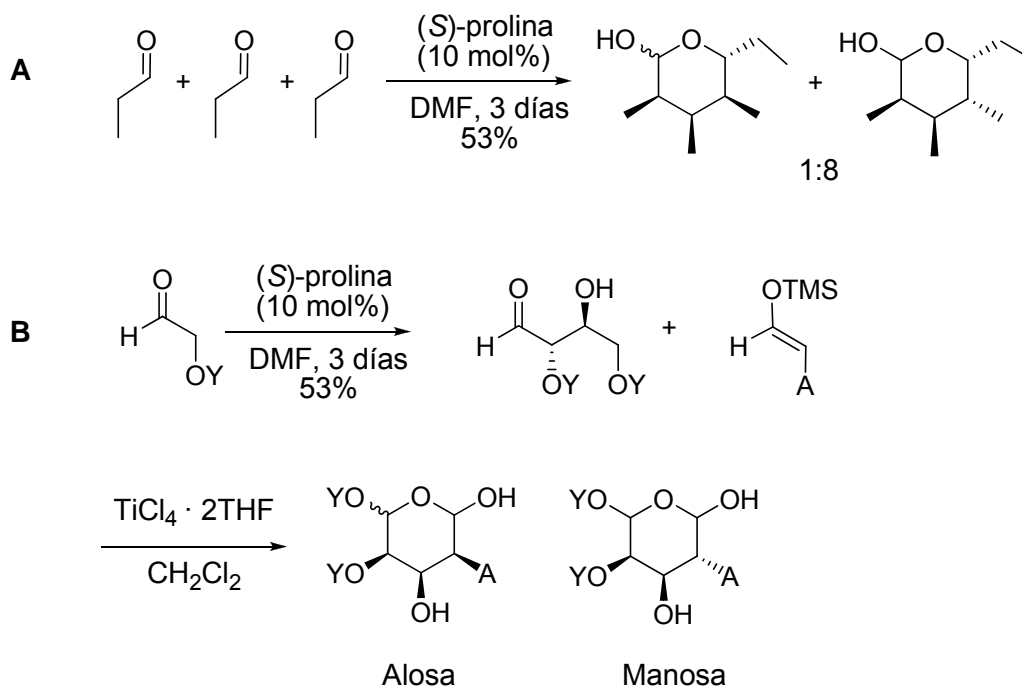
Siguiendo en esta línea, trabajos como el de C. F. Barbas III<sup>9</sup> (esquema 1.5, **A**) o MacMillan<sup>10</sup> (esquema 1.5, **B**) describen la síntesis de piranosas mediante la autocondensación catalizada por prolina entre diferentes aldehídos como propanal o aldehídos α-oxigenados, respectivamente.

<sup>8</sup> (a) Grondal, C.; Enders, D. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 329-337. (b) Enders, D.; Grondal, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1210-1212.

<sup>9</sup> Chowdari, N. S.; Ramachary, D. B.; Córdova, A.; Barbas, C. F. III, *Tetrahedron Letters*, **2002**, *43*, 9591-9595.

<sup>10</sup> (a) Northrup, A. B.; MacMillan, D. W. C. *Science*, **2004**, *305*, 1752-1755. (b) Northrup, A. B.; Mangion, I. K.; Hettche, F.; MacMillan, D. W. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2152-2154.

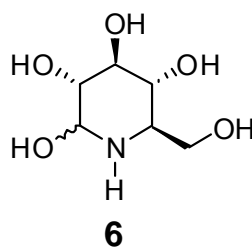




**Esquema 1.5**

A la vista del potencial que presenta para la síntesis de carbohidratos, en nuestro grupo estábamos interesados en aplicar esta metodología para la obtención de iminoazúcares, unos alcaloides polihidroxlados análogos de carbohidratos en los que el oxígeno endocíclico es reemplazado por un átomo de nitrógeno. Este tipo de compuestos se encuentran ampliamente extendidos en plantas y microorganismos.<sup>11</sup>

En 1966 la nojirimicina (**6**)<sup>12</sup> fue descrita como el primer alcaloide mimético de azúcar, siendo originalmente descrita como un antibiótico producido por *Streptomyces*, y posteriormente se mostró como un potente inhibidor de enzimas  $\alpha$ - y  $\beta$ -glucosidasas.



<sup>11</sup> (a) Stutz, A. E. en *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **1999**. (b) Asano, N.; Nash, M. J.; Molyneux, R. J.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1645-1680.

<sup>12</sup> Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Niida, T. *J. Antibiot.* **1966**, *19*, 288-292.

Desde entonces, más de 100 alcaloides polihidroxiados aislados de plantas y microorganismos han sido descritos y utilizados como herramientas de gran interés para el estudio de mecanismos celulares y potenciales agentes terapéuticos.<sup>11a,13</sup> El interés de estos compuestos radica en su capacidad de actuar como potentes inhibidores de glicosidasas, las enzimas responsables de catalizar la hidrólisis de los enlaces glicosídicos. Esta actividad se justifica por la capacidad del nitrógeno del anillo de mimetizar el ión oxonio (A, figura 1.3) generado durante la hidrólisis enzimática de oligosacáridos por la acción de glicosidasas, ya que el átomo de nitrógeno está protonado a pH fisiológico (B, figura 1.3).<sup>11,14</sup>

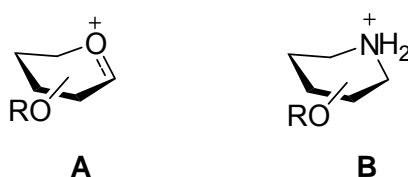


Figura 1.3

Con un mecanismo similar, los iminoazúcares pueden ser inhibidores de glicosiltransferasas, enzimas que catalizan la formación de enlaces glicosídicos y responsables de la síntesis de oligosacáridos. Por tanto, los iminoazúcares pueden ser empleados para inhibir la hidrólisis o la biosíntesis de oligosacáridos, lo cual es de interés en el estudio de los procesos biológicos en que participan oligosacáridos, así como para interferir en el metabolismo de oligosacáridos implicados en ciertas enfermedades metabólicas (diabetes y enfermedad de Gaucher), infecciones microbianas<sup>15</sup> y otros procesos no

<sup>11</sup> (a) Stutz, A. E. en *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **1999**. (b) Asano, N.; Nash, M. J.; Molyneux, R. J.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1645-1680.

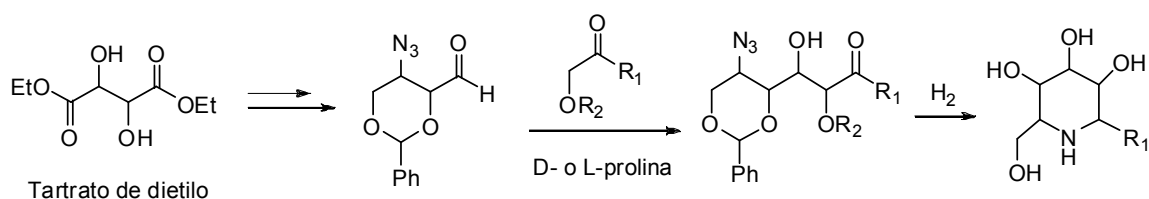
<sup>13</sup> (a) Asano, N.; Yasuda, K.; Kizu, H.; Kato, A.; Fan, J. -Q.; Nash, R. J.; Fleet, G. W. *Eur. J. Biochem.* **2001**, *268*, 35-41. (b) Asano, N.; Kizu, H.; Oseki, K.; Tomioka, E.; Matsui, K.; Okamoto, M.; Baba, M. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2349-2356. (c) Notenboom, V.; Williams, S. J.; Hoos, R.; Withers, S. G.; Rose, D. R. *Biochemistry* **2000**, *39*, 11553-11563. (d) Molyneux, R. J.; Pan, Y. T.; Tropea, J.E.; Elbein, A. D.; Lawyer, C. H.; Hughes, D.J.; Fleet, G. W. J. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 1356-1364. (e) Yasuda, K.; Kizu, H.; Yamashita, T.; Kameda, Y.; Kato, A., Nash, R.; Fleet, G. W. J.; Molyneux, R.; Asano, N. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 198-202.

<sup>14</sup> (a) Bols, M.; Lillehund, V. H.; Jensen, H. H.; Liang, X. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 515-554. (b) Sinnott, M. L. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171-1202.

<sup>15</sup> (a) Burgess, K.; Henderson, I. *Tetrahedron* **1992**, 4045-4066. (b) Casigari, G.; Zanardi, F.; Rasso, G.; Spanu, P. *Chem. Rev.* **1995**, *48*, 6285-6296. (c) Bertozzi, C. R.; Bednarski, M. D.; J. Am. Chem. Soc. **1992**, *114*, 2242-2245. (d) Furhmann, U.; Bause, E.; Ploegh, H. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, *825*, 95-110.

deseados, como puede ser el crecimiento de células tumorales o metástasis cancerígenas.<sup>16</sup> El potencial terapéutico que poseen los iminoazúcares ha conducido a un creciente interés y demanda de estos compuestos.

Hace unos años en nuestro grupo de investigación se decidió estudiar una nueva aproximación a la síntesis de iminoazúcares que implicaba una reacción aldólica catalizada por prolina entre un aldehído con un grupo azido, preparado a partir de tartrato de dietilo, e hidroxiacetona o dioxanona como cetonas donadoras (esquema 1.6).<sup>17</sup>

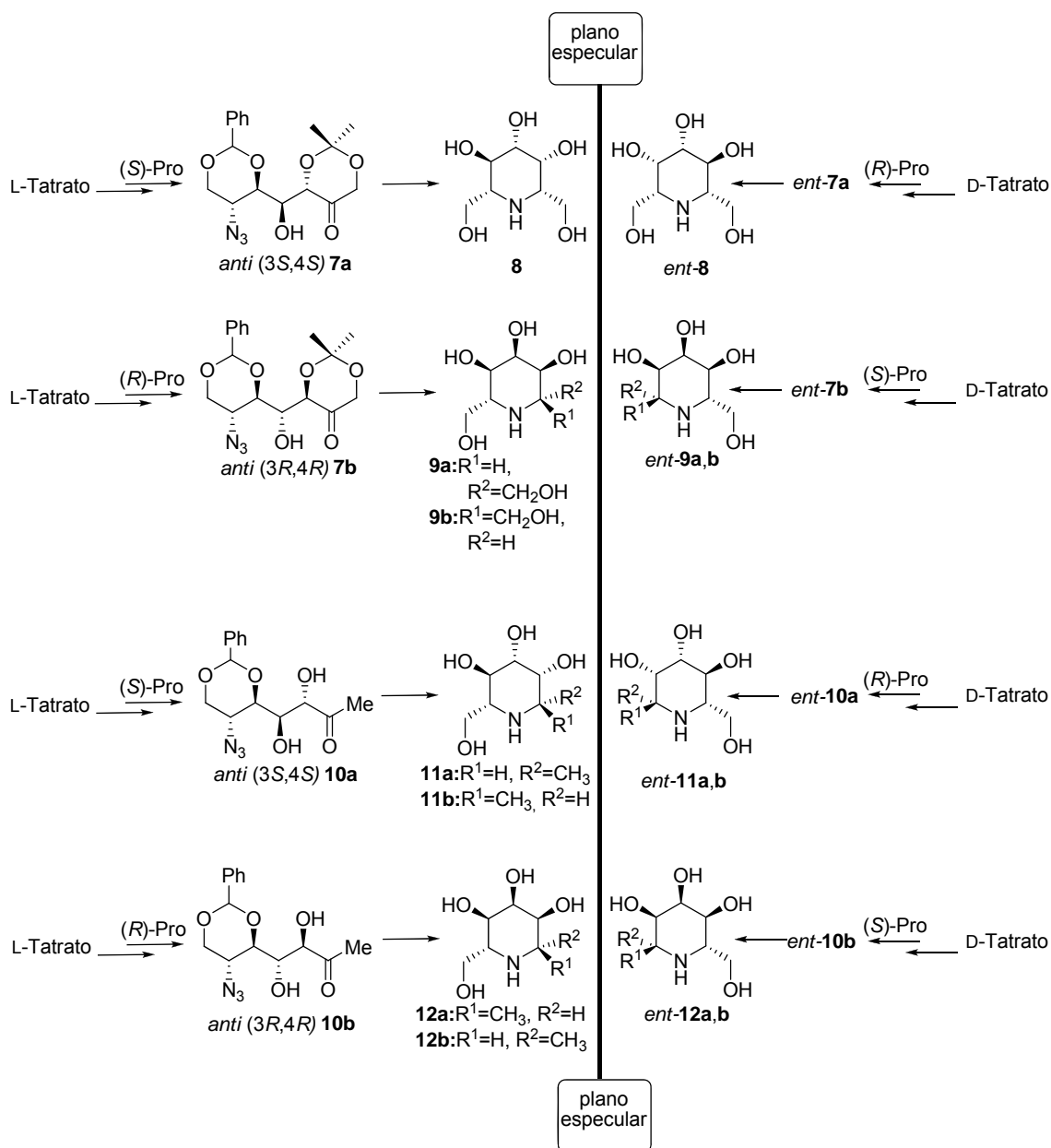


**Esquema 1.6**

La combinación de ambos enantiómeros del tartrato de dietilo con los de la prolina, nos permitió obtener una variedad de iminoazúcares tras la cicloaminación reductora de los aldoles obtenidos. Además, al emplear dos cetonas diferentes como donadores en la reacción aldólica, el número de iminoazúcares posibles se duplicó (esquema 1.7).

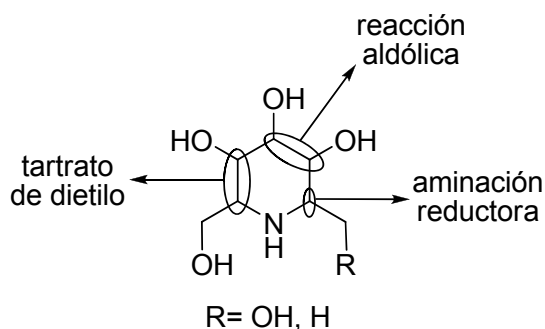
<sup>16</sup> (a) Hakomori, S. -I.; Zhang, Y. *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 97-104. (b) Bernacki, R. J.; Niedbala, M. J.; Korynyck, W. *Cancer Metast. Rev.* **1985**, *4*, 81-102. (c) Dennis, J. W. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 5131-5136. (d) Pili, R.; Chang, J.; Patris, R. A. *Cancer Res.* **1995**, *55*, 2920-2926.

<sup>17</sup> Calderón F.; Doyagüez, E. G.; Fernández-Mayoralas, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6258-6261.



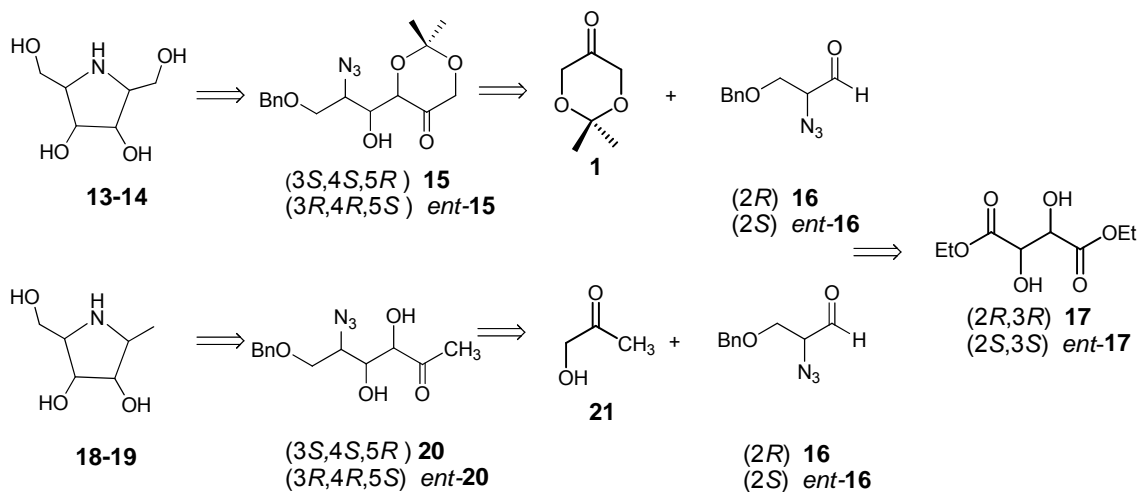
Esquema 1.7

Esta estrategia sintética permitió obtener un surtido de iminoazúcares con anillo de seis miembros, en los que las configuraciones en los distintos centros estereogénicos eran dictadas por la hidrogenación, el enantiómero de prolina empleado y la elección del enantiómero del tartrato de dietilo (figura 1.4).



**Figura 1.4.** Centros estereogénicos introducidos en las distintas etapas de síntesis del iminoazúcar

A la vista de los resultados obtenidos, estábamos interesados en obtener del mismo modo iminoazúcares con anillo de cinco miembros, para lo cual sería necesario en este caso emplear un  $\alpha$ -azidoaldehído en la reacción aldólica. Empleando la misma estrategia sintética esperaríamos obtener un patrón similar para esta clase de iminoazúcares (esquema 1.8). Obtendríamos así una amplia variedad de iminoazúcares que podrían ser evaluados como inhibidores de enzimas glicosidasas.



**Esquema 1.8.** Esquema retrosintético para la obtención de iminoazúcares con anillo de cinco miembros.

### 1.1.2 Inmovilización de catalizadores orgánicos

Desde un punto de vista práctico, la inmovilización de un catalizador orgánico como la prolina, estaría perfectamente justificada simplemente por el hecho de simplificar la separación del catalizador de la mezcla de reacción, facilitar el aislamiento de los productos y lo más importante, permitir la recuperación y el reciclaje del catalizador.<sup>18</sup>

La inestabilidad de un catalizador puede ser otra razón para su inmovilización. En algunos casos en los que el catalizador descompone lentamente bajo las condiciones de reacción, dejando trazas de subproductos, la purificación de los productos puede ser un problema. Éste es el caso, por ejemplo, de las reacciones en las que se emplea TEMPO y porfirinas como catalizadores.<sup>19</sup> La inmovilización del catalizador puede solucionar el problema ya que los productos de descomposición también estarían soportados y se podrían eliminar fácilmente del medio de reacción.

Finalmente, y centrándonos en la reacción aldólica, la inmovilización sobre materiales de elevada superficie activa abre la posibilidad de llevar a cabo la misma en disolventes apolares, en contraste con la prolina, que requiere el uso de disolventes altamente polares, como DMF y DMSO.

Recientemente se ha publicado una revisión muy completa por un grupo portugués<sup>20</sup> que trata acerca de catalizadores reciclables y sus aplicaciones a diferentes reacciones estereoselectivas, quedando patente que este campo es una de las áreas punteras en química orgánica actualmente, presentando unas 100 contribuciones al año.

Varios aspectos deben ser tenidos en cuenta a la hora de establecer las mejores condiciones para la inmovilización, siendo la elección del soporte el más relevante, siguiéndole en importancia la zona de la molécula para la conexión al soporte, y la clase de espaciador a emplear.

---

<sup>18</sup> (a) Para inmovilización de la mayoría de catalizadores organometálicos ver: De Vos, D. E.; Vankelecom, I. F. J.; Jacobs, P. A. en: *Chiral Catalysts Immobilization and Recycling*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**. (b) En algunos casos no se considera el reciclaje del catalizador como la meta mayor a alcanzar. De hecho, las industrias sólo se sienten atraídas hacia ello si ha sido escrupulosamente demostrado que el catalizador reciclado presenta el mismo nivel de actividad que el nuevo.

<sup>19</sup> Cozzi, F. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 1367-1390.

<sup>20</sup> Trindade, A. F.; Gois, P. M. P.; Afonso, C. A. M. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 418-514.

En cuanto a la elección del soporte, son numerosos y variados los materiales que se han usado para llevar a cabo el anclaje, dependiendo de sus características de solubilidad, coste y grado de funcionalización. También deben ser tenidas en cuenta las posibles interacciones con los reactivos de la reacción que pudiesen influir, favorable o desfavorablemente, en el mecanismo de la reacción.

Entre los soportes solubles destaca el polietilenglicol,<sup>18a,19,21b,c</sup> y entre los insolubles el poliestireno<sup>18a</sup> y los derivados de sílica.<sup>18a,19,21a</sup>

### 1.1.2a Materiales mesoporosos como soporte

Unos análogos de los derivados de sílica que, a pesar de haber sido empleados ampliamente en la industria como adsorbentes y catalizadores sin necesidad de modificación alguna, no han sido muy explotados como soportes de catalizadores orgánicos, son los *materiales porosos*.<sup>22</sup>

Por ello, en nuestro grupo se decidió llevar a cabo un estudio como catalizador de la prolina anclada al derivado de sílica MCM-41, el cual es un material mesoporoso ordenado que presenta una estructura de canales uniformes en forma de colmena (figura 1.5). Debido a su elevada área superficial, que permite el anclaje de un mayor número de moles de catalizador que otros tipos de soportes, y a su apropiado tamaño de poro, la MCM-41 es en principio un soporte ideal. Además, debido a que la MCM-41 contiene mesoporos exclusivamente, puede incluir en el interior de los mismos sustratos de mayor tamaño y minimizar los problemas de difusión que se encuentran frecuentemente en materiales microporosos como las zeolitas. Aparte de las ventajas en lo referente a la recuperación del catalizador y evitar problemas de solubilidad, está demostrado que la intrincada estructura de canales puede dar lugar a diferencias en la selectividad de las reacciones debido, en muchos casos, a favorecer un estado de transición diferente al de la catálisis en fase homogénea.<sup>22</sup>

---

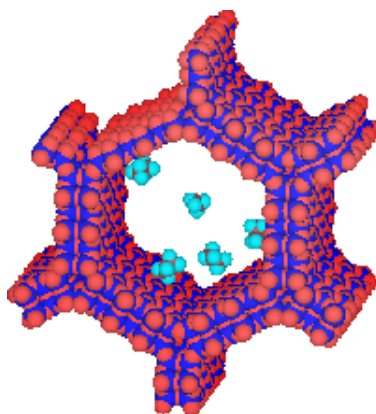
<sup>18a</sup> Para inmovilización de la mayoría de catalizadores organometálicos ver: De Vos, D. E.; Vankelecom, I. F. J.; Jacobs, P. A. en: *Chiral Catalysts Immobilization and Recycling*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.

<sup>19</sup> Cozzi, F. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 1367-1390.

<sup>21</sup> (a) Corma, A.; García, H. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 1391-1412. (b) Benaglia, M.; Puglisi, A.; Cozzi, F. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3401-3429. (c) Gravert, D. J.; Janda, K. D. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 489-509.

<sup>22</sup> Corma, A. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2373-2419.

Este estudio nos permitirá abordar diferentes aspectos acerca de los cambios que puede experimentar la reacción cuando la catálisis se realiza en forma heterogénea frente a los datos que poseíamos en forma homogénea con la prolina soluble. Dado que con este tipo de catalizadores será posible el uso de distintos y más variados disolventes, podremos evaluar el papel que éste juega en el rendimiento y la estereoselectividad de la reacción aldólica, además de explotar las ventajas que los catalizadores soportados ofrecen a la hora de la recuperación y el reciclaje de los mismos.



**Figura 1.5.** Metano y etano dentro de uno de los canales hexagonales del material mesoporoso MCM-41.

### 1.1.2b Polímeros basados en monómeros de hidroxiprolina

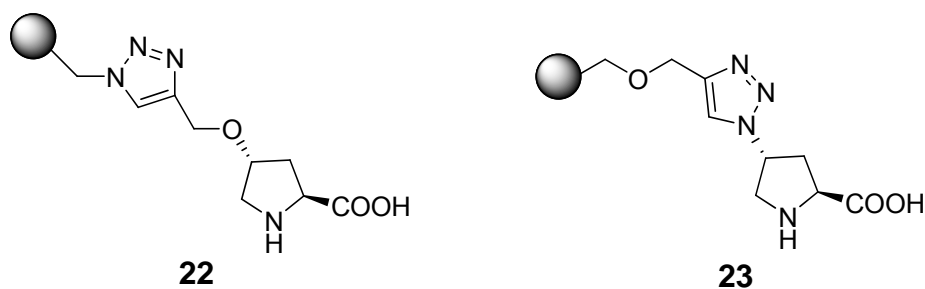
Entre los materiales orgánicos empleados para el anclaje de catalizadores, destacan las resinas funcionalizadas como soportes insolubles, de las cuales existen numerosos ejemplos descritos en la bibliografía.<sup>20,21b</sup> Un ejemplo reciente es el trabajo publicado por el grupo de Pericás, en el cual se ha usado una resina de estireno funcionalizada con prolina (figura 1.6) que ha resultado ser un excelente catalizador para la reacción aldólica entre aldehídos aromáticos y ciclohexanona.<sup>23</sup>

<sup>20</sup> Trindade, A. F.; Gois, P. M. P.; Afonso, C. A. M. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 418-514.

<sup>21b</sup> Benaglia, M.; Puglisi, A.; Cozzi, F. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3401-3429.

<sup>23</sup> (a) Font, D.; Sayalero, S.; Bastero, A.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 337-340. (b) Font, D.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4653-4655.





**Figura 1.6.** Prolinas soportadas sobre polímeros por el grupo de Miquel Pericás<sup>23</sup>

Una alternativa a estas resinas es el uso de soportes orgánicos solubles. En este ámbito los polímeros derivados del polietilenglicol han sido extensamente empleados.<sup>24</sup> La principal ventaja que presenta el uso del PEG soluble sobre las resinas insolubles es la posibilidad de evitar problemas de difusión. Los catalizadores soportados sobre polietilenglicol son solubles en agua y en muchos disolventes orgánicos polares, pero insolubles en disolventes menos polares como hexano o éter dietílico. Por tanto, explotando estas propiedades de solubilidad como estrategia de separación de fases, es posible emplear catalizadores soportados sobre PEG bajo condiciones catalíticas homogéneas (donde es esperable que el catalizador funcione mejor), y, simplemente, disminuyendo la polaridad del disolvente, precipitar, recuperar y reciclar el catalizador como si se estuviese trabajando en fase sólida.

Así, se han anclado al PEG desde catalizadores de transferencia de fase,<sup>25</sup> catalizadores para hidrogenación<sup>26</sup>, ligandos para la dihidroxilación asimétrica de Sharpless catalizada por osmio,<sup>27</sup> catalizadores de epoxidación,<sup>28</sup> y, por

<sup>23</sup> (a) Font, D.; Sayalero, S.; Bastero, A.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 337-340. (b) Font, D.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4653-4655.

<sup>24</sup> Dickerson, T. J.; Reed, N.N.; Janda, K. D.; *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3325-3344.

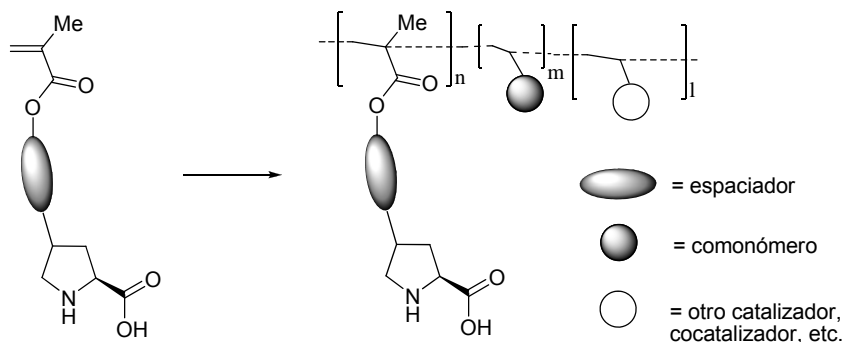
<sup>25</sup> (a) Grinberg, S.; Shaubi, E. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 2895-2902. (b) Annunziata, R.; Benaglia, M.; Cinquini, M.; Cozzi, F.; Tocco, G. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1737-1739.

<sup>26</sup> (a) Bergbreiter, D. E.; Zhang, L.; Mariagnanam, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9295-9296. (b) Fan, Q. -H.; Deng, G. -J.; Lin, C. -C.; Chan, A. S. C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1241-1247.

<sup>27</sup> (a) Han, H.; Janda, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7632-7633. (b) Han, H.; Janda, K. D. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1731-1733. (c) Kuang, Y. -Q.; Zhang, S. -Y.; Wei, I. -L. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5925-5927.

<sup>28</sup> Reger, T. S.; Janda, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6929-6934.





**Esquema 1.9.** Estrategia para la obtención de polímeros basados en monómeros de prolina modificados.

Las propiedades químico-físicas del soporte, como solubilidad en el caso de soportes homogéneos, serán principalmente definidas por el componente mayoritario. En el diseño además se podrían incluir terceros componentes, como es el caso que se muestra en el esquema 1.9, como un cocatalizador u otro tipo de catalizador. En este último caso, se abriría además la posibilidad de llevar a cabo reacciones secuenciales en un solo paso.

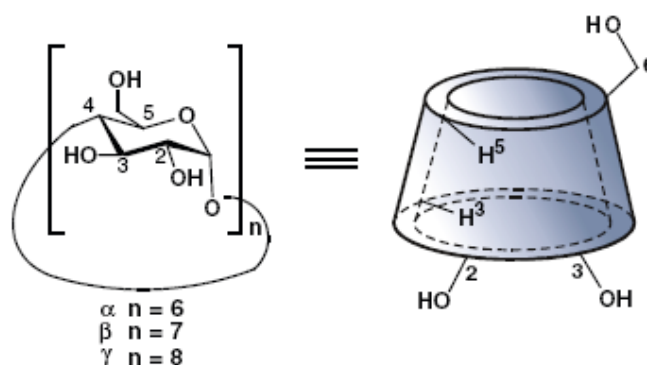
La idea por tanto consistiría en la funcionalización de la prolina con un grupo polimerizable y la posterior obtención de polímeros que contuviesen la funcionalidad catalítica de dos maneras diferentes: 1) mediante polimerización del monómero que soporta a la prolina, obteniendo así homopolímeros, o 2) mediante copolimerización con otros comonómeros. Esta segunda alternativa ofrecería la ventaja de la gran versatilidad de las copolimerizaciones susodicha.

Así, podrían obtenerse catalizadores poliméricos con propiedades diferentes, manteniendo además la posibilidad de la fácil recuperación de los mismos. Por ejemplo, podríamos controlar la solubilidad de los polímeros mediante la selección apropiada de los monómeros. Además, empleando una cantidad elevada del monómero que contiene la funcionalidad prolina, se podrían obtener catalizadores poliméricos solubles con una alta capacidad de carga. Finalmente, además de ser empleados en organocatálisis, estos nuevos materiales podrían ser útiles en el campo de la investigación bioquímica, médica o en ciencia y tecnología de polímeros.

### 1.1.3. Diseño de enzimas artificiales basado en el empleo de prolina

En la presente tesis doctoral hemos querido también abordar el diseño de nuevos catalizadores de prolina unida a moléculas que aporten un centro de unión selectivo para los sustratos de la reacción aldólica, de tal modo que pueda conseguirse una selectividad por sustrato semejante al ofrecido por las enzimas.

Las ciclodextrinas (CDs) son unos compuestos ampliamente conocidos debido a sus propiedades para complejar selectivamente sustancias con propiedades hidrofóbicas en el interior de su cavidad. Las CDs son oligómeros cíclicos solubles en agua compuestos de unidades  $\alpha(1\rightarrow4)$ -D-glucopiranosido con conformación de silla  ${}^4C_1$ . Las CDs más comunes contienen seis ( $\alpha$ -CD), siete ( $\beta$ -CD) u ocho ( $\gamma$ -CD) unidades de glucosa (figura 1.8).

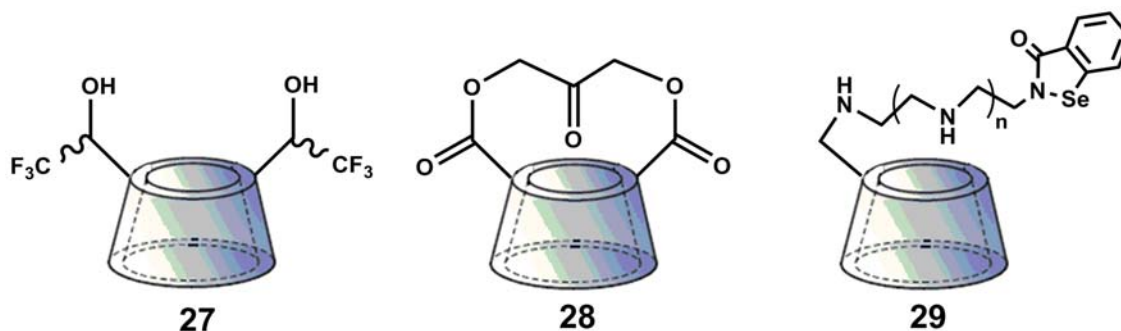


**Figura 1.8.** Estructura de las ciclodextrinas.

Las enzimas unen a los sustratos en su centro activo empleando efectos de inclusión y proximidad para lograr sus impresionantes incrementos de velocidad de las reacciones. Suelen ser estructuras proteicas de extremada complejidad molecular, pero, sin embargo, su mecanismo de catálisis suele ser muy simple. Basándose en esto, la derivatización de ciclodextrinas ha sido empleada para construir modelos simples de centros activos y así obtener catálisis eficientes y selectivas.<sup>30</sup> Se han obtenido de este modo diversos compuestos, que después han sido evaluados como miméticos de diferentes tipos de enzimas. Así, se han obtenido derivados de ciclodextrinas como

<sup>30</sup> (a) Breslow, R.; Dong, S. D. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1997-2011; (b) Bjerre, J.; Rousseau, C.; Marinescu, L.; Bols, M. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, 81, 1-11.

miméticos de glicosidasas,<sup>31</sup> epoxidasas,<sup>32</sup> y oxidasas,<sup>31d,33</sup> entre otras (compuestos **27**, **28** y **29**, respectivamente, en figura 1.9).



**Figura 1.9.** Ciclodextrinas modificadas para la obtención de miméticos de diferentes enzimas.

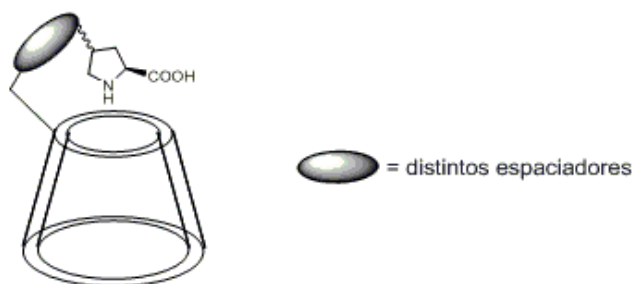
Basándonos en estos antecedentes, nos planteamos que el anclaje covalente de la prolina sobre una  $\beta$ -ciclodextrina empleando diferentes espaciadores (figura 1.10), nos ofrecería la posibilidad de obtener un catalizador que funcionase en agua (debido a las propiedades hidrofílicas del exterior de la estructura de la ciclodextrina), que es una de las principales limitaciones que presenta el uso de la prolina como catalizador.<sup>34</sup> Este catalizador híbrido presentaría en su estructura un centro catalítico (la prolina) y un sitio de unión selectivo con selectividad diferencial hacia los sustratos (la ciclodextrina), pudiendo funcionar así como una enzima artificial.

<sup>31</sup> (a) Rousseau, C.; Nielsen, N.; Bols, M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8709-8711. (b) Ortega-Caballero, F.; Bols, M. *Can. J. Chem.* **2006**, *84*, 650-658. (c) Ortega-Caballero, F.; Rousseau, C.; Christensen, B.; Petersen, T. E.; Bols, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3238-3239. (d) Bjerre, J.; Fenger, T. H.; Marinescu, L. G.; Bols, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *4*, 704-710.

<sup>32</sup> (a) Rousseau, C.; Christensen, B.; Petersen, T. E.; Bols, M. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3476-3482. (b) Rousseau, C.; Christensen, B.; Bols, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *13*, 2734-2739.

<sup>33</sup> (a) Dong, Z. Y.; Huang, X.; Mao, S. Z.; Liang, H.; Liu, J. Q.; Luo, G. M.; Shen, J. C. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 3575-3579. (b) Liu, Y.; Li, B.; Zhang, H. Y. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 9-18. (c) Marinescu, L.; Bols, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4590-4593. (d) Lopez, O. L.; Marinescu, L.; Bols, M. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 8872-8880. (e) Yuan, D. Q.; Atsumi, M.; Yan, J. M.; Kai, M.; Fujita, K. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2932-2939. (f) Yuan, D. Q.; Lu, J.; Atsumi, M.; Izuka, A.; Kai, M.; Fujita, K. *Chem. Comm.* **2002**, *7*, 730-731.

<sup>34</sup> (a) Mase, N.; Nakai, Y.; Ohara, N.; Yoda, H.; Takabe, K.; Tanaka, F.; Barbas, C. F. III *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 734-735. (b) Hayashi, Y.; Sumiya, T.; Takahashi, J.; Gotoh, H.; Urushima, T.; Shoji, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 958-961. (c) Hayashi, Y.; Aratake, S.; Okano, T.; Takahashi, J.; Sumiya, T.; Shoji, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5527-5529.

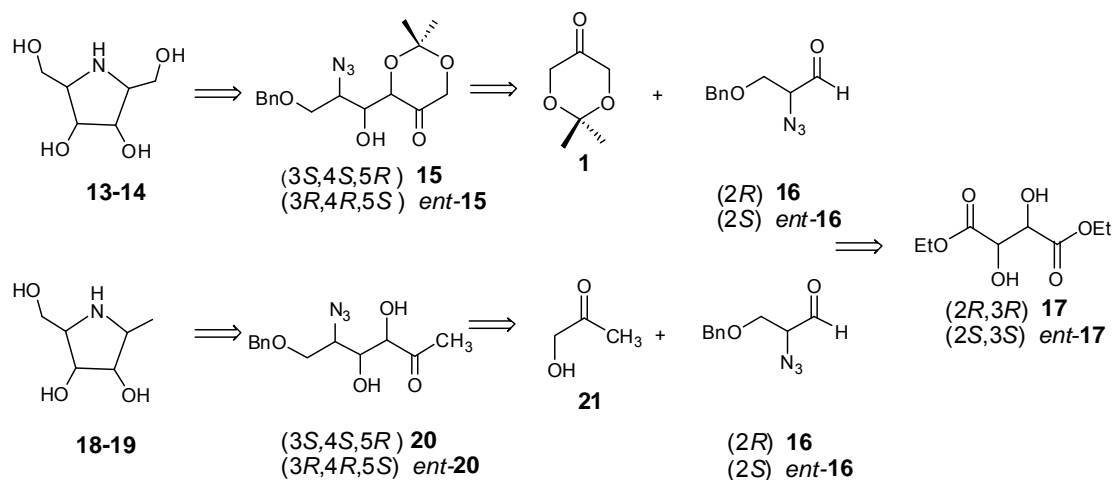


**Figura 1.10.** Prolina anclada covalentemente sobre una  $\beta$ -ciclodextrina mediante diferentes espaciadores.

## 1.2 OBJETIVOS

Considerando el gran impacto que la organocatálisis ha causado en la comunidad científica, así como la efectividad de la reacción aldólica catalizada por prolina para la síntesis de carbohidratos, a los cuales se ha hecho referencia en la presente introducción, los objetivos que nos propusimos para el desarrollo de esta Tesis Doctoral podrían resumirse en los siguientes:

1) Aplicación de la ruta ya desarrollada previamente en nuestro grupo de investigación para la obtención de iminoazúcares de anillo de seis miembros a la síntesis de iminoazúcares de anillo de cinco miembros, empleando como etapa clave una reacción aldólica catalizada por prolina soluble entre un  $\alpha$ -azidoaldehído y distintas cetonas, según se refleja en el esquema 1.8. Los iminoazúcares así obtenidos podrían ser objeto de evaluación como inhibidores de enzimas glicosidasas.



**Esquema 1.8.** Esquema retrosintético para la obtención de iminoazúcares con anillo de cinco miembros.

2) Ya que como etapa clave para la síntesis de nuestros iminoazúcares se emplea una reacción aldólica catalizada por prolina, y dadas las ventajas que ofrece la inmovilización de catalizadores a la hora de la purificación y recuperación de los productos finales, nos propusimos también llevar a cabo el estudio de esta reacción empleando catalizadores basados en prolina anclada a soportes:

a) Así, en primer lugar y en colaboración con el Dr. Félix Sánchez, del Instituto de Química Orgánica General del CSIC, se llevarán a cabo reacciones aldólicas catalizadas por prolina anclada a un material mesoporoso como es la MCM-41, esperando ampliar el rango de disolventes orgánicos en que se puede llevar a cabo la reacción aldólica, que en el caso de la prolina soluble se limita a los más polares, como DMF ó DMSO. Además, la inmovilización del catalizador debería simplificar la purificación de los productos finales, ya que el catalizador se podría separar fácilmente mediante filtración o centrifugación.

b) En una segunda parte, en colaboración con el Dr. Alberto Gallardo, del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, llevaremos a cabo la preparación de soportes poliméricos portadores de prolina y derivados basándonos en un diseño no de funcionalización de polímero sino de funcionalización del monómero precursor. Se prepararán tanto homopolímeros como copolímeros con comonómeros hidrofóbicos, los cuales esperamos nos ofrezcan también la posibilidad de llevar a cabo la reacción en agua, debido a que este entorno permitirá la unión de los sustratos apolares, mediante una interacción de tipo hidrofóbico. Además, esto presenta también ventajas en cuanto a la separación del catalizador debido a las características de solubilidad del polímero dependiendo del pH.

3) Por último, nos hemos planteado el diseño y síntesis de catalizadores derivados de prolina con un centro de unión para el sustrato. El objetivo de la última parte será la unión de la prolina con distintos espaciadores a una  $\beta$ -ciclodextrina, los cuales serán evaluados como catalizadores de la reacción aldólica. Estos catalizadores incluyen un sitio de unión adicional, mimetizando a las enzimas, con la idea de que la reacción pueda ser llevada a cabo en agua con aldehídos aromáticos que queden incluidos dentro de la cavidad de la ciclodextrina.





## **CAPÍTULO 2**

### **SÍNTESIS DE IMINOAZÚCARES MEDIANTE UNA REACCIÓN ALDÓLICA CATALIZADA POR PROLINA EN FASE HOMOGÉNEA Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS MISMOS COMO INHIBIDORES DE ENZIMAS GLICOSIDASAS**



## 2.1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

### 2.1.1. La reacción aldólica catalizada por prolina

Aunque el hecho de que pequeñas moléculas orgánicas sean capaces de catalizar la reacción aldólica intramolecular es conocido desde los años 70,<sup>35</sup> el gran desarrollo de la prolina como catalizador no fue hasta 1997, debido principalmente a las aportaciones realizadas por el grupo de Barbas III. En este grupo se habían desarrollado anticuerpos catalíticos capaces de catalizar la reacción aldólica,<sup>36,37</sup> presentando en su centro activo un residuo de lisina con un valor de  $pK_a$  distorsionado con respecto al habitual, el cual era determinante para el mecanismo (basado en el ataque nucleófilo de una enamina a un grupo carbonilo no modificado) al igual que en el caso de las enzimas aldolasas de Tipo I.<sup>7,37a,38</sup> En el transcurso de esta investigación descubrieron que uno de estos anticuerpos (Ab 38C2) era un catalizador eficiente para las ciclodeshidrataciones enantiodiferenciadoras de 2,6-heptanodionas a ciclohexenonas (esquema 2.1), reacciones ya conocidas por ser también catalizadas por la prolina.<sup>35</sup>

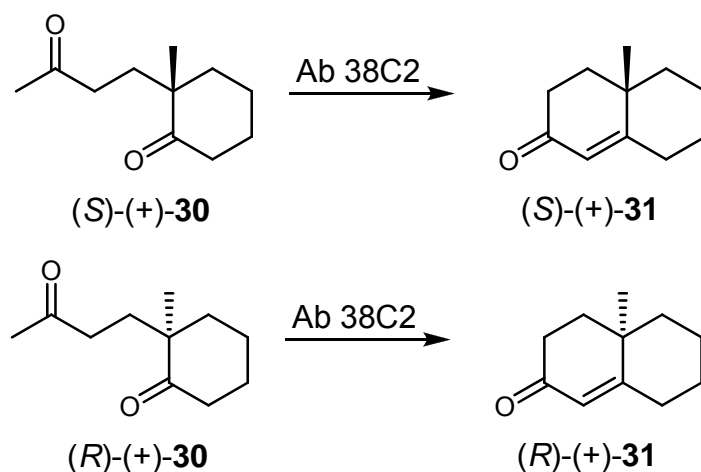
<sup>7</sup> Wong, C. -H.; Whitesides, G. M. en *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Pergamon Press: Oxford, **1994**.

<sup>35</sup> (a) Hajos, Z. G., Parrish, D. R. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1615. (b) Hajos, Z. G.; Parrish, D. R. German Patent DE 2102623, 1971. (c) Eder, U.; Sauer, G. R.; Wiechert, R. German Patent DE 2014757, 1971.

<sup>36</sup> Zhong, G.; Hoffmann, T.; Lerner, R. A.; Danishefsky, S.; Barbas, C. F., III, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8131-8132.

<sup>37</sup> (a) Barbas, C. F., III; Heine, A.; Zhong, G.; Hoffmann, T.; Gramatikova, S.; Björnstedt, R.; List, B.; Anderson, J.; Stura, E. A.; Wilson, I. A.; Lerner, R. A. *Science* **1997**, *278*, 2085-2092. (b) Hoffmann, T.; Zhong, G.; List, B.; Shabat, D.; Anderson, J.; Gramatikova, S.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., III, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2768-2779. (c) Tanaka, F.; Barbas, C. F., III, *Chem. Commun.* **2001**, *8*, 769-770.

<sup>38</sup> (a) Wagner, J.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., III, *Science*, **1995**, *270*, 1797-1800. (b) Zhong, G.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., III, *Angew. Chem. Int. Ed* **1999**, *38*, 3738-3741.



Esquema 2.1.

Basándose en sus propios resultados, y el trabajo del grupo de Shibasaki sobre catalizadores de la reacción aldólica basados en moléculas pequeñas de lantano,<sup>39</sup> se dieron cuenta del enorme potencial de los catalizadores para la reacción aldólica directa asimétrica. Por ello, Barbas realizó un estudio de relación estructura/actividad, empleando como catalizadores distintos aminoácidos y derivados disponibles comercialmente para la reacción aldólica entre 4-nitrobenzaldehído y acetona, empleando como codisolvente DMSO.<sup>2</sup> Del análisis de los resultados obtenidos pudieron concluir que para la obtención de una catálisis efectiva era necesaria la presencia de una función amina secundaria, así como un protón ácido situado espacialmente a una distancia apropiada. Entre ellos, los derivados de pirrolidina fueron los que mejores resultados proporcionaron, y, tras estudiar el espectro de aplicación de la reacción con diferentes aldehídos encontraron que la (S)-prolina era el mejor catalizador.

En cuanto al mecanismo de la reacción, han sido varias las propuestas realizadas por distintos autores a lo largo del tiempo. A pesar de que Hajos manifestó su preferencia por un mecanismo que incluyese la formación de un

<sup>2</sup> (a) List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-2396.(b) Sakthivel, K.; Notz, W.; Bui, T.; Barbas III, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5260-5267.

<sup>39</sup> (a) Yamada, Y. M. A.; Yoshikawa, N.; Sasai, H.; Shibasaki, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1871-1873. (b) Yamada, Y. M. A.; Shibasaki, M. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5561-5564. (c) Yoshikawa, N.; Yamada, Y. M. A.; Das, J.; Sasai, H.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4168-4178.

intermedio carbinolamina,<sup>40</sup> el resto se decantaba por un mecanismo que implicase un intermedio neutro tipo enamina, apoyándose en experimentos más precisos.<sup>41,42,43,44</sup>

Posteriormente, estudios computacionales demostraron que la mejor forma de describir esta reacción aldólica era mediante la adición nucleófila de una enamina neutra al grupo carbonilo concertada con una transferencia del hidrógeno desde el grupo carboxilo de la prolina al alcóxido en formación,<sup>45</sup> siendo esta última crítica para facilitar la reacción entre la enamina y el aldehído, ya que de otra forma se formaría un intermedio zwitteriónico de alta energía.

Por tanto, el mecanismo aceptado actualmente para la reacción aldólica intermolecular catalizada por prolina incluye intermedios carbinolamina (**I** y **VI**), iones iminio (**II** y **V**), y enamina (**III**) (esquema 2.2). Este mecanismo es idéntico al aceptado para las aldolasas de tipo I. El ácido carboxílico se propone que debe actuar como un cocatalizador de Brønsted general que reemplace a los distintos grupos funcionales ácido/base involucrados en el mecanismo de la aldolasa. En el estado de transición de la formación del enlace C-C (**IV**), la protonación del grupo carbonilo aceptor ocurre a través del ácido carboxílico, que está en *anti* con respecto al doble enlace (*E*) de la enamina. Así, la prolina no actúa únicamente como un catalizador tipo enamina, sino que también lleva consigo su propio cocatalizador tipo ácido de Brønsted y por tanto puede ser considerada como un catalizador bifuncional. Más tarde, Houk y colaboradores propusieron un ET similar para la variante intramolecular y mostraron también que un enlace de hidrógeno simultáneo con el nitrógeno de la enamina (**VII**,

<sup>40</sup> Revisión de anelaciones: Jung, M. E. *Tetrahedron* **1976**, *32*, 3-31.

<sup>41</sup> Spencer, T. A.; Neel, H. S.; Flechtner, T. W.; Zayle, R. A. *Tetrahedron Lett.* **1965**, *6*, 3889-3897.

<sup>42</sup> Molines, H.; Wakselman, C. *Tetrahedron* **1976**, *32*, 2099-2103.

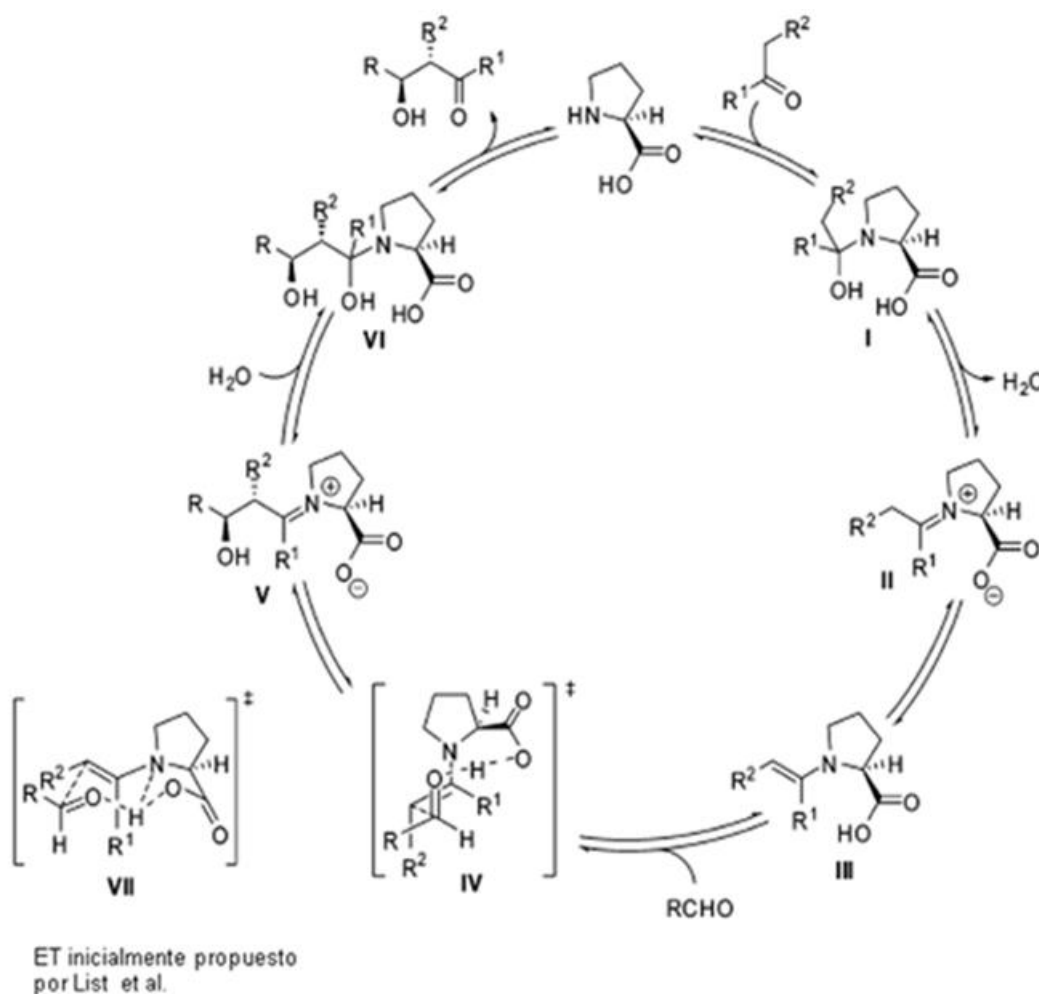
<sup>43</sup> Brown, K. L.; Damm, L.; Dunitz, J. D.; Eschenmoser, A. *Helv. Chim. Acta* **1978**, *61*, 3108-3135.

<sup>44</sup> (a) Agami, C.; Meynier, F.; Puchot, C.; Guilhem, J.; Pascard, C. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 1031-1038. (b) Agami, C.; Levisalles, J.; Puchot, C. A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 441-442. (c) Agami, C.; Puchot, C. *J. Mol. Catal.* **1986**, *38*, 341-343. (d) Agami, C.; Puchot, C.; Sevestre, H. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1501-1504. (e) Agami, C. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1988**, *3*, 499-507. (f) Agami, C.; Sevestre, H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1385-1386. (g) Agami, C.; Platzter, N.; Sevestre, H. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1987**, *2*, 358-360.

<sup>45</sup> Clemente, F. R.; Houk, K. N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5766-5768.

esquema 2.2), como había sido propuesto inicialmente,<sup>2a</sup> no contribuía demasiado a disminuir la energía del estado de transición.<sup>46</sup>

Recientemente, Marquez y Metzger fueron capaces de interceptar y caracterizar los intermedios I, III, V y VI (esquema 2.2) mediante un estudio de ESI-MS.<sup>47</sup>



**Esquema 2.2.** Mecanismo actualmente aceptado para la reacción aldólica intermolecular catalizada por prolina.

Para la (*R*)-Prolina el mecanismo sería idéntico pero con un estado de transición enantiomérico al descrito para la (*S*)-prolina y, por tanto, dando lugar al producto enantiómero descrito en el esquema 2.2.

<sup>2a</sup> List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-2396.

<sup>46</sup> (a) Bahmanyar, S.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11273-11283. (b) Bahmanyar, S.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12911-12912. (c) Allemann, C.; Gordillo, R.; Clemente, F. R.; Cheong, P. H. -Y.; Houk, K. N. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 558-569. (d) Clemente, F. R.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11294-11302.

<sup>47</sup> Marquez, C.; Metzger, J. O. *Chem. Commun.* **2006**, 1539-1541.

Además de acetona, también se han empleado otras cetonas en las reacciones aldólicas catalizadas por prolina.<sup>48</sup> Dependiendo del aldehído empleado, pueden obtenerse excelentes enantio- y (*anti*)-diastereoselectividades.<sup>48b,c</sup>

Como consecuencia de los esfuerzos por mejorar tanto los rendimientos como las estereoselectividades de esta reacción, se han ido desarrollando numerosos y variados derivados de prolina, entre los cuales, por destacar algunos, podríamos nombrar las diaminas quirales evaluadas por Barbas<sup>49</sup> (**32**) y Yamamoto (**33**),<sup>50</sup> separadamente; las series de prolinas sustituidas en 4 por el grupo de Kokotos (**34**),<sup>51</sup> y, especialmente, las prolinamidas, las cuales han sido las más explotadas ya que, en la mayoría de los casos, proporcionaron excesos enantioméricos mayores del 99% para los aldehídos probados. Algunos de los investigadores que han desarrollado eficaces catalizadores de este tipo han sido Gong, Wu *et al.*<sup>52</sup>, que sintetizaron prolinamidas con un grupo hidroxilo terminal como donador extra de enlace de hidrógeno (**35** y **36**); Zhao, desarrollando bisprolinamidas simétricas con un eje  $C_2$  (**37**),<sup>53</sup> Xiao, también basándose en bisprolinamidas conteniendo grupos aromáticos en su estructura (**38**),<sup>54</sup> y Gryko,<sup>55</sup> con bisprolinamidas conteniendo un esqueleto binaftilo (**39**), y también sintetizando prolinatioamidas (**40**), que presentan una mayor actividad catalítica, y por tanto solamente un 5% de catalizador es necesario<sup>56</sup> (Figura 2.1). Cabe destacar también en este campo las aportaciones realizadas por el grupo de Carmen Nájera,<sup>57</sup> quienes estudiaron

<sup>48</sup> (a) Notz, W.; List, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7386-7387. (b) List, B.; Pojarliev, P.; Castello, C. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 573-575. (c) Bahmanyar, S.; Houk, K. N.; Martin, H. J., List, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2475-2479.

<sup>49</sup> Mase, N.; Tanaka, F.; Barbas, C. F. III *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2420-2423.

<sup>50</sup> (a) Nakadai, M.; Saito, S.; Yamamoto, H. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8167-8177. (b) Torii, M.; Nakadai, M.; Ishihara, K., Saito, S.; Yamamoto, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1893-1896.

<sup>51</sup> Bellis, E.; Kokotos, G. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8669-8676.

<sup>52</sup> (a) Tang, Z.; Jiang, F.; Yu, L. -T.; Cui, X.; Gong, L. -Z., Mi, A. -Q.; Jiang, Y. -Z.; Wu, Y. -D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5262-5263. (b) Tang, Z.; Yang, Z. -H.; Chen, X. -H.; Cun, L. -F.; Mi, A. -Q.; Jiang, Y. -Z.; Gong, L. -Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9285-9289 (c) He, L.; Cun, L. -F.; Mi, A. -Q.; Jiang, Y. -Z.; Gong, L. -Z. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 346-351.

<sup>53</sup> Samanta, S.; Liu, J.; Dodda, R.; Zhao, C. -G. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5321-5323.

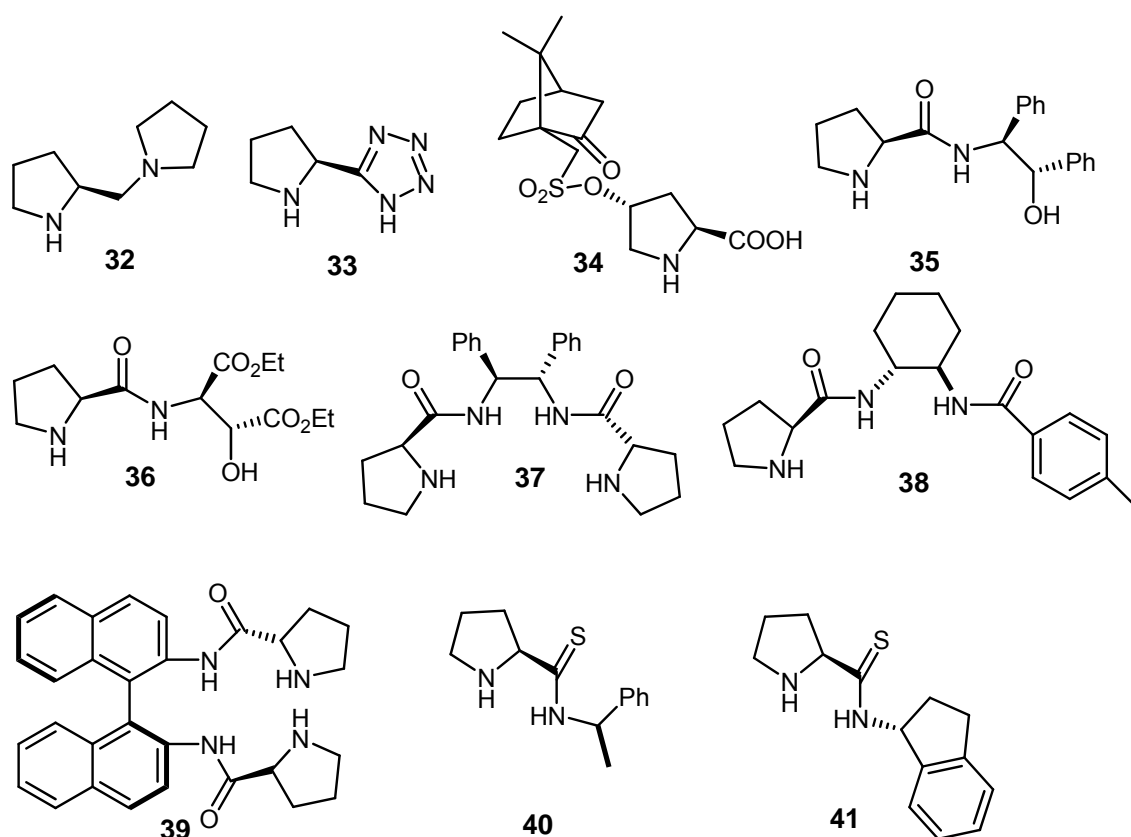
<sup>54</sup> (a) Chen, J. -R.; Lu, H. -H.; Li, X. -Y.; Cheng, L.; Wan, J.; Xiao, W. -J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4543-4545. (b) Chen, J. -R.; An, X. -L.; Zhu, X. -Y.; Wang, X. -F.; Xiao, W. -J. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6006-6009.

<sup>55</sup> Gryko, D.; Kowalczyk, B.; Zawadzki, L. *Synlett* **2006**, *7*, 1059-1062.

<sup>56</sup> Gryko, D.; Lipinski, R. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1948-1952.

<sup>57</sup> (a) Guillena, G., Hita, M. C.; Nájera, C.; Viózquez, S. F. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5933-5943. (b) Almasi, D.; Alonso, D. A.; Nájera, C. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2467-2472. (c) Guillena, G.; Hita, M. C.; Nájera, C. *Tetrahedron: Asymm.* **2006**, *17*, 729-733.

también bisprolinamidas con un esqueleto binaftilo como organocatalizadores para la reacción aldólica entre aldehídos y varias cetonas alifáticas, obteniendo los mejores resultados al emplear la prolinamida **39** ( figura 2.1). Además, el catalizador pudo ser recuperado mediante técnicas simples de extracción para su posterior reutilización. Posteriormente en este mismo grupo llevaron a cabo la síntesis de la prolinatioamida **41** a partir de L-prolina y (*R*)-1-aminoindano, que resultó ser un catalizador superior a la L-prolina y a las prolinamidas para la reacción de Hajos-Parrish-Eder-Sauer-Wiechert llevada a cabo sin disolvente.

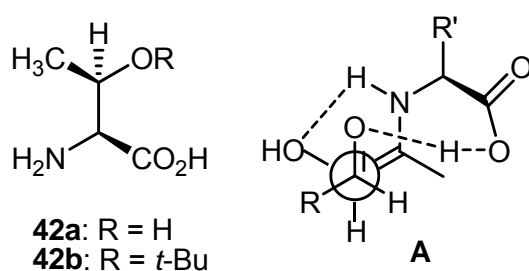


**Figura 2.1.** Derivados de prolina desarrollados por distintos grupos de investigación que han demostrado mayor eficiencia catalítica que la prolina para la reacción aldólica.

La mayoría de los catalizadores arriba mencionados dan lugar al aldol *anti* como diastereoisómero mayoritario independientemente de la naturaleza del donador. Intentando imitar a las aldolasas, que son capaces de producir selectivamente cada uno de los cuatro diastereoisómeros posibles, recientemente Barbas y colaboradores han descrito una reacción selectiva-*sin*



para aldehídos aromáticos y  $\alpha$ -hidroxicetonas, catalizada por la amina primaria presente en el aminoácido acíclico (*S*)-treonina y su derivado *O*<sup>*t*</sup>Bu-(*S*)-treonina (compuestos **42a** y **42b**, respectivamente, en Figura 2.2).<sup>58</sup> Según el razonamiento de los autores, la selectividad *sin* observada se deriva de la reacción de una enamina-(*Z*) en el estado de transición de la formación del enlace C-C (**A**), la cual predomina debido al enlace de hidrógeno formado entre el oxígeno del hidroxilo y el hidrógeno de la amina (figura 2.2).



**Figura 2.2.** Catalizadores empleados por el grupo de Barbas para la obtención de aldoles *sin* (izquierda), y estado de transición propuesto para explicar las estereoselectividades obtenidas (derecha).

Basándose en este mismo razonamiento, Gong y colaboradores prepararon dos nuevos organocatalizadores derivados de L-valina, para obtener aldoles *sin* con diastereoselectividades >20:1 y excesos enantioméricos del 99%.<sup>59</sup> Resultados similares han sido obtenidos muy recientemente por Cheng empleando diaminas primaria-terciaria sintetizadas a partir de aminoácidos primarios naturales.<sup>60</sup>

### 2.1.2. Síntesis organocatalítica de carbohidratos

Desde los inicios de la síntesis orgánica, los químicos han ansiado siempre ser capaces de preparar moléculas complejas con una elegancia y eficiencia

<sup>58</sup> (a) Ramasastry, S. S. V.; Zhang, H.; Tanaka, F.; Barbas, C. F., III. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 288-289. (b) Ramasastry, S. S. V.; Albertshofer, K.; Utsumi, N.; Tanaka, F.; Barbas, C. F., III. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5572-5575.

<sup>59</sup> Xu, X. -Y.; Wang, Y. -Z.; Gong, L. -Z. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4247-4249.

<sup>60</sup> (a) Li, J.; Luo, S.; Cheng, J. -P. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1747-1750. (b) Luo, S.; Xu, H.; Zhang, L.; Li, J.; Cheng, J. -P. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 653-656.

similar a la de la Naturaleza. El estudio de las unidades estructurales, modos de activación de los sustratos y mecanismos biosintéticos en la Naturaleza proporciona las claves para llevar a cabo transformaciones similares mediante la síntesis química.

La complejidad estereoquímica de los carbohidratos ha hecho de su síntesis *de novo* un reto formidable, el cual ha sido superado exitosamente mediante el uso de enzimas,<sup>7</sup> entre las cuales las aldolasas han recibido especial atención.

Al igual que estas enzimas, organocatalizadores como la prolina pueden catalizar eficientemente reacciones aldólicas con excelentes estereoselectividades, como ha quedado demostrado en el apartado anterior de la presente introducción. El desarrollo de estas metodologías ha hecho posibles aproximaciones sintéticas selectivas a carbohidratos definidos configuracionalmente

Así, como ya se comentó en el capítulo 1 de la presente memoria, en el grupo de Enders desarrollaron una ruta directa para la obtención de hexulosas mediante la estrategia biomimética  $C_3 + C_3$  sirviéndose de la reacción aldólica catalizada por prolina entre dioxanona y varios derivados del gliceraldehído.<sup>8</sup> A su vez, los estudios realizados por MacMillan en su elegante síntesis total de hexosas  $C_2 + C_2 + C_2$ , sugirieron que la dioxanona podía funcionar como una unidad estructural muy útil en organocatálisis.<sup>10</sup> Basándose en ello, muy recientemente ha sido descrita por el grupo de Majewski la síntesis de 6-*C*-fenil-*D*-glicero-*D*-*al*o-hexopiranososa (**45**, esquema 2.3) y *D*-*eritro*-*D*-alooctopiranososa mediante dos reacciones aldólicas secuenciales empleando dioxanona, la primera catalizada por prolina y la segunda a través del enolato de litio del primer aldol formado, protegido.<sup>61</sup> Este mismo grupo había llevado a cabo previamente la síntesis del azúcar natural (+)-*D*-glicero-*D*-*mano*- $\alpha$ -oct-2-ulosa en siete pasos, partiendo de dioxanona y empleando como etapas clave

---

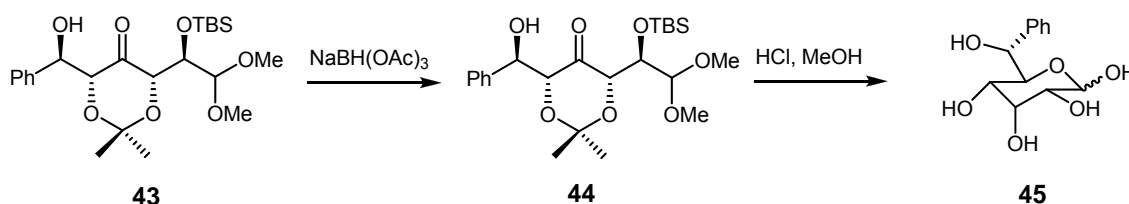
<sup>7</sup> Wong, C. -H.; Whitesides, G. M. en *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Pergamon Press: Oxford, **1994**.

<sup>8</sup> (a) Grondal, C.; Enders, D. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 329-337. (b) Enders, D.; Grondal, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1210-1212.

<sup>10</sup> (a) Northrup, A. B.; MacMillan, D. W. C. *Science*, **2004**, *305*, 1752-1755. (b) Northrup, A. B.; Mangion, I. K.; Hettche, F.; MacMillan, D. W. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2152-2154.

<sup>61</sup> Niewczas, I.; Majewski, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 33-37.

dos reacciones aldólicas estereoselectivas catalizadas por prolina, y la posterior reducción diastereoselectiva del aldol de dioxanona.<sup>62</sup>



Esquema 2.3

El grupo de Barbas ha realizado también interesantes aportaciones en este campo, empleando la L-prolina como mimético de la aldolasa tagatosa, y la D-prolina de la aldolasa fuculosa, en reacciones aldólicas empleando dioxanona como donador. Sirviéndose de ello llevaron a cabo la preparación de L-ribosa, L-lixosa, D-ribosa, D-tagatosa, 1-amino-1-deoxy-D-lixitol y otros carbohidratos.<sup>5a</sup> Además, empleando los catalizadores derivados de treonina descritos por su grupo a los que se hizo alusión en el punto 2.1.1 y que dan lugar a los aldoles con configuración *sin* mayoritariamente, obtuvieron tanto precursores de L-xilosa como D-fructosa.<sup>63</sup>

### 2.1.3. Objetivos

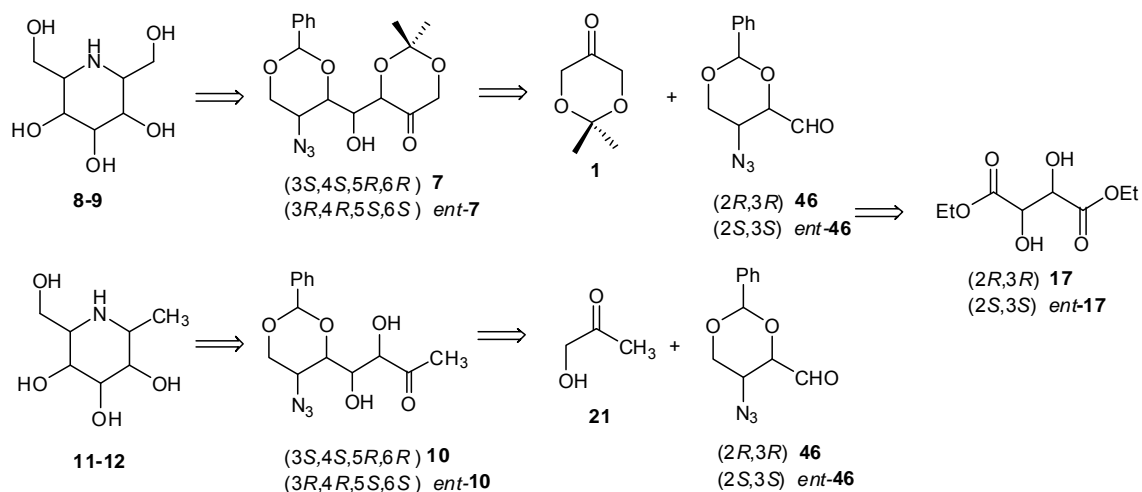
Dada la efectividad, descrita tanto en el capítulo 1 como en la introducción previa del presente capítulo, de la reacción aldólica catalizada por prolina para la síntesis de carbohidratos, en nuestro grupo de investigación se ha empleado recientemente esta reacción como etapa clave de una nueva ruta para la obtención de iminoazúcares de anillos de seis miembros (esquema 2.4).<sup>17</sup>

<sup>5a</sup> Suri, J. T.; Mitsumori, S.; Albertshofer, K.; Tanaka, F.; Barbas, C. F., III *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3822-3828.

<sup>17</sup> Calderón F.; Doyagüez, E. G.; Fernández-Mayoralas, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6258-6261.

<sup>62</sup> Palyam, N.; Niewczas, I.; Majewski, M. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 9195-9198.

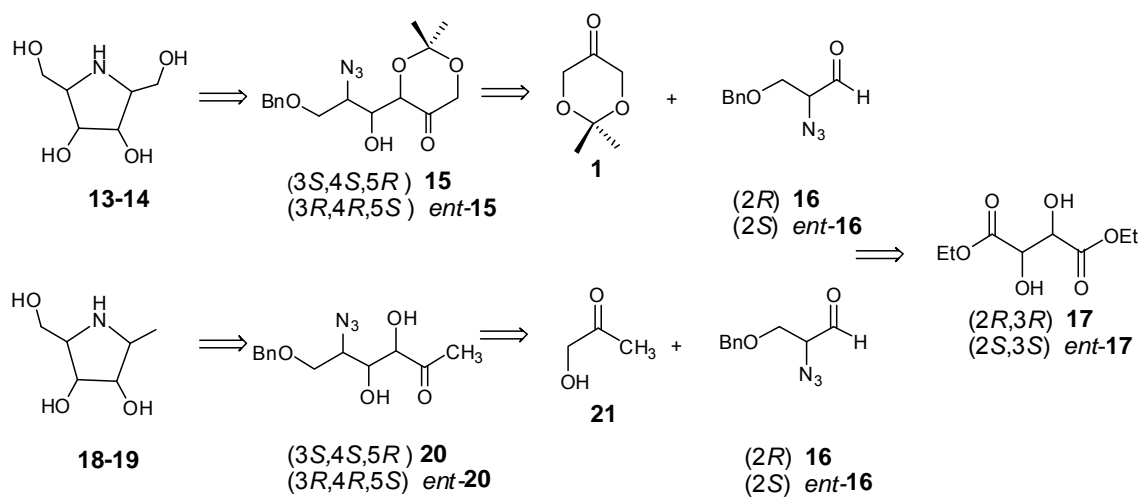
<sup>63</sup> Utsumi, N.; Imai, M.; Tanaka, F.; Ramasastry, S. S. V.; Barbas, C. F., III *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3445-3448.



### Esquema 2.4

Basándonos en ello, nos propusimos como primera parte de la presente Tesis Doctoral la aplicación de esta estrategia de síntesis a la obtención de iminoazúcares de anillo de cinco miembros. Para ello, los objetivos que nos propusimos y que se abordan en este capítulo, son:

- Síntesis de los aldehídos aceptores que se iban a emplear en las reacciones aldólicas.
- Obtención de los aldoles precursores de iminoazúcares de cinco miembros mediante una reacción aldólica catalizada por prolina en fase homogénea.
- Estudio mediante métodos computacionales del origen de la doble inducción asimétrica en la reacción descrita en el apartado anterior.
- Finalización de la ruta descrita en el esquema 1.8 para la obtención de iminoazúcares de anillo de cinco miembros, a partir de los aldoles obtenidos en la primera parte.
- Evaluación biológica de los productos sintetizados como inhibidores de enzimas glicosidasas.
- Estudio de las relaciones estructura-actividad de los inhibidores enzimáticos empleando técnicas computacionales (“docking”) que pueden ayudarnos a entender los resultados obtenidos en los ensayos biológicos.



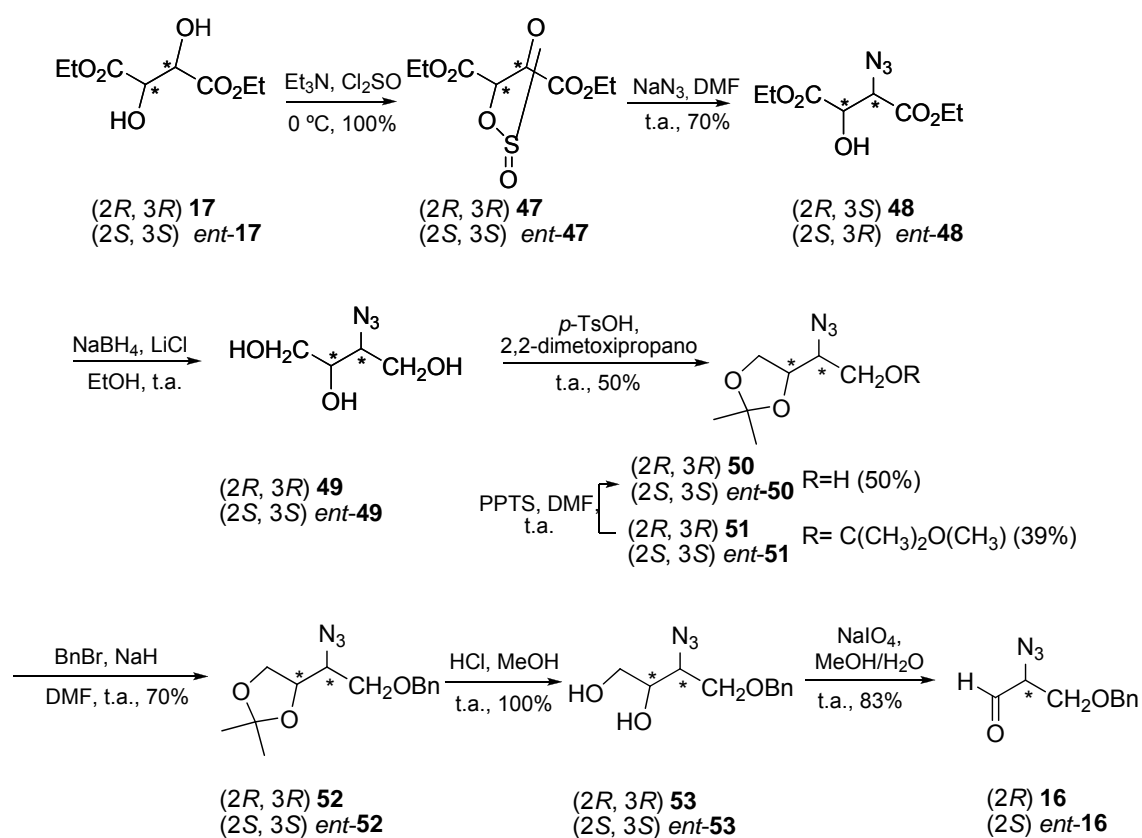
**Esquema 1.8.** Esquema retrosintético para la obtención de iminoazúcares con anillo de cinco miembros.

## 2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.2.1 Síntesis de iminoazúcares mediante una reacción aldólica catalizada por prolina en disolución

#### 2.2.1a Síntesis de los aldehídos

En primer lugar se sintetizaron el aldehído **16** y su enantiómero, siguiendo la ruta descrita en el esquema 2.5:



Esquema 2.5

El grupo azido se introdujo por ataque nucleófilo de NaN<sub>3</sub> al sulfito cíclico **47** formado previamente sobre el tartrato de dietilo (**17**). A continuación, se llevó a cabo la reducción quimioselectiva de los carboxilatos en **48** empleando borohidruro de litio, formado *in situ* con NaBH<sub>4</sub> y LiCl. Con objeto de neutralizar la basicidad de las sales de boro presentes en la reacción se hizo un percolado del producto resultante. No se pudo llevar a cabo una purificación completa del

producto ya que por su alta solubilidad en agua se perdía mucho producto en el tratamiento de la reacción. La acetalización se llevó a cabo por tratamiento con 2,2-dimetoxipropano, para formar el compuesto **50**. De los tres acetales cíclicos posibles que se podrían formar, de 5, 6 ó 7 eslabones, el de cinco miembros (**50**) se formó regioselectivamente. También se formó un 39% de acetal mixto **51** (esquema 2.5), fácilmente hidrolizable y de forma selectiva con PPTS en DMF, obteniéndose un 89% de **50**. La bencilación del alcohol **50**, posterior desprotección del acetal y oxidación del diol **53** formado, dio lugar al aldehído **16**.

### 2.2.1b Reacciones aldólicas catalizadas por prolina en fase homogénea

Los resultados de la reacción de **16** y *ent*-**16** con las cetonas **1** y **21** en presencia de (*S*)- y (*R*)-prolina se muestran en el esquema 2.6.

La diastereoselectividad (*anti/sin*) se determinó por análisis del espectro de <sup>1</sup>H-RMN del crudo de reacción, y la configuración absoluta del diastereoisómero mayoritario se obtuvo mediante el empleo de auxiliares quirales en el caso de los productos provenientes de la reacción de la cetona **21** (método desarrollado por el grupo del Dr. Riguera<sup>64</sup> para la determinación de la configuración absoluta de dioles vecinales secundario-secundario) y experimentos bidimensionales en el caso de **1**.

Todas las reacciones fueron llevadas a cabo usando DMF como disolvente. En el caso de la cetona **1** está descrito que puede reaccionar consigo misma.<sup>8b</sup> Para evitarlo, las reacciones deben ser llevadas a cabo usando sólo un pequeño exceso de cetona (2 eq respecto del aldehído). En cuanto a la cetona **21**, dada su facilidad para polimerizar y formar acetales, está demostrado que se requiere un gran exceso de la misma (30 eq) para obtener buenos rendimientos en períodos de reacción no muy largos, lo que hace deba ser considerada como un “co-disolvente” en la reacción. Además, hemos comprobado que la efectividad de la reacción es mucho mayor al llevar a cabo

---

<sup>8b</sup> Enders, D.; Grondal, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1210-1212.

<sup>64</sup> Para una completa revisión sobre métodos para asignar configuraciones absolutas usando RMN ver: Seco, J. M.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 17-118.

las reacciones con la hidroxiacetona recién destilada y que altas temperaturas facilitan la formación de subproductos dificultando la purificación del aldol.

La adición del aldehído se realizó en porciones, (tres adiciones en 48 horas), debido a que los aldehídos lineales presentan más facilidad para formar dímeros<sup>48b</sup>, y así se facilita que la formación de la enamina transcurra mayoritariamente con el carbonilo de la cetona, y, una vez formado éste, se produzca el ataque al aldehído aceptor.

La reacción del aldehído **16** con la cetona **1** transcurrió con un rendimiento del 60%, cuando el catalizador usado fue la (S)-Prolina, y 10% en el caso de su enantiómero (R)-prolina; en cuanto a la diastereoselectividad fue excelente en el caso de la (S)-prolina (>20:1) y moderada en el caso de la (R)-prolina.

Al emplear la cetona **21** como donador se observó un comportamiento similar, ya que al hacerla reaccionar con **16** en presencia de (S)-prolina, de nuevo, los resultados fueron mejores que cuando el catalizador usado fue la (R)-prolina, obteniéndose un rendimiento del 50% y una diastereoselectividad 6:1 para el primer caso frente a un rendimiento menor del 5% en el segundo.

Estos resultados muestran claramente la importancia de la elección del enantiómero de prolina en las reacciones llevadas a cabo con aldehídos quirales  $\alpha$ -sustituídos,<sup>65</sup> puesto que al tratarse de una reacción entre dos compuestos quirales, la quiralidad de cada uno de ellos puede influir en la estereoselectividad de una manera concertada (par concertado) u opuesta (par no concertado). En nuestro caso, el par concertado estaría formado por el par aldehído/catalizador: **16**/(S)-prolina.

Esta topicidad quedó confirmada cuando se empleó el aldehído *ent*-**16** y la cetona **21**, obteniéndose los aldoles enantioméricos, lo que además confirma la viabilidad de la estrategia.

---

<sup>48b</sup> List, B.; Pojarliev, P.; Castello, C. *Org. Lett.* **2001**, 3, 573-575.

<sup>65</sup> Revisión: Mengel, A.; Reiser, O. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 1191-1224.

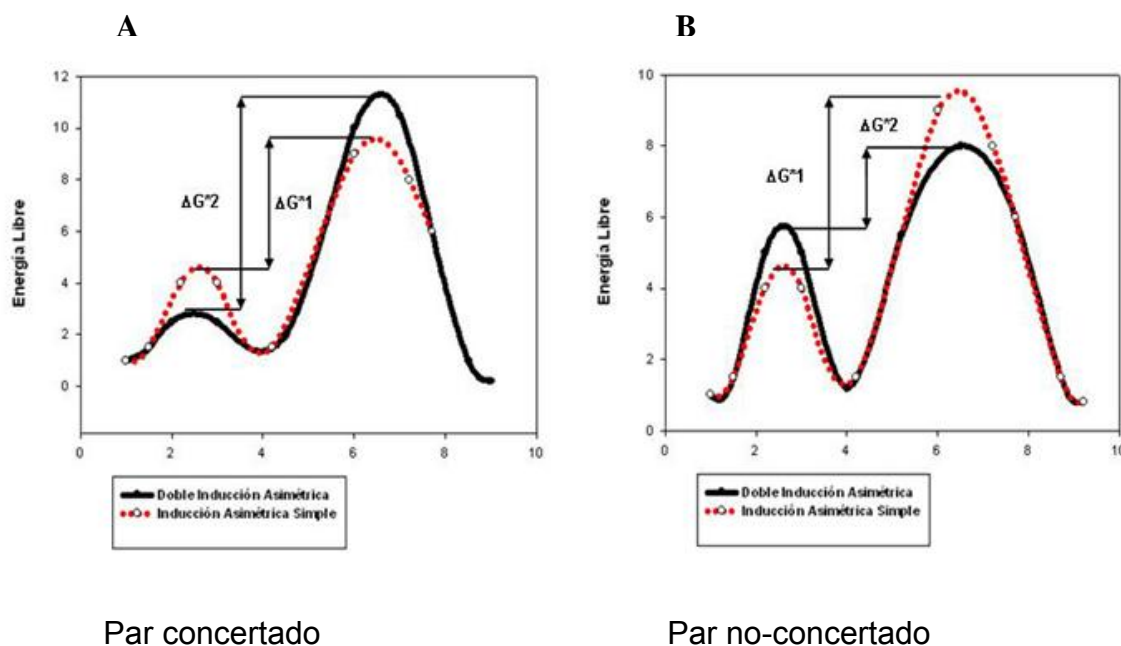




### 2.2.1c Estudio del origen de la doble inducción asimétrica en la reacción aldólica catalizada por prolina entre el aldehído 16 y la cetona 1

El fenómeno conocido como “inducción asimétrica simple”<sup>67</sup> tiene lugar cuando la presencia de un centro estereogénico en uno de los elementos de una determinada reacción en la que se crea un nuevo centro estereogénico, favorece la formación de un estereoisómero respecto a otro.

Sin embargo, cuando son dos los elementos que contienen quiralidad (como es el caso de las reacciones aldólicas que acabamos de describir), la quiralidad de cada uno de ellos puede influir en la estereoselectividad de la reacción actuando de una manera concertada (par concertado, figura 2.3 A), aumentando la selectividad de la reacción, u opuesta (par no concertado, figura 2.3 B), disminuyendo dicha selectividad. Este fenómeno se denomina “doble inducción asimétrica”.



**Figura 2.3.** Estados de transición diastereoméricos producidos en una reacción con un  $\Delta G^*$  determinado. Izquierda: Comparación de inducción asimétrica simple (línea punteada) con doble inducción asimétrica (línea continua) en el que los efectos producidos por los dos centros estereogénicos se complementan, actuando de manera concertada en el transcurso de la reacción  $\Delta G^{*2} > \Delta G^{*1}$ . Derecha: En este caso los efectos producidos por los dos centros estereogénicos actúan de manera opuesta en el transcurso de la reacción  $\Delta G^{*2} < \Delta G^{*1}$ .

<sup>67</sup> Gawley, R.; Aubé, J. en “Principles of Asymmetric Synthesis”. Pergamon, London, 1996.

### **Antecedentes de nuestro grupo de investigación**

En la primera parte del presente capítulo se ha descrito la reacción aldólica entre el aldehído **16** y las cetonas **1** y **21** (esquema 2.6).

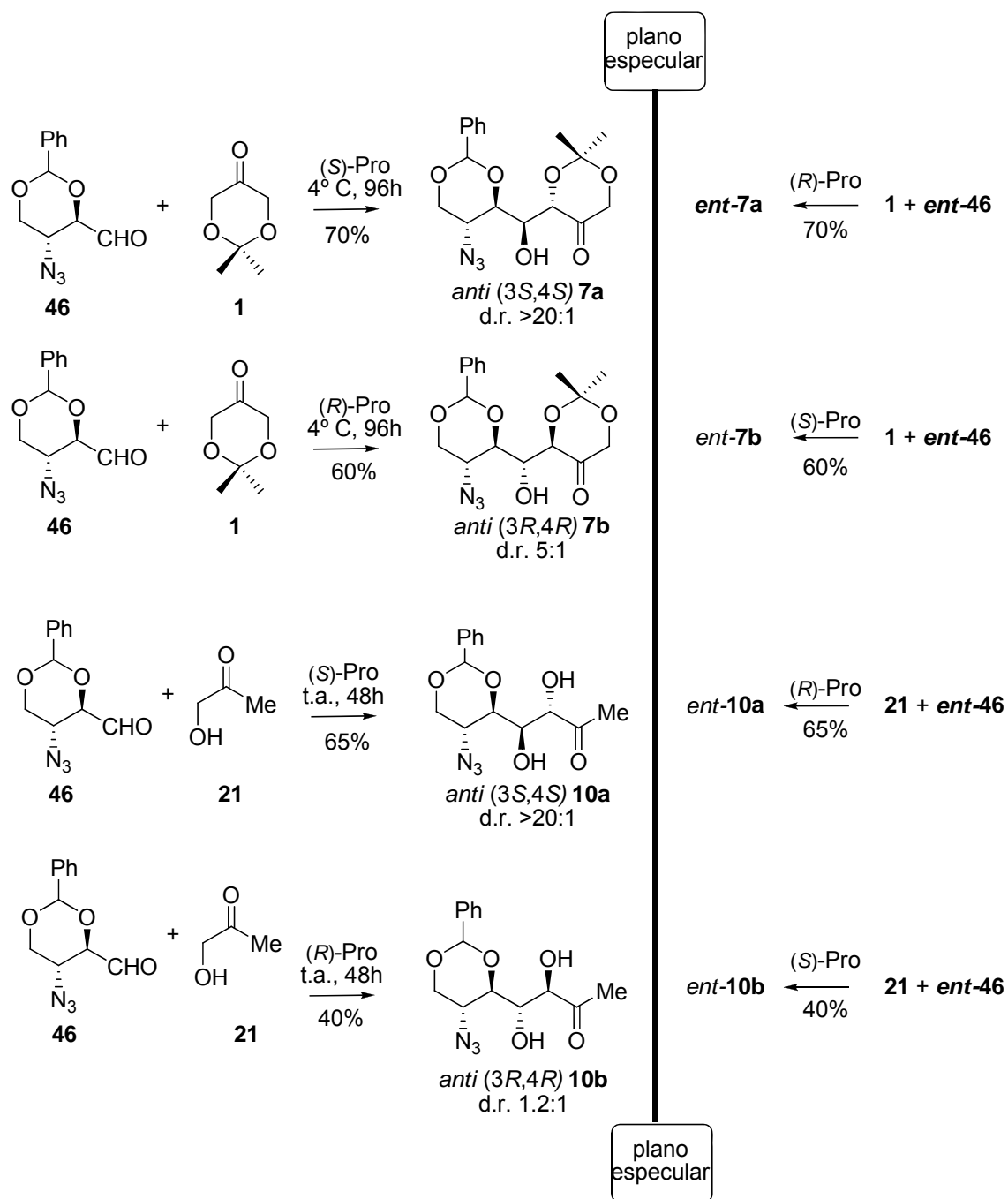
El fenómeno de doble inducción asimétrica que mostraron, ya había sido observado en nuestro grupo de investigación durante el desarrollo de una ruta de síntesis de iminoazúcares con anillo de seis miembros, a la que ya se ha hecho alusión en la presente memoria, en la cual también se empleaba como etapa clave la reacción aldólica catalizada por prolina (esquema 2.7).<sup>17</sup> Para explicar los orígenes de la doble inducción asimétrica en estas reacciones aldólicas se exploró la estereoselectividad de las mismas mediante cálculos mecano-cuánticos, empleando el método HF/6-31G\*<sup>68</sup> y utilizando un sistema modelo, para el estudio tanto del par concertado ((S)-aldehído/(R)-prolina) como del par no concertado ((S)-aldehído/(S)-prolina).<sup>66</sup>

---

<sup>17</sup> Calderón F.; Doyagüez, E. G.; Fernández-Mayoralas, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6258-6261.

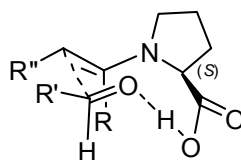
<sup>66</sup> (a) Félix Calderón, Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid, Diciembre de 2006. (b) Calderón, F.; Doyagüez, E. G.; Cheong, P. H. -Y.; Fernández-Mayoralas A.; Houk, K. N. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7916-7920.

<sup>68</sup> Este método ha demostrado ser de gran eficacia con reacciones parecidas: Ha-Yeon Cheong, P.; Zhang, H.; Thayumanavan, R.; Tanaka, F.; Houk, K. N.; Barbas, C. F., III, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 811-814



**Esquema 2.7.** Reacciones aldólicas empleadas como etapas clave para la síntesis de iminoazúcares con anillo de seis miembros.

Según los datos computacionales obtenidos en este trabajo, se pudo concluir que la estereoselectividad de la reacción aldólica catalizada por prolina, como ya se había descrito anteriormente, estaba gobernada por la preferencia por un estado de transición donde el sustituyente del aldehído se colocase en una posición pseudoecuatorial (ET parcial Zimmerman-Traxler, figura 2.4).



R' - ecuatorial

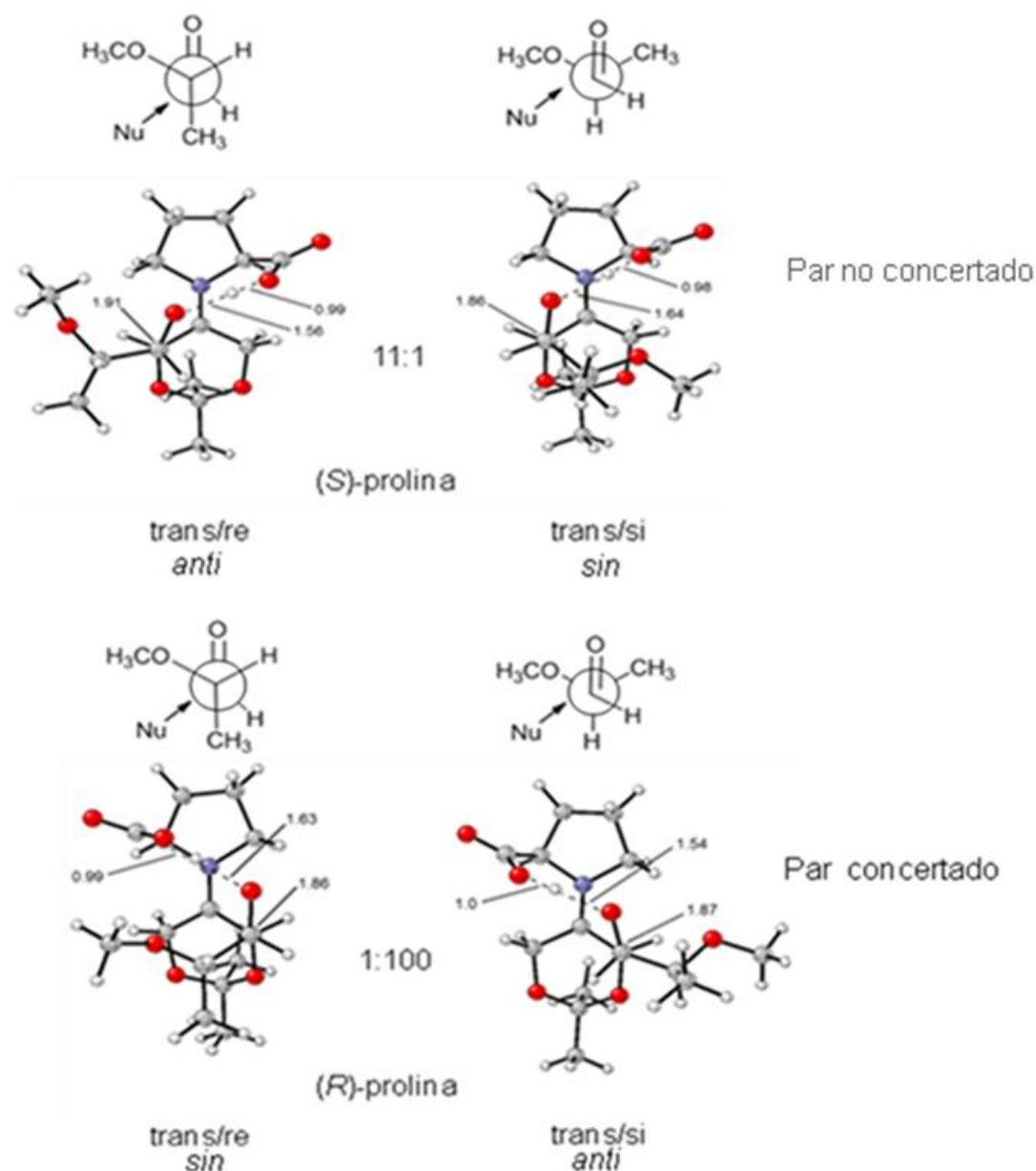
**Figura 2.4.** Estado de transición cuasi-Zimmerman-Traxler para la reacción aldólica intermolecular catalizada por prolina.

Pero además, y dado que un aldehído con un centro estereogénico en  $\alpha$  estaba siendo usado como aceptor, los factores estéricos demostraron ser también determinantes según las evidencias computacionales obtenidas.

En el par no concertado (figura 2.5 superior), el estado de transición más estable es aquél en el que se produce el ataque nucleófilo por la cara *re* del aldehído (figura 2.5 superior izquierda), colocando así el sustituyente del mismo en posición ecuatorial, pero este mismo estado de transición no favorece el ataque nucleófilo al carbonilo del aldehído según el curso normal Felkin-Anh,<sup>69</sup> puesto que coloca en el camino del nucleófilo al grupo grande (Me), y el pequeño (H) en *anti*.

Sin embargo, si nos fijamos en el par concertado, el estado de transición más estable es en este caso el que da lugar al ataque nucleófilo por la cara *si* del aldehído, por ser la que coloca el sustituyente del aldehído en posición ecuatorial y da lugar al producto *anti* (figura 2.5 inferior derecha), pero además este estado de transición tiene una conformación que favorece el ataque por esta cara, en la que el grupo grande (Me) se sitúa *anti* al ataque nucleófilo, y el grupo pequeño (H) es el más cercano al ataque. Estos dos efectos se complementan provocando una gran diferencia de energía entre los estados *anti* y *sin*, lo que explica la alta diastereoselectividad observada experimentalmente (*anti/sin* >20:1, esquema 2.7).

<sup>69</sup> (a) Chérest, M.; Felkin, H.; Prudent, N. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *18*, 2199-2204; (b) Anh, N. T. *Top. Current. Chem.* **1980**, *88*, 145-162.



**Figura 2.5.** Estructuras de los estados de transición más estables para la reacción aldólica del sistema modelo correspondientes al ataque de la enamina por la cara *re* (parte izquierda de la figura) y *si* (parte derecha de la figura) del aldehído para el caso de la (S)-prolina (par no concertado, parte superior de la figura) y de la (R)-prolina (par concertado, parte inferior de la figura).

### **Aplicación de los estudios computacionales a la reacción aldólica entre el aldehído 16 y la cetona 1**

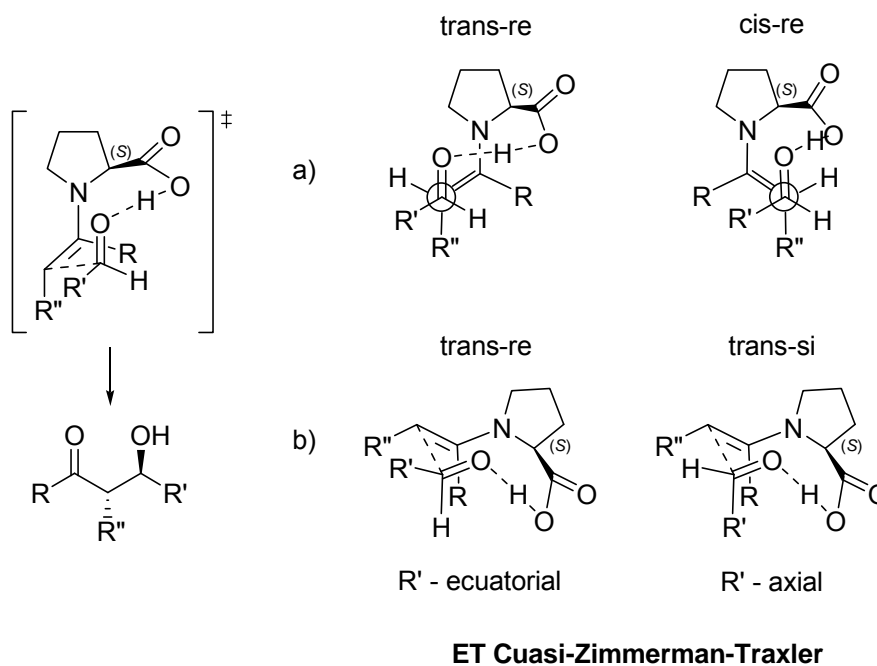
Nos propusimos llevar a cabo un estudio teórico similar aplicado ahora al aldehído 16.

La optimización de los estados de transición se llevó a cabo del mismo modo que se había hecho anteriormente para la obtención de los resultados

que acaban de mostrarse, tomando como referencia el modelo de estereoselectividad publicado por Houk, que se basa en dos factores principales.<sup>46c</sup>

a) La preferencia (en más de 3.0 Kcal) por estados de transición en los que el grupo ácido de la prolina y el doble enlace de la enamina estén en *trans* con respecto al eje C-N (*trans-re* más estable que *cis-re* en el esquema 2.8, a).

b) La preferencia por el ataque a la cara *re* del aldehído, debido a que en el estado de transición de 6 miembros aceptado, tipo Zimmerman-Traxler,<sup>70</sup> el sustituyente del aldehído quedaría así colocado en una posición pseudoecuatorial (*trans-re* más estable que *trans-si* en el esquema 2.8, b).



**Esquema 2.8**

Además, dentro de los posibles estados de transición para la transferencia del protón desde el ácido de la prolina al alcóxido en formación, aquéllos con

<sup>46c</sup> Allemann, C.; Gordillo, R.; Clemente, F. R.; Cheong, P. H. -Y.; Houk, K. N. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 558-569.

<sup>70</sup> Zimmerman, H. E.; Traxler, M. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1920-1923.

un ángulo dihedro de  $+60^\circ$  relativo al grupo carbonilo y el doble enlace de la enamina están favorecidos en casi 10 Kcal/mol (figura 2.6, **A**).

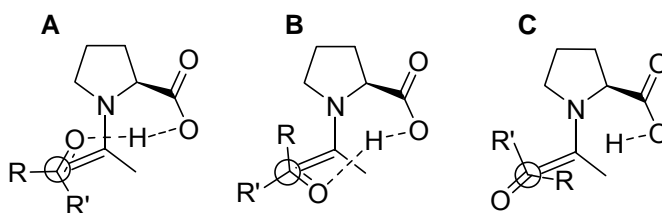


Figura 2.6

Así, y teniendo en cuenta los estudios previos de Houk, se llevaron a cabo los siguientes pasos para el diseño del cálculo:

- 1) Debido a que el tamaño del aldehído alargaría mucho el tiempo de cálculo, se eligió un aldehído modelo a **16** (figura 2.7): (*R*)-2-azidopropanal **54** para llevar a cabo los cálculos.

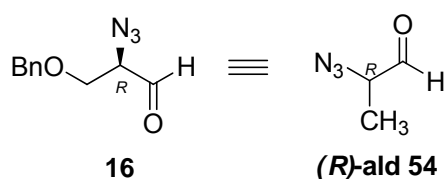
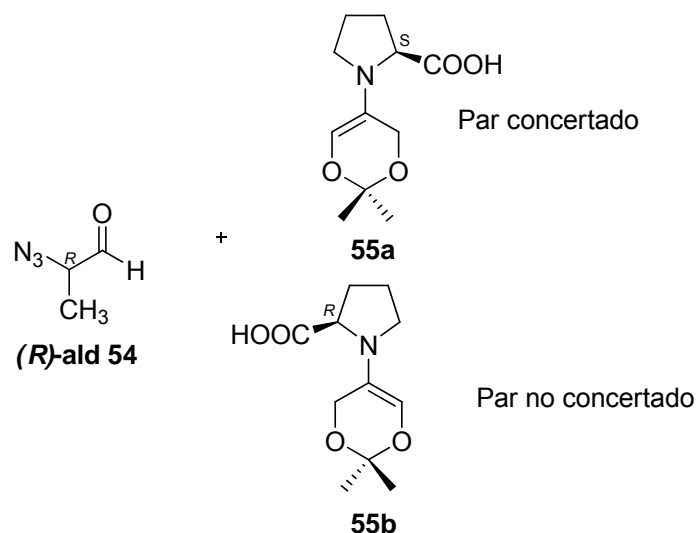


Figura 2.7. Aldehído modelo elegido (**54**) para realizar los cálculos sustituyendo a **16**.

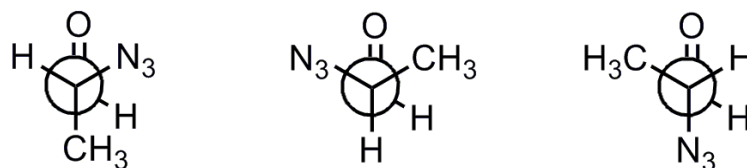
- 2) Se estudiaron los estados de transición correspondientes al ataque nucleófilo *trans-re* y *trans-si* (esquema 2.12) de la enamina dioxanona-(*S*)-prolina (**55a**) y la enamina-dioxanona-(*R*)-prolina (**55b**) al aldehído modelo (*R*)-ald **54** (figura 2.8).





**Figura 2.8.** Sistema modelo para el estudio teórico

- 3) Se consideraron además para cada caso los tres posibles rotámeros *anti* del aldehído **(R)-ald 54** (figura 2.9).



**Figura 2.9.** Rotámeros *anti* posibles del aldehído **54**

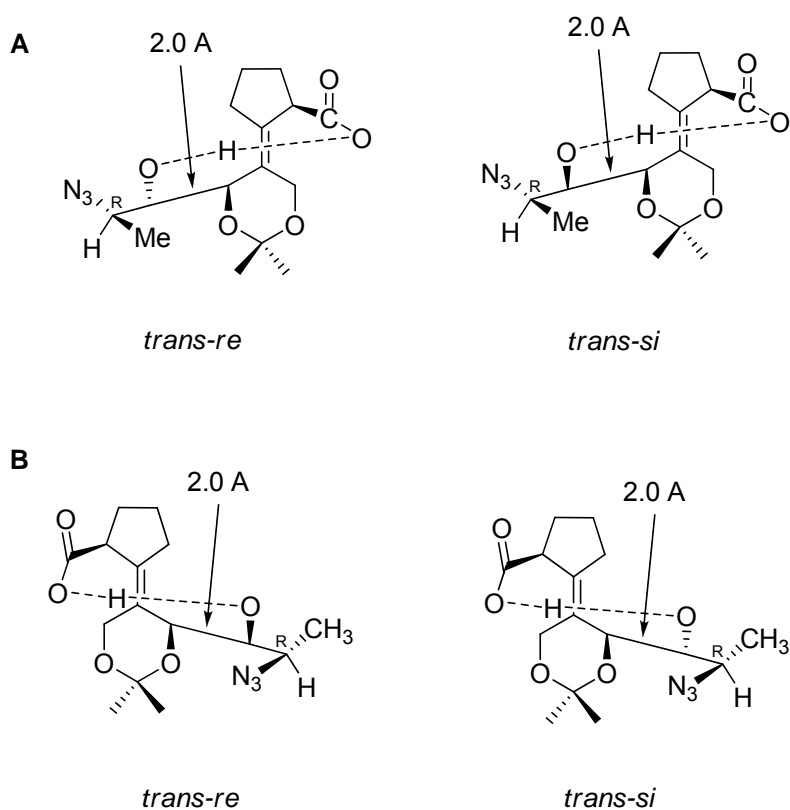
- 4) En todos los casos se han tenido en cuenta también las dos conformaciones mayoritarias del anillo de 5 miembros de la prolina (relativas al carbono 3 del ciclo).

### **Obtención de las estructuras**

En primer lugar se realizó una búsqueda conformacional (restringiendo el nuevo enlace C-C a 1.9 Å) de los productos resultantes del ataque *trans-re* y *trans-si* de las enaminas **55a** (figura 2.10, **A**) y **55b** (figura 2.10, **B**) al aldehído modelo **(R)-ald 54** en sus tres conformaciones *anti* posibles usando Macromodel<sup>®</sup> (figura 2.10). Además para cada caso se buscaron las dos conformaciones relativas al C3 del anillo de prolina. Para esta búsqueda conformacional, dado que la versión usada del programa Macromodel<sup>®</sup> no

reconoce nitrógenos cuaternarizados, el nitrógeno del anillo de prolina fue sustituido por un carbono.

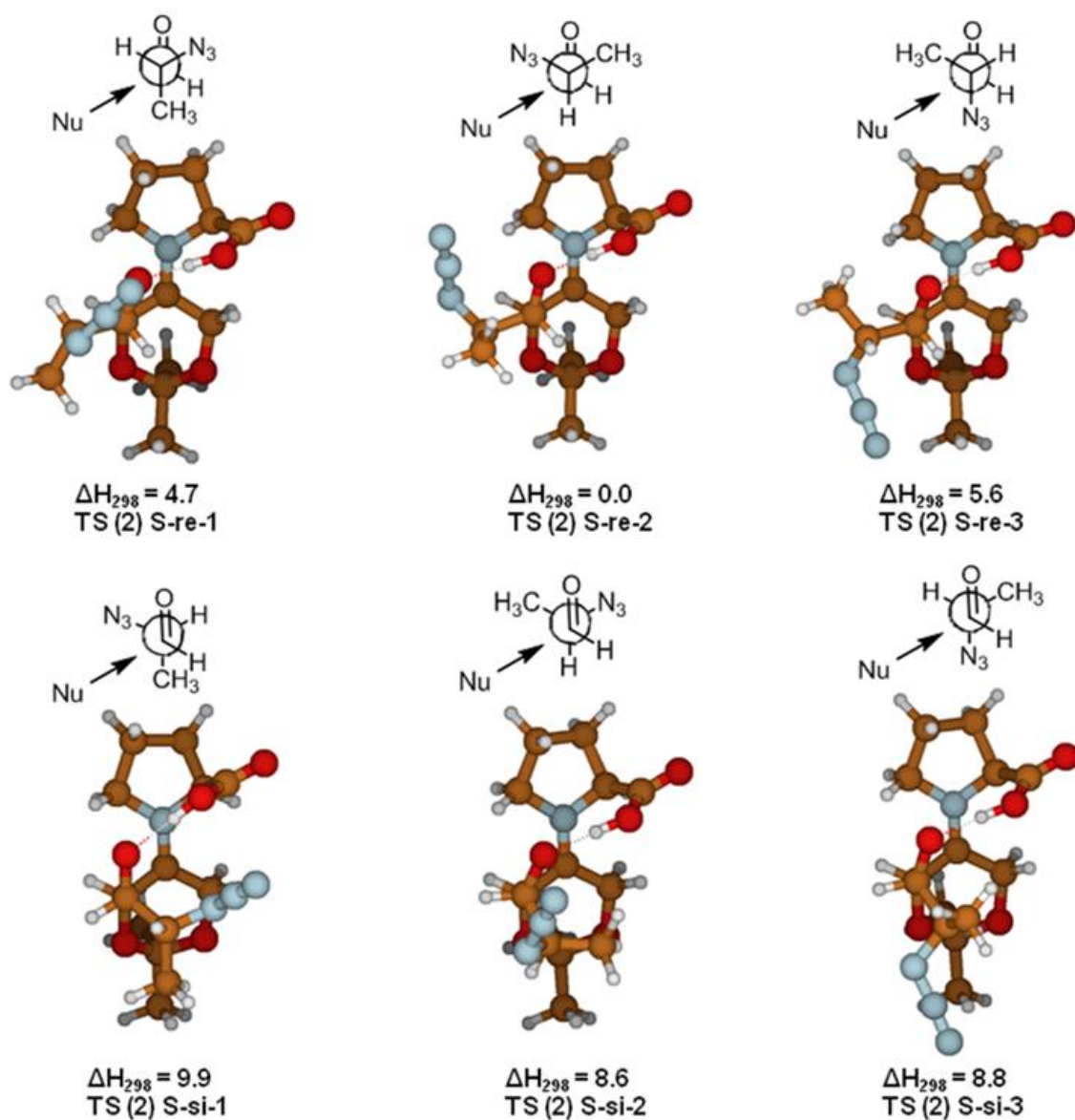
De todas las estructuras posibles sólo se seleccionaron aquéllas en las que era posible la formación de un enlace de hidrógeno con un ángulo dihedro de  $+60^\circ$  ((*S*)-Prolina) y  $-60^\circ$  ((*R*)-Prolina) relativo al grupo carbonilo y el doble enlace de la enamina.



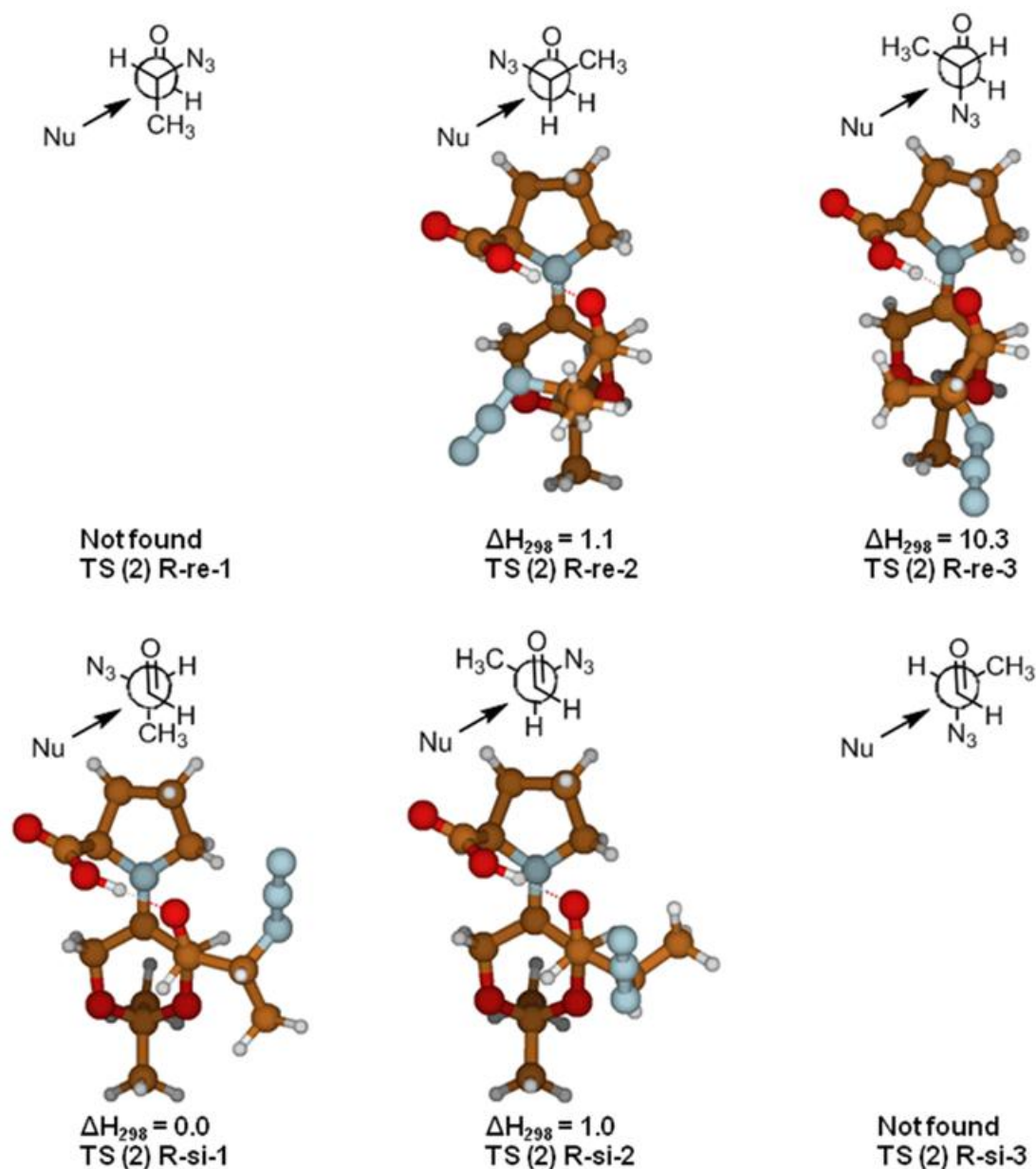
**Figura 2.10**

Las conformaciones seleccionadas fueron optimizadas mediante el método empírico PM3, con el fin de encontrar conformaciones más estables que la de bote para el anillo de 6 de la enamina, ya que con Macromodel<sup>®</sup> sólo se obtuvieron botes. A continuación esas conformaciones fueron pre-optimizadas *abinitio* HF/6-31G (d) y con aquéllas que convergieron se llevó a cabo la optimización completa y cálculo de frecuencias *abinitio* HF/6-31G (d) sin restricciones.

Finalmente se seleccionaron 19 estructuras finales, de las cuales la más significativa para cada rotámero se presentan en las figuras 2.11 para la enamina **55a** y 2.12 para la enamina **55b**. En ellas, el  $\Delta H_{298}$  es relativo al confórmero más estable para cada caso ( $\Delta H_{298}=0.0$  Kcal/mol).



**Figura 2.11.** Estados de transición correspondientes al ataque de la enamina **55a** ((S)-prolina) al aldehído (**R**)-ald **54**. Primera fila: ataque facial *re*. Segunda fila: ataque facial *si*.



**Figura 2.12.** Estados de transición correspondientes al ataque de la enamina **55b** ((*R*)-prolina) al aldehído (*R*)-ald **54**. Primera fila: ataque facial *re*. Segunda fila: ataque facial *si*.

Podemos observar que los cálculos teóricos nos proporcionaron resultados similares a los obtenidos para el caso del aldehído **46**.

Si nos fijamos en el “par no-concertado”: (*R*)-prolina/ (*R*)-ald **54** (figura 2.12, enamina **55b**), según los datos obtenidos la estereoselectividad de la reacción está gobernada por el ataque preferente a la cara *si* del aldehído, colocando en este caso al sustituyente del aldehído en posición ecuatorial del estado Zimmerman-Traxler (esquema 2.8, b). Este mismo razonamiento puede aplicarse al estado de transición de (*S*)-prolina (figura 2.11, enamina **55a**) pero

en este caso es el ataque a la cara *re* del aldehído el que coloca el sustituyente en una posición ecuatorial. La estereoselectividad en ambos casos se encuentra gobernada por la conformación del estado de transición y no por la configuración de los reactivos.

Las diferencias en la relación *anti/sin* observadas experimentalmente, que fue excelente en el caso de la (*S*)-prolina (>20:1) y moderada en el caso de la (*R*)-prolina (5:1), pueden explicarse si nos fijamos en el aldehído. En el caso del “par concertado”: (*S*)-prolina/ (***R***)-ald 54, la cara *re* del aldehído está claramente favorecida ya que además de favorecer el estado de transición, tiene una conformación que favorece el ataque por esta cara (figura 2.11, **[TS (2) S-*re*-2]**) en la que el grupo grande (Me) se sitúa *anti* al ataque nucleófilo, y el grupo pequeño (H) es el más cercano al ataque (aproximadamente 5 Kcal/mol más estable que el resto). Por tanto, la cara *re*, además de ser la cara favorecida para el estado de transición presenta una conformación muy estable para el ataque nucleófilo. Ambos efectos se complementan provocando una gran diferencia de energía entre los estados *anti* y *sin*, lo que explica la alta diastereoselectividad observada experimentalmente (*anti/sin* >20:1).

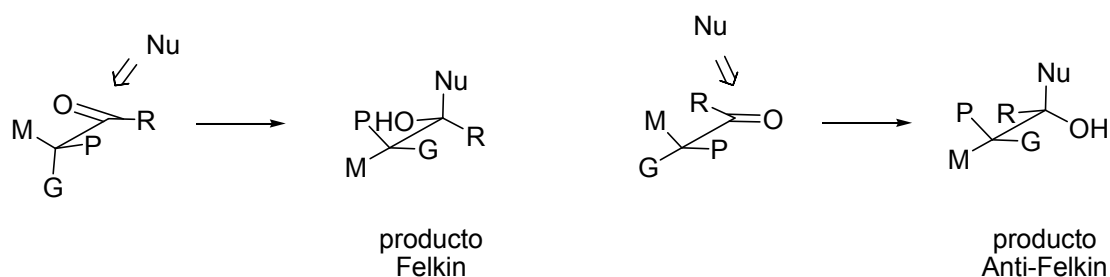
Aplicando el mismo razonamiento al caso del “par no concertado”, observamos que la cara *si* es la favorecida en este caso por ser la que coloca el sustituyente del aldehído en posición ecuatorial; pero, en este caso, la conformación más favorecida coloca en el camino del nucleófilo el grupo grande (Me) (figura 2.12, **[TS (2) R-*si*-1]**) y el pequeño (H) en *anti*, lo que hace que la adición no esté favorecida.

Comparando los datos experimentales (esquema 2.6, **16 + 1**) con los obtenidos computacionalmente (Tabla 2.1) en términos de Kcal/mol, podemos decir que existe una muy buena correlación entre ambos, ya que el error computacional es de 0.45 Kcal/mol.

**Tabla 2.1** Datos computacionales y experimentales  $\Delta H$  ( $\Delta H$  fue calculado aplicando la ley de distribución de Boltzmann a todas las conformaciones).

	$\Delta H_{298}$ (Kcal/mol)	$\Delta H_{exp}$ (Kcal/mol)
	<i>anti/sin</i> Teórico	<i>anti/sin</i> Experimental
( <i>S</i> )-Prolina	>3	>3
( <i>R</i> )-Prolina	1,15	0,95

Mediante los datos computacionales obtenidos podemos concluir que son factores estéricos los que gobiernan el transcurso de la reacción, y no efectos electrónicos (modelo tipo Cornforth).<sup>71</sup> La reacción catalizada por (*S*)-prolina sigue el curso normal Felkin-Anh<sup>69</sup> (esquema 2.9), produciéndose el ataque nucleófilo en *anti* al grupo grande ([**TS S-re-2**], figura 2.11); sin embargo, con la (*R*)-prolina, este estado de transición está estéricamente impedido, observándose así una pérdida de estereoselectividad, siendo el par (*R*)-ald/ (*S*)-prolina el concertado.



Esquema 2.9<sup>72</sup>

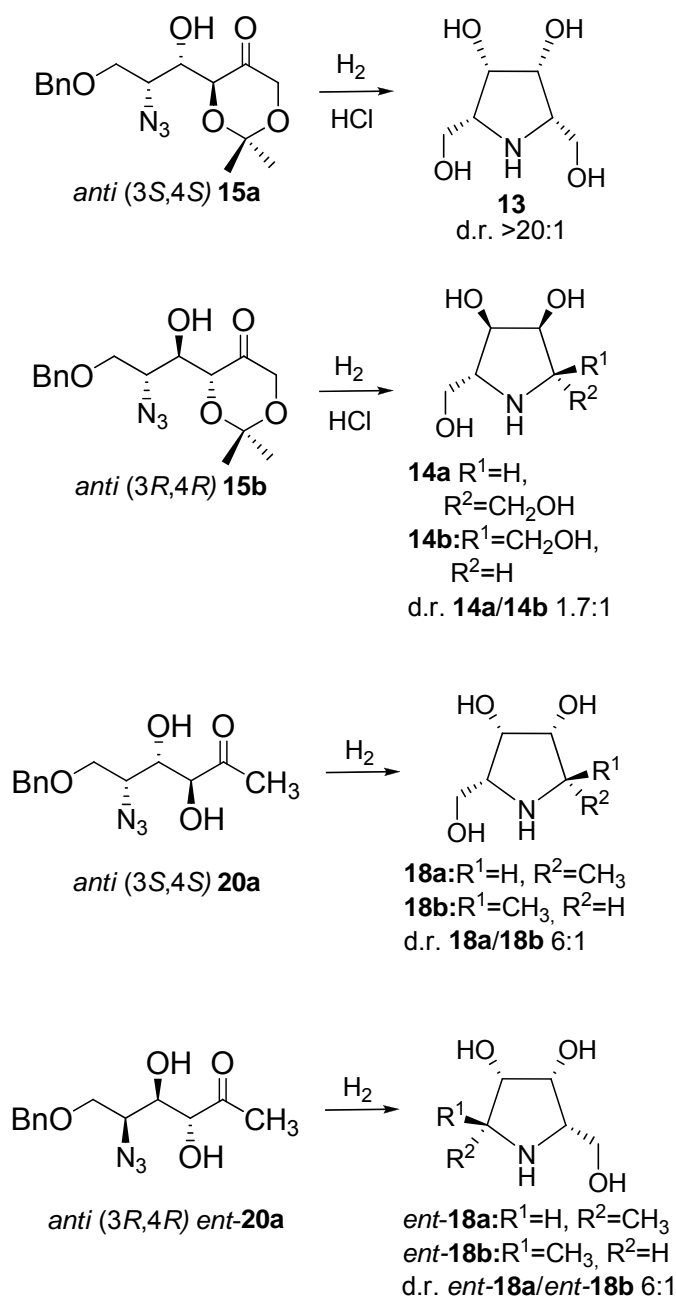
#### 2.2.1d Obtención de iminoazúcares de 5 miembros a partir de los aldeos obtenidos en el punto 2.2.1b

En el esquema 2.10 se muestran los distintos iminoazúcares sintetizados a partir de los productos obtenidos mediante las reacciones aldólicas entre los aldehídos derivados de L- y D-tartrato (**16** y *ent*-**16**), con dioxanona (**1**) o hidroxiacetona (**21**), en presencia de (*S*)- y (*R*)-prolina.

<sup>69</sup> (a) Chérest, M.; Felkin, H.; Prudent, N. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *18*, 2199-2204; (b) Anh, N. T. *Top. Current. Chem.* **1980**, *88*, 145-162.

<sup>71</sup> Cornforth propuso que, con objeto de minimizar los momentos dipolares, si grupos electrón atrayentes se encuentran presentes en el aceptor, la conformación mayoritaria será la que coloque éste en *anti* al carbonilo y el ataque del nucleófilo será por la cara más favorecida estéricamente: Cornforth, J. W.; Cornforth, M. R. H.; Mathew, K. K. *J. Chem. Soc.* **1959**, 112-127.

<sup>72</sup> Producto Felkin está referido al producto resultante del modelo de Cram o Felkin-Ahn, y anti-Felkin al modelo de Cram-quelado o anti-Felkin-Ahn.



**Esquema 2.10.** Iminoazúcares sintetizados a partir de los aldoles obtenidos en el punto 2.2.1b.

Así, se hidrogenaron (H<sub>2</sub>, 45 psi) los aldoles empleando Pd/C (10%) como catalizador en metanol y, para el caso de **15a** y **15b**, en presencia de ácido clorhídrico. Bajo estas condiciones tuvieron lugar la transformación del grupo azido a amina, la posterior aminociclación reductora y la desprotección de los grupos acetales. De este modo se obtuvo el iminoazúcar **13** (esquema 2.10) cuantitativamente. Los aldoles **15b** y **20a** dieron sin embargo mezclas 1.7:1 y 6:1 de los diastereoisómeros **14a,b** y **18a,b**, respectivamente. Para el caso de *ent*-**20a**, los resultados fueron equivalentes a los obtenidos con el producto

enantiómero, dando lugar a una mezcla 6:1 de los productos *ent*-**18a,b**. Estos resultados indican que la estereoselectividad de la hidrogenación es dependiente de la orientación de la configuración de los centros 3 y 4 (precisamente los creados en la reacción aldólica) de los aldoles **15** y **20**.

La caracterización de los iminoazúcares finales obtenidos fue sencilla, dado que, además de que la mayor parte de los centros estereogénicos estaban ya caracterizados en las etapas previas, derivados de este tipo han sido extensamente estudiados, y pudimos comparar los datos espectroscópicos obtenidos con los descritos en la bibliografía.<sup>73,74,75</sup> Además, tanto en el caso de **13** como de **14a**, los espectros de <sup>13</sup>C únicamente presentaban tres señales, lo cual nos indicaba que se trataba de compuestos con un plano de simetría en su estructura, no dejando lugar a dudas sobre cuál debía ser la configuración del nuevo centro creado en la etapa de reducción.

La baja diastereoselectividad obtenida en la reducción de **15b**, dadas las dificultades que conlleva la separación de estas mezclas, y problemas en el aislamiento tras la reducción para el caso de *ent*-**18a**, nos obligaron a prescindir de los correspondientes iminoazúcares a la hora de llevar a cabo las evaluaciones biológicas.

Podemos concluir así que la estrategia iniciada en nuestro grupo para la síntesis de los iminoazúcares de seis miembros, ha sido completada en el presente trabajo para los de cinco miembros. Esta síntesis ascendente<sup>76</sup> permite la obtención de una variedad de iminoazúcares combinando los enantiómeros del producto de partida (tartrato de dietilo) y los de la prolina. En la figura 2.13 se representa el origen de los centros estereogénicos en las síntesis de los iminoazúcares de anillos de cinco y seis miembros, los cuales provienen bien del tartrato de dietilo elegido o bien de la estereoselectividad de las reacciones.

---

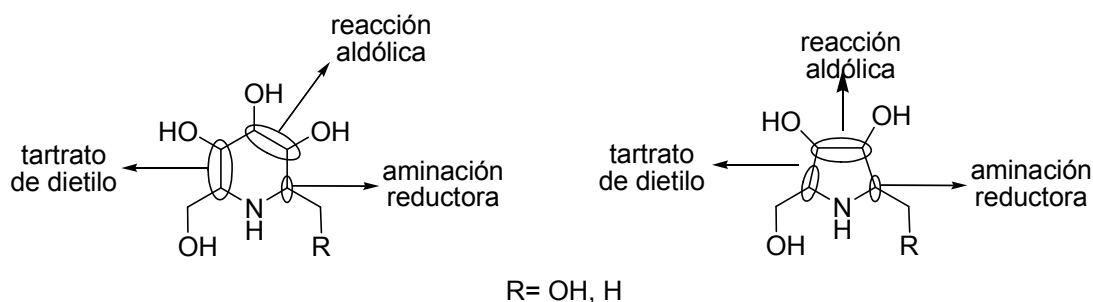
<sup>73</sup> Singh, S.; Han, H. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6349-6352.

<sup>74</sup> Izquierdo, I.; Plaza, M. T.; Rodríguez, M.; Franco, F.; Martos, A. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11697-11704.

<sup>75</sup> Espelt, L.; Bujons, J.; Parella, T.; Calveras, J.; Joglar, J.; Delgado, A.; Clapés, P. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1392-1401.

<sup>76</sup> El término *síntesis ascendente* hace referencia a métodos de síntesis de carbohidratos basados en la elongación de la cadena de un determinado producto de partida. Otros métodos son: *síntesis descendente* o *degradación* (basados en el acortamiento de la cadena de un determinado azúcar) y *epimerización*: Györgydeák, Z.; Pelyvàs, I. F. en *Monosaccharide Sugars*. **1998**, Academic Press, San Diego, California.





**Figura 2.13.** Centros estereogénicos introducidos en las distintas etapas de síntesis del iminoazúcar

## 2.2.2 Evaluación biológica de los iminoazúcares obtenidos como inhibidores de enzimas glicosidasas

### 2.2.2a Iminoazúcares como inhibidores de glicosidasas

Es sabido que alcaloides que mimetizan las estructuras de los monosacáridos están ampliamente extendidos en plantas y microorganismos. Entre ellos, aquéllos en los cuales el oxígeno del anillo ha sido reemplazado por un átomo de nitrógeno, normalmente llamados iminoazúcares, han sido uno de los descubrimientos más interesantes en el campo de los productos naturales de los últimos años. Se pueden clasificar en seis tipos según su estructura (figura 2.14): **piperidinas polihidroxiladas**, entre las cuales la Nojirimicina (**6**) es el ejemplo más representativo;<sup>12</sup> **pirrolidinas** como DMDP (2,5-didesoxi-2,5-imino-D-manitol, **56**) encontrada en las hojas de *Derris elliptica* en 1976;<sup>77</sup> **indolicidinas** (polihidroxiheterociclos bicíclicos con un anillo de cinco miembros y otro de seis fusionados) como la Swainsonina (**57**), aislada de *Swainsona canescens* en 1979;<sup>78</sup> **pirrolicidinas**, de nuevo polihidroxiheterociclos bicíclicos pero en este caso con dos anillos de cinco miembros fusionados, como Alexina (**58**), aislada de *Alexa leiopetala*;<sup>79</sup> **nortropanos**, que poseen tres características estructurales en común: un anillo de nortropano, de dos a cuatro grupos hidroxilo que varían en posición y estereoquímica, y una nueva funcionalidad aminoacetal, la cual genera un

<sup>12</sup> Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Niida, T. *J. Antibiot.* **1966**, *19*, 288-292.

<sup>77</sup> Welter, A.; Jadot, J.; Dardenne, G.; Marlier, M.; Casimir, J. *Phytochemistry* **1976**, *15*, 747-749.

<sup>78</sup> Colígate, S. M.; Dorling, P. R.; Huxtable, C. R. *Aust. J. Chem.* **1979**, *29*, 2487-2490.

<sup>79</sup> Nash, R. J.; Fellows, L. E.; Dring, J. V.; Fleet, G. W. J.; Derome, A. E.; Hamor, T. A.; Scofield, A. M.; Watkin, D. J. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 2487-2490.

grupo hidroxilo terciario en la cabeza de puente del anillo bicíclico, como la Calistegina B<sub>3</sub> (**59**) presente en las raíces de *Physalis alkekengi*.<sup>80</sup> Además, desde el año 2000, una nueva familia de desoxiaminoazúcares como **(+)-adenoforina (60)** han sido aislados de distintas plantas.<sup>81</sup>

Estas moléculas son capaces de alterar un amplio abanico de procesos biológicos interesantes, pero son conocidas principalmente por su capacidad de inhibición de enzimas implicadas en el metabolismo de carbohidratos,<sup>11,14a,82</sup> tanto de glicosidasas como de glicosiltransferasas, lo que hace interesante su uso en diferentes aplicaciones terapéuticas, tales como el tratamiento de diversas infecciones virales,<sup>83,84</sup> como el HIV,<sup>84a-c</sup> hepatitis humana B,<sup>83,84b</sup> hepatitis humana C,<sup>84d,e</sup> virus de la encefalitis japonesa<sup>84f</sup> y virus del dengue,<sup>84f</sup> así como cáncer,<sup>85</sup> diabetes,<sup>86</sup> tuberculosis<sup>87</sup> y malaria.<sup>87b</sup>

<sup>11</sup> (a) Stutz, A. E. en *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **1999**. (b) Asano, N.; Nash, M. J.; Molyneux, R. J.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron : Asymmetry* **2000**, *11*, 1645-1680.

<sup>14a</sup> Bols, M.; Lillehund, V. H.; Jensen, H. H.; Liang, X. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 515-554.

<sup>80</sup> Asano, N.; Kato, A.; Oseki, K.; Kizu, H.; Matsui, K. *Eur. J. Biochem.* **1995**, *229*, 369-376.

<sup>81</sup> Ikeda, K.; Takahashi, M.; Nishida, M.; Miyauchi, M.; Kizu, H.; Kameda, Y.; Arisawa, M.; Watson, A.; Nash, R. J.; Fleet, G. W. J.; Asano, N. *Carbohydr. Res.* **2000**, *323*, 73-80.

<sup>82</sup> (a) Heightman, T. D.; Vasella, A. T., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2300-2324; (b) Asano, N.; Nishida, M.; Kato, A.; Kizu, H.; Matsui, K.; Shimada, Y.; Watson, A.; Nash, R. J., de Lilley, P. M. Q.; Itoh, T.; Baba, M.; Fleet, G. W. J. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2565-2571.

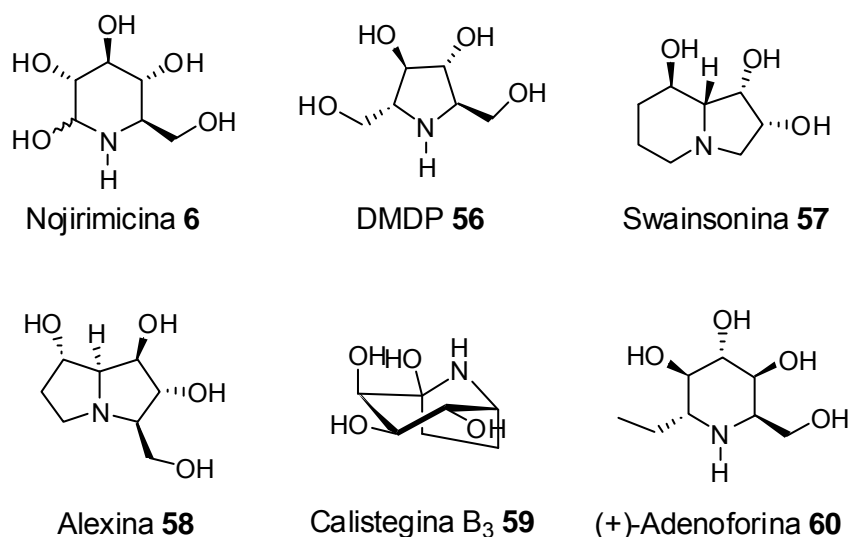
<sup>83</sup> Alper, J. *Science* **2001**, *291*, 2338-2343.

<sup>84</sup> (a) Ratner, L.; Heyden, N. V.; Dederer, D. *Virology* **1991**, *181*, 180-192. (b) Rudd, P. M.; Elliot, T.; Cresswell, P.; Wilson, I. A.; Dwek, R. A. *Science* **2001**, *291*, 2370-2376. (c) Chery, F.; Cronin, L.; O'Brien, J. L.; Murphy, P. V. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 6597-6608. (d) Pavlovic, D.; Neville, D. C. A.; Argaud, O.; Blumberg, B.; Dwek, R. A.; Fischer, W. B.; Zitzmann, N. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2003**, *100*, 6104-6108. (e) Durantel, D.; Carrouéé-Durantel, S.; Branza-Nichita, N.; Dwek, R. A.; Zitzmann, N. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 497-504. (f) Wu, S. -F.; Lee, C. -J.; Liao, C. -I.; Dwek, R. A.; Zitzmann, N.; Lin, Y. -L. *Viol.* **2002**, *76*, 3596-3604.

<sup>85</sup> (a) Paulsen, H.; Brockhausen, I. *Glycoconjugate J.* **2001**, *18*, 867-870. (b) Gross, P. E.; Baker, M. A.; Carver, J. P.; Dennis, J. W. *Clin. Cancer Res.* **1995**, *1*, 935-944.

<sup>86</sup> (a) Anzeveno, P. B.; Creemer, L. J.; Daniel, J. K.; King, C. -H. R.; Liu, P. S. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2539-2542. (b) Balfour, J. A.; McTavish, D. *Drugs*, **1993**, *46*, 1025-1054.

<sup>87</sup> (a) Cren, S.; Gurucha, S. S.; Blake, A. J.; Besra, G. S.; Thomas, N. R. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2418-2420. (b) Wrodnigg, T. M.; Sprenger, F. K. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 437-459.



**Figura 2.14.** Ejemplos de cada uno de los seis tipos de iminoazúcares según su estructura.

Dado el importante potencial terapéutico de esta clase de iminoazúcares, no sorprende el hecho de que su síntesis y modificación haya generado un enorme interés.<sup>88</sup>

Para entender la capacidad de los iminoazúcares para inhibir enzimas glicosidasas es necesario conocer el mecanismo de acción de las mismas.

### ***Mecanismo de acción de las enzimas glicosidasas***

Las glicosidasas son unas enzimas que catalizan la hidrólisis de enlaces glicosídicos. Hasta la fecha se han identificado más de dos mil glicosido hidrolasas que se han clasificado en 97 familias diferentes.

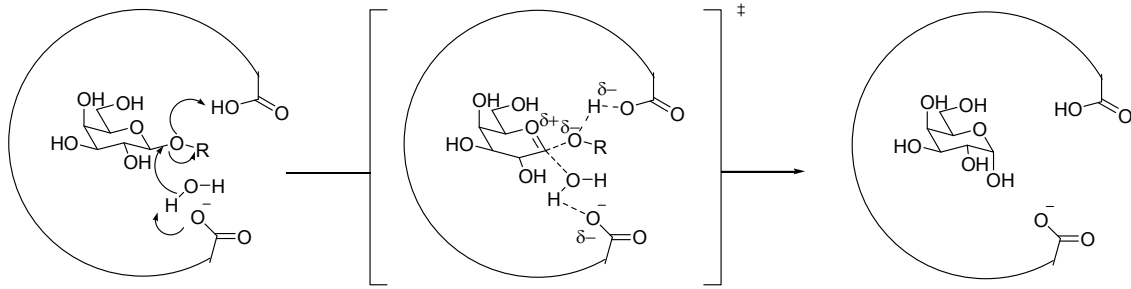
El mecanismo general de hidrólisis del enlace glicosídico catalizada por glicosidasas consiste básicamente en una sustitución nucleófila sobre el carbono anomérico.<sup>14b</sup> Dentro de este mecanismo, se pueden encontrar glicosidasas que dan lugar a una reacción con inversión de la configuración en el carbono anomérico y aquéllas que conducen a retención de la configuración en dicho centro. Ambos mecanismos tienen lugar mediante una catálisis ácida en la que intervienen dos residuos importantes de la enzima, generalmente de tipo carboxílico: un dador de protón (AH) y un nucleófilo/base (B<sup>-</sup>). El

<sup>14b</sup> Sinnot, M. L. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171-1202.

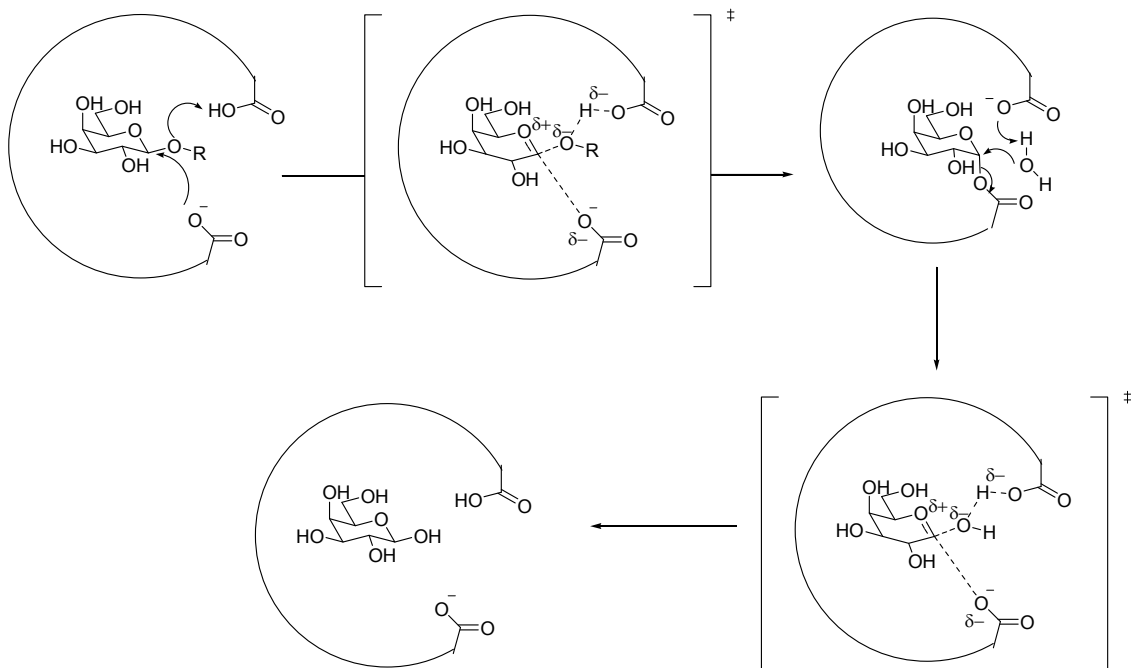
<sup>88</sup> Revisión de aplicaciones terapéuticas y síntesis: Pearson, M. S. M.; Mathé-Allainmat, M.; Fargeas, V.; Lebreton, J. *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, *11*, 2159-2191.

mecanismo propuesto para las glicosidasas con inversión de la configuración implica la protonación y salida del aglicón al mismo tiempo que se produce el ataque de una molécula de agua activada por la base. Este mecanismo transcurre a través de un único estado de transición en el cual uno de los aminoácidos actúa como ácido protonando al oxígeno interglicosídico y debilitando el enlace C1-O1, mientras que el otro, en forma de carboxilato, actúa como base abstrayendo un protón de una molécula de H<sub>2</sub>O, aumentando así su nucleofilia. De esta forma la molécula de agua ataca al C1 por el lado opuesto al que tiene lugar la salida del aglicón, conduciendo a una inversión de la configuración en C1. En este mecanismo se genera un estado de transición de tipo carbocatión-oxonio con desarrollo de densidad de carga positiva deslocalizada a lo largo del enlace C1-O5. De este modo la conformación inicial <sup>4</sup>C<sub>1</sub> del monosacárido se distorsiona hacia una conformación tipo semisilla donde los átomos C5, O5, C1y C2 están situados en un mismo plano (figura 2.15, A).

Las glicosidasas con retención de la configuración utilizan un mecanismo de doble desplazamiento. En un primer paso un residuo ácido de la enzima protona el oxígeno interglicosídico, debilitándose este enlace y, por asistencia nucleófila del residuo básico por la cara opuesta se produce la salida del aglicón, formándose un intermedio glicosil-enzima, donde la configuración del carbono anomérico es opuesta a la original, debido a una primera inversión. A continuación, el residuo que actuó como catalizador ácido, en forma de carboxilato, actúa ahora como base, abstrayendo un protón de una molécula de agua, que a su vez ataca al C1 por el lado opuesto al que le mantiene unido con la enzima, alcanzando un segundo estado de transición semejante al ya descrito que finalmente da lugar a un producto con la misma configuración anomérica que la del sustrato entrante, resultado de dos inversiones consecutivas (figura 2.15, B).



**A.** Mecanismo con inversión de la configuración.



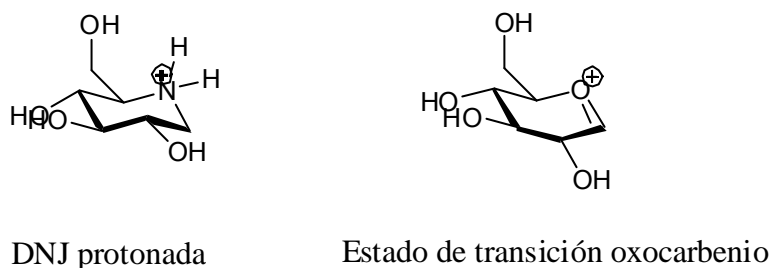
**B.** Mecanismo con retención de la configuración.

**Figura 2.15.** Mecanismo de hidrólisis del enlace glicosídico catalizada por glicosidasas. **A:** Mecanismo con inversión de la configuración. **B:** Mecanismo con retención de la configuración.

El diseño y síntesis de inhibidores de glicosidasas se centra principalmente en mimetizar el estado de transición que se crea durante la hidrólisis enzimática. Una carga positiva parcial se crea entre el carbono anomérico y el oxígeno endocíclico.

Los iminoazúcares pertenecen a esta clase de inhibidores que mimetizan el oxígeno endocíclico cargado positivamente, ya que el átomo de nitrógeno está

protonado a pH fisiológico (figura 2.16), lo cual justifica su actividad como potentes inhibidores de glicosidasas.<sup>11,14a,89</sup>



**Figura 2.16.** Izquierda: Estructura de la desoxinojirimicina protonada. Derecha: Estado de transición oxocarbenio creado durante la hidrólisis enzimática.

### 2.2.2b Evaluación biológica de los productos sintetizados como inhibidores de enzimas glicosidasas

Una vez sintetizados los iminoazúcares con anillo de cinco miembros, se procedió a evaluar su actividad como inhibidores de enzimas glicosidasas, junto con otros de anillo de seis miembros obtenidos anteriormente en nuestro grupo de investigación.<sup>17</sup>

Como ya se ha mencionado, la actividad de los iminoazúcares como potentes inhibidores de glicosidasas se justifica por la capacidad del nitrógeno del anillo de mimetizar el ión oxonio generado durante la hidrólisis enzimática de oligosacáridos por la acción de las glicosidasas. Además, cuanto más semejante sea la configuración del iminoazúcar a la del monosacárido que es sustrato de cada glicosidasa, en teoría mayor será su capacidad de inhibición de esa enzima, ya que mimetizará con más exactitud al sustrato natural.

Las enzimas que hemos empleado para nuestros ensayos de inhibición han sido:  $\alpha$ -L-fucosidasa de riñón de buey,  $\alpha$ -D-glucosidasa de levadura panadera,  $\beta$ -D-galactosidasa de *Escherichia coli*,  $\alpha$ -D-galactosidasa de granos de café verde y  $\alpha$ -D-manosidasa de judías Jack. En la figura 2.17 puede verse la configuración de los sustratos sobre los que actúa cada una de estas

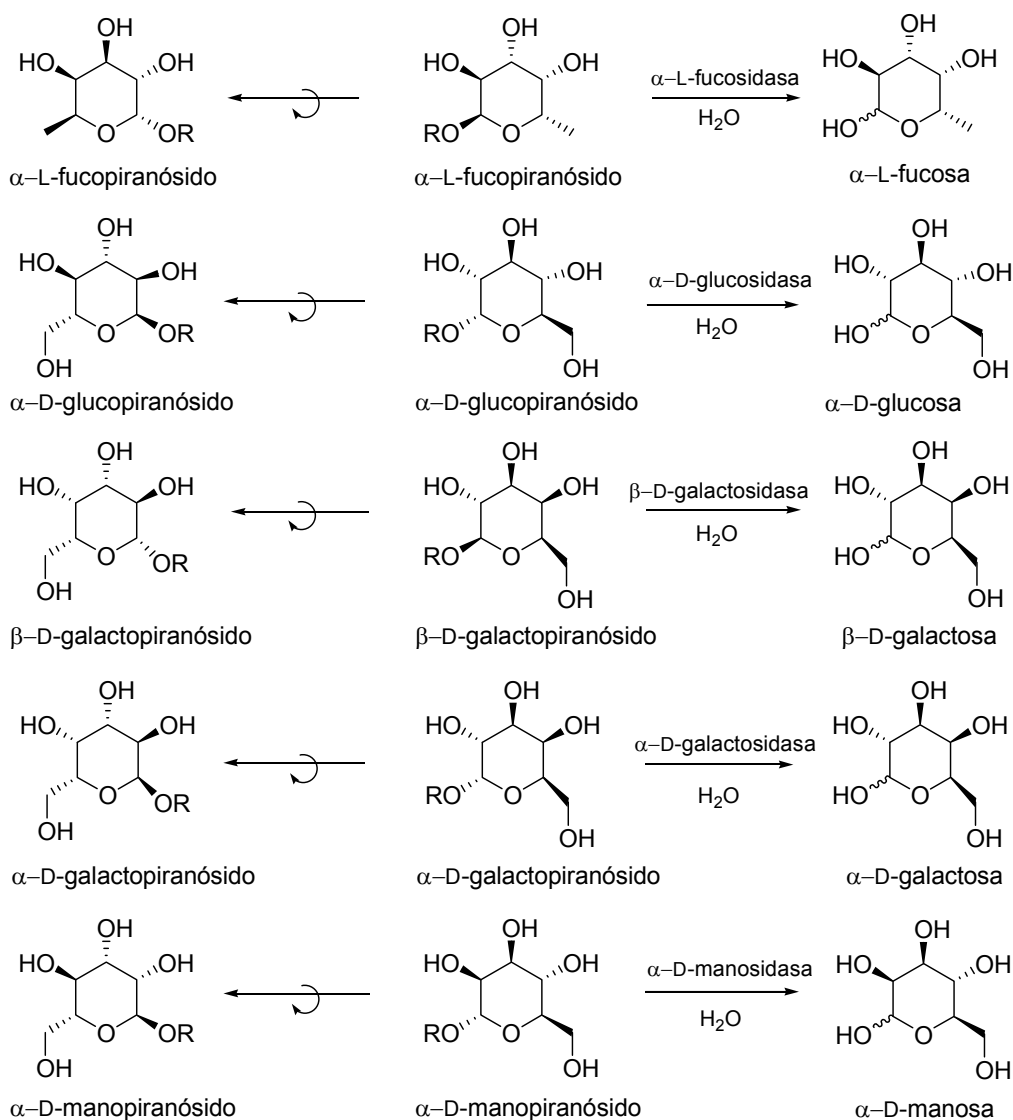
<sup>11</sup> (a) Stutz, A. E. en *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **1999**. (b) Asano, N.; Nash, M. J.; Molyneux, R. J.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron : Asymmetry* **2000**, *11*, 1645-1680.

<sup>14a</sup> Bols, M.; Lillehund, V. H.; Jensen, H. H.; Liang, X. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 515-554.

<sup>17</sup> Calderón F.; Doyagüez, E. G.; Fernández-Mayoralas, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6258-6261.

<sup>89</sup> Gallienne, E.; Gefflaut, T., Bolte, J., Lemaire, M. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 894-902.

enzimas. Podemos observar también el juego que ofrece la disposición relativa de los centros estereogénicos para compararlos con los de nuestros iminoazúcares, si miramos los sustratos desde un lado u otro del plano formado por el anillo piranoide.



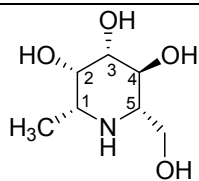
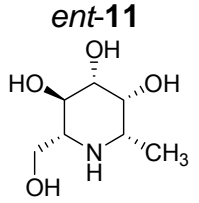
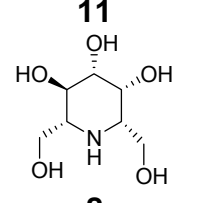
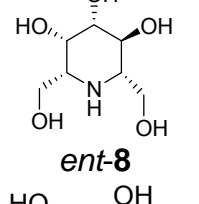
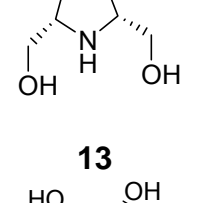
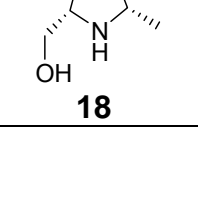

**Figura 2.17.** Estructura de los sustratos sobre los que actúan cada una de las enzimas empleadas en los estudios de inhibición.

Los ensayos de inhibición enzimática se llevaron a cabo tal y como están descritos en la parte experimental.

La  $IC_{50}$  es una medida de la efectividad de un compuesto como inhibidor de una función biológica o bioquímica, y se define como la concentración de sustancia (inhibidor) necesaria para inhibir un proceso biológico dado (o un

componente del proceso, como una enzima, célula, receptor celular o microorganismo) en un 50%.

**Tabla 2.2.** Valores de IC<sub>50</sub> (μM) de los iminoazúcares sintetizados frente a distintas enzimas glicosidasas.

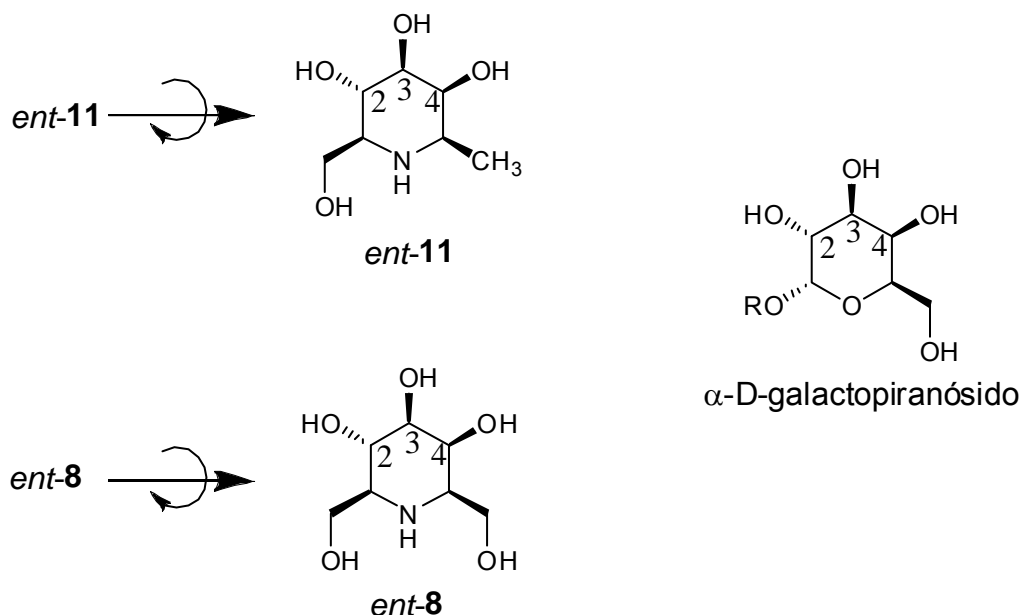
	α-L- Fucosidasa (Riñón de buey)	α-D- Glucosidasa (Levadura Panadera)	β-D- Galactosidasa ( <i>E. coli</i> )	α-D- Galactosidasa (Granos de café verde)	α-D- Manosidasa (Judías Jack)
	>1000	>1000	>1000	1,2	>1000
<p><b>ent-11</b></p> 	0,04	396,5	>1000	110,0	>1000
<p><b>11</b></p> 	13,8	45,0	887,0	74,0	>1000
<p><b>8</b></p> 	>1000	322,3	>1000	0,9	>1000
<p><b>ent-8</b></p> 	79,4	434,0	655,0	0,04	>1000
<p><b>13</b></p> 	4,5	>1000	>1000	80,0	>1000
<p><b>18</b></p> 					



En la Tabla 2.2 se muestran los valores de  $IC_{50}$  obtenidos para cada uno de los iminoazúcares evaluados frente a las cinco enzimas glicosidasas ensayadas, que representa la concentración de iminoazúcar necesaria para reducir la actividad de cada una de estas enzimas en un 50%.

Las principales conclusiones que se pueden obtener de estos ensayos son:

- Entre los compuestos que presentan un anillo de seis miembros, los compuestos *ent-11* y *ent-8* fueron los que menor  $IC_{50}$  presentaron con la  $\alpha$ -D-galactosidasa de granos de café verde. Esto parece indicar que la disposición de los hidroxilos en las posiciones 2, 3 y 4 es importante (figura 2.18). En el caso de los compuestos con anillo de cinco miembros, **13** es el que presentó mejor propiedad inhibitoria ( $0,04 \mu\text{M}$ ), como era de esperar.<sup>11a,90</sup>



**Figura 2.18.** Comparación de la configuración relativa de los hidroxilos en posiciones 2, 3 y 4 de los compuestos *ent-11* y *ent-8*, con los del  $\alpha$ -D-galactopiranosido.

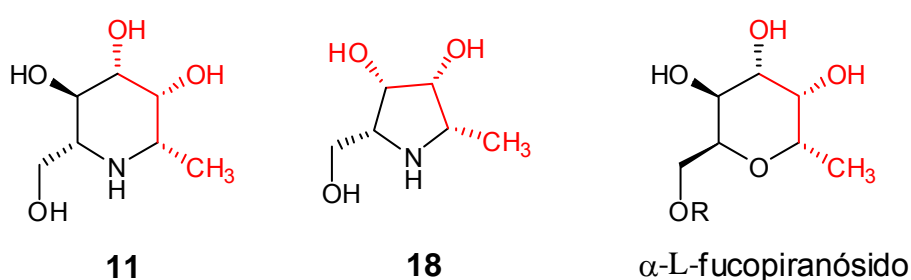
- Ninguno de los compuestos ensayados inhibió a la  $\beta$ -D-galactosidasa de *E. coli* ni a la  $\alpha$ -D-manosidasa de judías Jack.

- Para el caso de la  $\alpha$ -D-glucosidasa de levadura panadera fueron, por lo general, malos inhibidores, excepto el compuesto **8**, que presentó una actividad modesta ( $45,0 \mu\text{M}$ ).

<sup>11a</sup> Stutz, A. E. en *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **1999**.

<sup>90</sup> Wang, Y. -F.; takaoka, Y.; Wong, C. -H. *Angew. Chem.* **1994**, 33, 1242-1244.

- En el caso de la  $\alpha$ -L-fucosidasa, enzima de gran importancia, ya que el residuo de fucopiranosilo se encuentra presente en numerosos oligosacáridos que juegan un papel biológico relevante, como por ejemplo el sialil Lewis X (siLe<sup>x</sup>) implicado en procesos inflamatorios, los mejores fueron **11** y **18**. Ambos poseen un sistema de dos hidroxilos y el metilo en secuencia, con la configuración relativa igual a la presente en la fucosa (figura 2.19). El cambio del grupo metilo en el iminoazúcar **11** por un hidroximetilo en **8** redujo su afinidad en un factor de 300. Esto podría sugerir que en el complejo enzima-inhibidor hay una región hidrofóbica alrededor del grupo metilo del iminoazúcar.



**Figura 2.19.** Comparación de la configuración relativa de los hidroxilos de los compuestos **11** y **18**, con los de  $\alpha$ -L-fucosa.

### 2.2.2c Estudio estructura/actividad de los iminoazúcares ensayados como inhibidores empleando técnicas computacionales de acoplamiento molecular (docking)

Dentro del campo de la modelización molecular, la técnica de docking es un método empleado para predecir el modo de unión entre dos moléculas, pudiendo ser ligando-proteína o proteína-proteína, para formar un complejo estable.<sup>91</sup>

El docking molecular se usa frecuentemente para predecir el modo de unión ligando (molécula pequeña)-receptor (proteína), permitiendo así determinar entre una amplia variedad de ligandos cuál podría ser el que presentase mejor afinidad por su diana. Así, esta técnica juega un papel crucial

<sup>91</sup> Lengauer, T., Rarey, M. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, 6, 402-406.

en el diseño racional de fármacos, cuyo principal inconveniente es que la estructura 3D del receptor ha de estar resuelta.<sup>92</sup>

Hasta la fecha se han descrito sólo unas pocas estructuras de iminoazúcares unidos a distintas glicosidasas.<sup>93</sup> En nuestro grupo decidimos llevar a cabo los estudios de docking con la  $\alpha$ -D-galactosidasa, ya que la variabilidad de los valores de inhibición obtenidos para los diferentes iminoazúcares estudiados era mayor con esta enzima que para las otras glicosidasas ensayadas (tabla 2.2). La  $\alpha$ -D-galactosidasa de *Coffea arabica* (Q42656), cuya estructura 3D se obtuvo por homología de secuencia mediante estudios computacionales usando como modelo una glicosidasa hidrolasa de arroz (1uas, pdb), fue empleada como proteína para los experimentos de docking con los iminoazúcares como ligandos.

Elegimos el programa Autodock 3.0.4 para llevar a cabo nuestros estudios computacionales,<sup>94</sup> y se emplearon para su evaluación la energía de docking y la  $K_i$ .

Así, se realizaron experimentos de docking molecular usando las conformaciones de menor energía de los distintos iminoazúcares, del sustrato natural 3-O-( $\alpha$ -D-galactopiranosil)- $\alpha,\beta$ -D-galactopiranosido y del sustrato usado en los ensayos espectrofotométricos (*p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-galactopiranosido), (previamente optimizados empleando cálculos semiempíricos (PM3)), en el sitio de unión de la  $\alpha$ -galactosidasa (residuos catalíticos Asp 145 y Asp 200), con el fin de encontrar las conformaciones más favorables de esos iminoazúcares en el sitio de unión e intentar racionalizar la capacidad de inhibición observada en esas moléculas.

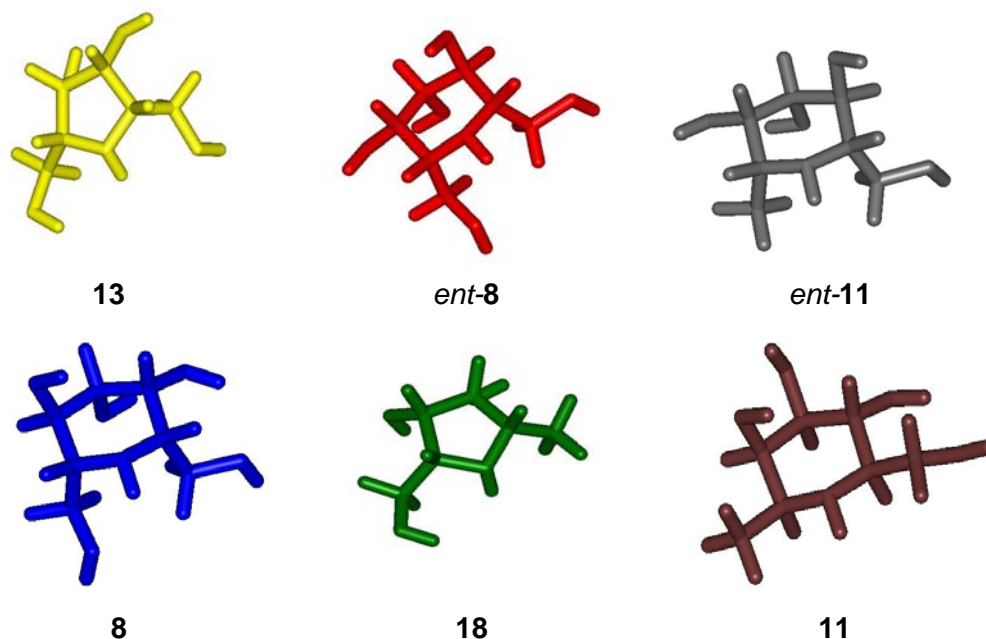
Las conformaciones de los iminoazúcares obtenidas tras su optimización mediante mecánica molecular (MM2) y cálculos semiempíricos PM3, aparecen representadas en la Figura 2.20.

---

<sup>92</sup> Kitchen, D., Decornez, H.; Furr, J. R., Bajorath, J. *Nature Reviews. Drug discovery* **2004**, 3, 935-949.

<sup>93</sup> (a) Kajimoto, T.; Liu, K. K.-C.; Pederson, R.; Zhong, Z.; Ichikawa, Y.; Porco, Jr., J. A.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 6187-6196. (b) Notenboom, V.; Williams, S. J.; Hoos, R.; Withers, S. G.; Rose, D. R. *Biochemistry* **2000**, 39, 11553-11563.

<sup>94</sup> Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. *J. J. Comp. Chem.* **1998**, 19, 1639-1662.



**Figura 2.20.** Conformaciones de los iminoazúcares optimizadas mediante mecánica molecular (MM2) y cálculos semiempíricos PM3.

**Tabla 2.3.** Valores de  $IC_{50}$  y datos obtenidos mediante docking de los inhibidores ensayados con  $\alpha$ -D-galactosidasa de *Coffea arabica*.

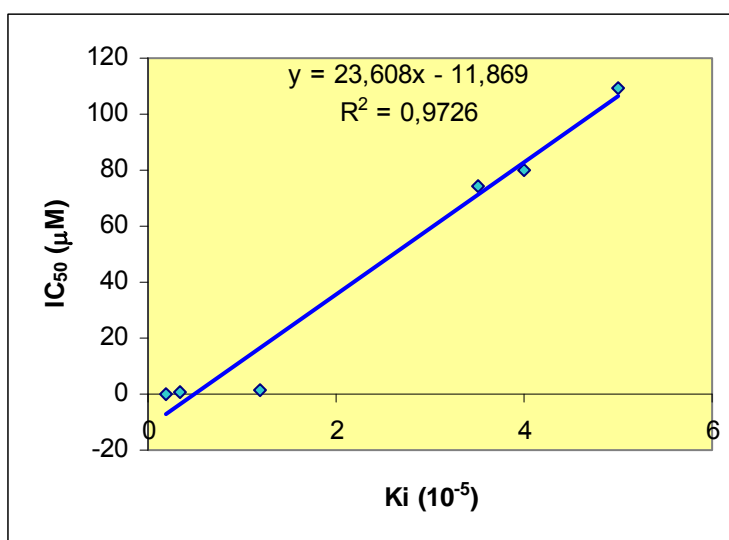
Comp.	$IC_{50}$ ( $\mu$ M) <i>in vitro</i>	$K_i$ (teórico) $10^{-5}$	Histograma <sup>[a]</sup>	Energía Docking (kcal/mol)	Energía Unión (kcal/mol)	Energía Intermol. (kcal/mol)	Energía Interna ligando (kcal/mol)
13	0,04	0,2	25 (5) 13 (14)	-8,40	-7,60	-8,22	-0,18
ent-8	0,9	0,35	6 (14) 20 (15)	-8,26	-7,49	-8,11	-0,15
ent-11	1,2	1,2	22 (1) -	-6,84	-6,36	-6,67	-0,17
8	74	3,5	49 (1) -	-6,93	-6,17	-6,79	-0,13
18	80	4,0	44 (1) 37 (5)	-6,31	-5,63	-5,94	-0,08
11	110	5,0	31 (2) 33 (3)	-6,39	-5,94	-6,25	-0,14

<sup>[a]</sup>Para cada compuesto se representa el número de run y entre paréntesis el número de conformaciones de mínima energía obtenidas (primera fila) y el número de conformaciones de mayor población (segunda fila).

Los resultados de docking presentados en la tabla 2.3 corresponden al mejor valor de energía para cada una de las estructuras de los inhibidores unidos a la enzima.

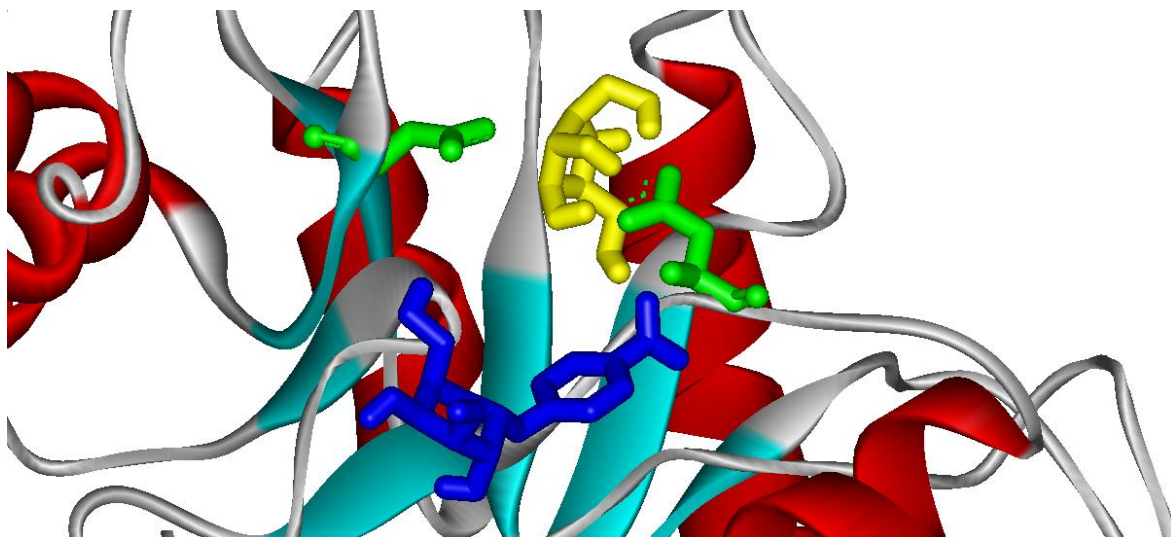
Hay una buena correlación entre los valores experimentales de inhibición y las energías de docking estimadas para todos los ligandos, ya que una energía de docking más baja indica un estado más favorable energéticamente y por tanto una afinidad más fuerte por el complejo de unión.

En la figura 2.21 se observa que hay también una buena correlación entre los valores de  $IC_{50}$  experimentales y los computacionales ( $K_i$  teóricas), obteniéndose una regresión lineal de 0.97.

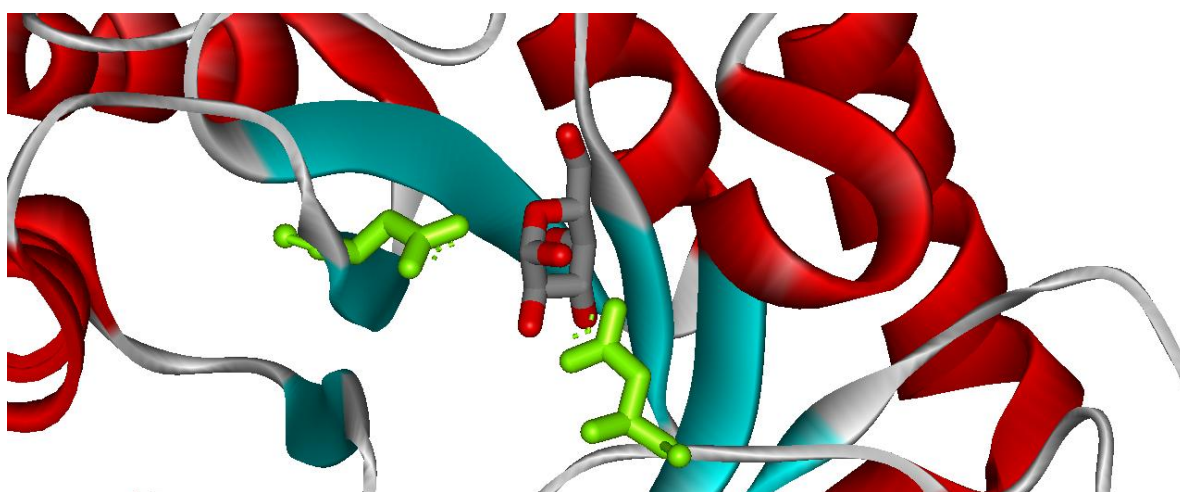


**Figura 2.21.** Valores de  $IC_{50}$  obtenidos experimentalmente frente a los valores de  $K_i$  teóricos obtenidos mediante los métodos computacionales.

En la figura 2.22 se observa el sitio ocupado tanto por el sustrato usado en los ensayos de inhibición enzimática (*p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-galactopiranosido, color azul marino), como por el mejor inhibidor (**13**, color amarillo). Si lo comparamos con la figura 2.23, que presenta cómo se une la galactosa a la estructura cristalográfica de la  $\alpha$ -galactosidasa de arroz (familia GH27, residuos catalíticos Asp 185 y Asp 139), se observa que el inhibidor **13** se ancla en la misma zona que el sustrato natural (galactosa), mientras que el *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-galactopiranosido está desplazado hacia residuos que estabilizan el anillo aromático. Todo ello está en concordancia con los buenos resultados de inhibición del iminoazúcar **13**.



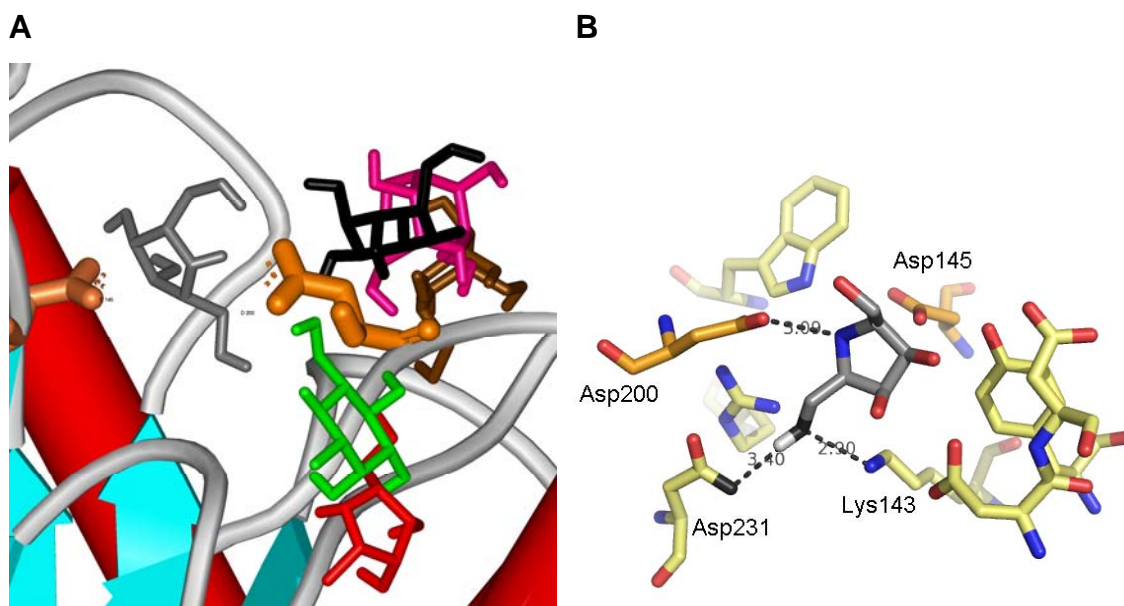
**Figura 2.22.** Sitio ocupado por el sustrato usado en los ensayos de inhibición enzimática (*p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-galactopiranosido, color azul marino), y por el mejor inhibidor (**13**, color amarillo) en el centro activo de la  $\alpha$ -D-galactosidasa de *Coffea arabica* (en verde los residuos catalíticos Asp 185 y Asp 139).



**Figura 2.23.** Modo de unión de la galactosa a la estructura cristalográfica de la  $\alpha$ -galactosidasa de arroz (familia GH27, residuos catalíticos Asp 185 y Asp 139).

Además, en la figura 2.24 se presenta cómo se disponen en el centro activo los inhibidores usados en los experimentos de docking con la  $\alpha$ -galactosidasa, observándose que el mejor inhibidor (**13**) se une a la enzima por el grupo 1-hidroximetilo al Asp231 y Lys143 (cada línea de puntos indica un

enlace de hidrógeno), y el N del anillo al Asp200 a 3 Å de distancia (figura 2.24, B), mientras que el resto de inhibidores se encuentran más distanciados de estos residuos (figura 2.24, A). Así, se encuentran representados, de mayor a menor inhibición, por el color: **13** (gris), *ent*-**8** (rosa), *ent*-**11** (negro), **8** (marrón), **18** (rojo), **11** (verde). Los residuos catalíticos Asp145 y Asp200 están representados en naranja en esta figura.



**Figura 2.24.** A) Estructuras de docking de los inhibidores ensayados en el sitio de unión de la  $\alpha$ -D-galactosidasa de *Coffea arabica*. B) Modo de unión de **13** en el centro activo de la enzima. Cada línea punteada indica un contacto hidrofílico-hidrofílico.





## **CAPÍTULO 3**

### **ESTUDIO DE LA REACCIÓN ALDÓLICA CATALIZADA POR PROLINA HETEROGENEIZADA SOBRE UN MATERIAL MESOPOROSO**



### 3.1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

#### 3.1.1. La reacción aldólica catalizada por prolina inmovilizada

Como se ha comentado en la Introducción de la presente Tesis Doctoral, la inmovilización del catalizador de una determinada reacción es una de las metodologías cada vez más usada a nivel industrial, ya que simplifica notablemente la purificación de los productos finales.

A pesar de que el relativamente bajo coste de la mayoría de aminoácidos no parece justificar el procedimiento de inmovilización, hay que tener en cuenta que la inmovilización ofrece otras muchas ventajas, como son la posibilidad del empleo de disolventes distintos a los comúnmente usados con el catalizador homogéneo, facilidad de separación de los productos y el catalizador, reciclaje del catalizador,...etc.

La importancia que ha adquirido la prolina en el campo de la catálisis orgánica estereoselectiva ha llevado al desarrollo de diversas versiones inmovilizadas de este catalizador, tanto solubles como insolubles.

El primer ejemplo que aparece en la bibliografía sobre una reacción aldólica catalizada por prolina inmovilizada fue descrito por Barbas III. En este caso la prolina se encontraba adsorbida sobre una columna de gel de sílice por la que se hacían pasar los reactivos, y tras 48 horas de incubación se lavaba para recuperar el producto, pero la enantioselectividad y los rendimientos obtenidos fueron muy pobres.<sup>2b</sup>

Una interesante técnica de inmovilización no covalente fue explotada por Zhang y colaboradores, utilizando el anillo aromático presente en la 4-fenoxiprolina para incluirlo en la cavidad de una  $\beta$ -ciclodextrina.<sup>95</sup> Empleando la reacción aldólica entre acetona y 2-nitrobenzaldehído como reacción modelo obtuvieron el producto con un 90% de rendimiento y 83% ee tras 16 h de

---

<sup>2b</sup> Sakthivel, K.; Notz, W.; Bui, T.; Barbas III, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5260-5267.

<sup>95</sup> Shen, Z.; Liu, Y.; Jiao, C.; Ma, J.; Li, M.; Zhang, Y. *Chirality* **2005**, *17*, 556-558.

reacción a temperatura ambiente. El catalizador se pudo recuperar por filtración y ser empleado hasta tres veces con ligeras pérdidas de rendimiento (90% 1ª vez; 79% 4ª vez) y sin cambios en el ee.

Recientemente han sido descritos muchos otros ejemplos, como el uso de prolina soportada sobre un gel de sílice que contiene adsorbido un líquido iónico,<sup>96</sup> hidroxiprolina anclada al monometiléter de polietilenglicol,<sup>97</sup> o hidroxiprolina anclada a poliestireno,<sup>23,98</sup> lo cual permitió, en este último caso, llevar a cabo las reacciones en agua.

### **3.1.2 Materiales mesoporosos funcionalizados**

Unos análogos de los derivados de sílice que no han sido muy explotados como soportes de catalizadores orgánicos, y que ya han sido introducidos en el capítulo 1 de la presente Tesis, son los materiales porosos.

Una manera importante de modificar las propiedades físicas y químicas de los materiales mesoporosos es la incorporación de componentes orgánicos, tanto en la superficie de los canales, como parte integral de las paredes o atrapadas en los canales.<sup>99</sup> Además, los componentes inorgánicos pueden proporcionar estabilidad térmica, mecánica y estructural.

Para la obtención de estos materiales híbridos existen dos métodos: el anclaje y la co-condensación. El primero hace referencia a la modificación post-síntesis del soporte mesoporoso previamente preparado, a través de la reacción de los grupos silanoles superficiales. Por el contrario, en la co-condensación la inserción del compuesto orgánico y la síntesis del material se realizan simultáneamente.

El método más empleado para la modificación de la superficie con grupos orgánicos suele ser la sililación, debido a la gran cantidad de grupos silanol (Si-

---

<sup>23</sup> (a) Font, D.; Sayalero, S.; Bastero, A.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 337-340. (b) Font, D.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4653-4655.

<sup>96</sup> Gruttadauria, M.; RIELA, S.; Aprile, C.; Lo Meo, P.; D'Anna, F.; Noto, R. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 82-92.

<sup>97</sup> Benaglia, M.; Cinquini, M.; Cozzi, F.; Puglisi, A.; Celentano, M. *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 533-542.

<sup>98</sup> (a) Liu, Y. X.; Sun, Y. N.; tan, H. H.; Tao, J. C. *Catal. Lett.* **2008**, *120*, 281. (b) Giacalone, F.; Gruttadauria, M.; Marculescu, A. M.; Noto, R. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 255-259.

<sup>99</sup> Stein, A.; Melde, B. J.; Schrodin, R. C. *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 1403-1419.

OH) superficiales presentes en los sólidos mesoporosos, manteniéndose generalmente la estructura mesoporosa original del soporte tras el anclaje.

En cuanto a sus aplicaciones, la elevada capacidad adsorptiva de los mismos hace que puedan ser empleados con fines medioambientales, como adsorbentes de disolventes orgánicos, eliminación de cationes de metales pesados o adsorción de compuestos orgánicos de aguas residuales. También han sido utilizados para la obtención de láseres, filtros de luz, sensores, células solares, fotocatalizadores, pigmentos, etc.<sup>99</sup>

Una de las principales ventajas que presentan este tipo de materiales a la hora de ser empleados como soportes de catalizadores orgánicos es precisamente su estructura porosa, puesto que presentan una elevada área superficial, lo cual posibilita la incorporación de un mayor número de moles de catalizador por unidad de superficie que otros tipos de soportes. Hay que tener en cuenta también que el tamaño de los mesoporos permite la inclusión de sustratos de mayor tamaño en el interior de los mismos, pudiéndose llevar a cabo reacciones con ciertas moléculas para las cuales los materiales microporosos como las zeolitas presentan un tamaño de poro demasiado pequeño. Además este tipo de catalizadores abren la posibilidad al uso de disolventes orgánicos diferentes a los empleados normalmente para la catálisis en forma homogénea, sin olvidarnos tampoco de las ventajas referentes a la recuperación y el reciclaje de los mismos. Como catalizadores, materiales mesoporosos funcionalizados han sido usados en reacciones de catálisis ácida,<sup>100</sup> básica,<sup>101</sup> oxidaciones,<sup>102</sup> reducciones,<sup>103</sup> catálisis enantioselectiva,<sup>104</sup>

<sup>99</sup> Stein, A.; Melde, B. J.; Schroden, R. C. *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 1403-1419.

<sup>100</sup> (a) Lim, M. H.; Blandford, A.; Stein, A. *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 467-470. (b) Lebeau, B.; Fowler, C. E.; Hall, S. R.; Mann, S., *J. Mater. Chem.* **1999**, *9*, 2279-2281. (c) Bossaert, W. D.; De Vos, D. E.; Van Rhijn, W. M.; Bullen, J.; Grobet, P. J.; Jacobs, P. A. *J. Catal.* **1999**, *182*, 156-164.

<sup>101</sup> (a) Subba Rao, Y. V.; De Vos, D. E.; Jacobs, P. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2661-2663. (b) Macquarrie, D. J. *Green Chem.* **1999**, 195-198. (c) Macquarrie, D. J.; Jackson D. B. *Chem. Commun.* **1997**, 1781-1782.

<sup>102</sup> (a) Liu, C. J.; Li, S. G.; Pang, W. Q.; Che, C. M. *Chem. Commun.* **1997**, 65-66. (c) Knops-Gerrits, P. -P.; Verberckmoes, A.; Schoonhydt, R.; Ichikawa, M.; Jacobs, P. A. *Micropor. Mesopor. Mater.* **1998**, *21*, 475-486.

<sup>103</sup> (a) Anwander, R.; Palm, C.; Gerstberger, G.; Groeger, O.; Engelhardt, G. *Chem. Commun.* **1998**, 1811-1812. (b) Shyu, S. -G.; Cheng, S. -W.; Tzou, D. -L. *Chem. Commun.* **1999**, 2337-2338.

<sup>104</sup> (a) Bellocq, N.; Abramson, S.; Laspéras, M.; Brunel, D.; Moreau, P.; *Tetrahedron: Asymmetry.* **1999**, *10*, 3229-3241. (b) Laspéras, M.; Bellocq, N.; Brunel, D.; Moreau, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 3053-3064. (c) Johnson, B. F. G.; Raynor, S. A.; Shepard, D.

polimerización estereoespecífica,<sup>105</sup> además de otras reacciones de química fina.<sup>106</sup>

### **3.1.3 Objetivos**

Dadas las ventajas que ofrece la inmovilización de catalizadores a la hora de la purificación y recuperación de los productos finales, nos planteamos usar esta metodología aplicada a la reacción aldólica catalizada por prolina, anclando la misma a un material mesoporoso. Este objetivo general puede subdividirse en los tres siguientes:

- Síntesis de un catalizador híbrido orgánico/inorgánico compuesto por: material mesoporoso/prolina.
- Estudio de una reacción aldólica modelo en presencia del nuevo catalizador y estudio del efecto del disolvente sobre la misma.
- Aplicación de esta metodología a la síntesis de los aldoles precursores de iminoazúcares.

---

S.; Mashmeyer, T.; Thomas, J. M.; Sankar, G.; Bromley, S.; Oldroy, R.; Gladden, L.; Mantle, M. D. *Chem. Commun.* **1999**, 1167-1168.

<sup>105</sup> Tudor, J.; O'Hare, D. *Chem. Commun.* **1997**, 603-604.

<sup>106</sup> Cauvel, A.; Renard, G.; Brunel, D. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 749-751.

## 3.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.2.1 Síntesis del catalizador

#### *Elección del material*

Previamente en nuestro grupo, con objeto de decidir cuál era el material más adecuado para la reacción aldólica, se habían probado algunos materiales funcionalizados con prolina (MCM-41, gel de sílice) o su amida *tert*-butílica (ITQ-2, ITQ-6, gel de sílice) proporcionados por el Dr. Félix Sánchez. Todos estos materiales son químicamente idénticos, ya que están compuestos únicamente por Si, O e H, pero difieren en sus topologías.

Así, la MCM-41 se caracteriza por presentar un sistema de canales unidireccionales de tamaño uniforme entre 15 y 100 Å empaquetados de forma hexagonal con un área superficial de 700 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>.

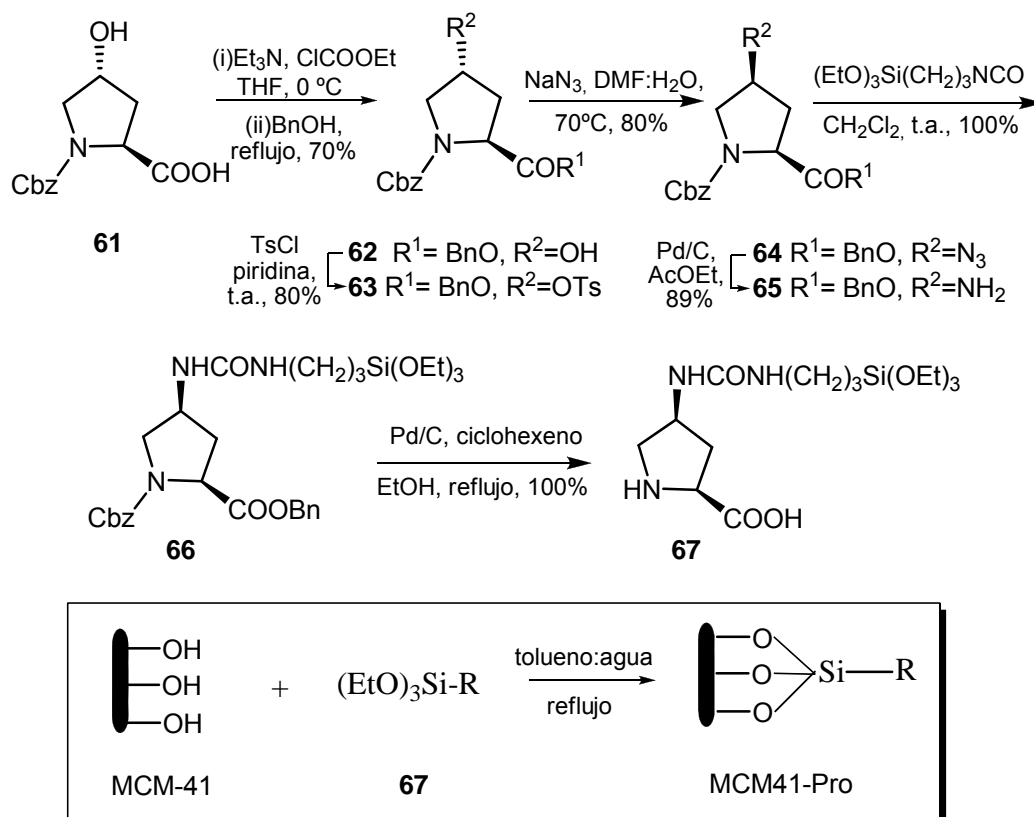
Para estudiar su influencia en el rendimiento y diastereoselectividad en la reacción aldólica, todos estos materiales fueron probados como catalizadores en la reacción entre hidroxiacetona (**21**) y el isobutiraldehído y benzaldehído, resultando la MCM41-Pro el material que mejores resultados proporcionó.<sup>107</sup> Por tanto, elegimos este catalizador para llevar a cabo nuestros estudios.

El catalizador heterogéneo MCM41-Pro se preparó siguiendo el procedimiento puesto a punto anteriormente en nuestro laboratorio y que transcurre a través del acoplamiento directo de los silanoles de la MCM-41 con el derivado sililado **67** en tolueno:agua 1000:1 a reflujo (esquema 3.1).

Para preparar el compuesto **67** se siguió la ruta descrita en el esquema 3.1 a partir del derivado de hidroxiprolina comercial **61**. Para ello se protegió el grupo carboxilo formando un éster bencílico **62**, posterior formación del tosilato **63** del alcohol libre permitió introducir el grupo azido dando lugar a **64**, cuya reducción en condiciones suaves permitió obtener la amina **65** sin afectar a los grupos protectores bencilo y benciloxycarbonilo. A continuación, se hizo reaccionar **65** con el trietoxisililisocianato formándose el derivado **66**. Para

<sup>107</sup> Calderón, F.; Fernández, R.; Sánchez, F.; Fernández-Mayoralas, A. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1395-1403.

finalizar se desprotegieron simultáneamente el grupo carboxilo y la amina del anillo de pirrolidina mediante hidrogenación dando lugar al compuesto **67**.



**Esquema 3.1.** Síntesis del catalizador heterogéneo MCM41-Pro.

El catalizador MCM41-Pro se caracterizó mediante <sup>13</sup>C-RMN (sólido) y espectroscopía de IR.<sup>108</sup> Para conocer los moles de prolina anclados por gramo de material se calculó teniendo en cuenta el tanto por ciento de nitrógeno determinado por análisis elemental.<sup>109</sup>

<sup>108</sup> **MCM41-Pro:** <sup>13</sup>C RMN (sólido) CPMAS (100.63 MHz, 298 K): δ 173.8 (COOH), 159.2 (NHCONH), 60.6 (C<sub>2</sub> prolina), 50.0 (C<sub>4</sub> y C<sub>5</sub> prolina), 42.7 (CH<sub>2</sub>-NHCONH), 34.4 (C<sub>3</sub> prolina), 22.7 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>Si), 8.9 (CH<sub>2</sub>-Si); IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3428.9 (ν<sub>N-H</sub>), 1636.8 (ν<sub>NHCONH</sub>), 1562.2 (ν<sub>C=O</sub>), 1079.0 (ν<sub>C-O</sub>).

<sup>109</sup> Carga del catalizador 0.7 mmol/g. Anal. Encontrado: C 13.87, H 2.53, N 2.95%.



### 3.2.2 Reacciones aldólicas con MCM41- Pro como catalizador

#### *Efecto del disolvente*

En los estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación,<sup>107</sup> a los que ya se ha hecho alusión en el presente capítulo, además de mostrar que la MCM-41 era el soporte más apropiado para el anclaje de la prolina, quedó patente que este catalizador híbrido era capaz de catalizar la reacción aldólica no sólo en los disolventes orgánicos más polares, como DMSO o DMF, como era el caso de usar prolina, sino que la reacción también podía ser llevada a cabo empleando tolueno como disolvente, obteniéndose los productos de la reacción aldólica con estereoselectividades que en algunos casos eran complementarias a las obtenidas mediante la catálisis homogénea.

Debido al potencial efecto del disolvente en el progreso de la reacción, tal y como mostraron estos resultados previos, se decidió llevar a cabo la reacción en diferentes tipos de disolventes y evaluar su efecto en el rendimiento y la estereoselectividad. Para ello se utilizó el *p*-nitrobenzaldehído (**68**) como sustrato, ya que sus productos pueden detectarse fácilmente por HPLC.

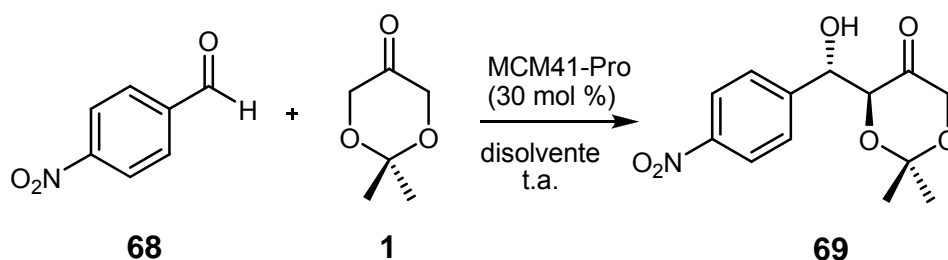
En primer lugar se estudió la reacción entre **68** con dioxanona (**1**), que hemos elegido como reacción modelo, en presencia de MCM41-Pro en diferentes disolventes de diversa polaridad e hidrofobicidad. Los resultados se recogen en la tabla 3.1, en la que se indica el disolvente y su Log P, que es un indicativo de la hidrofobicidad del disolvente:<sup>110</sup> a mayor Log P mayor es la hidrofobicidad del disolvente.

---

<sup>107</sup> Calderón, F.; Fernández, R.; Sánchez, F.; Fernández-Mayoralas, A. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1395-1403.

<sup>110</sup> LogP es el coeficiente de partición del disolvente en octanol/agua.

**Tabla 3.1.** Efecto del disolvente en la reacción aldólica entre el *p*-nitrobenzaldehído y la cetona **1**.



Entrada	Disolvente (log <i>P</i> )	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	Formamida (-1.65)	13	96	2:1	67
2	Formamida (-1.65) <sup>c</sup>	13	93	2:1	65
3	DMF (-1.00)	61	80	5:1	82
4	DMF (-1.00) <sup>d</sup>	48	82	2:1	63
5	MeOH (-0.76)	61	46	3:1	76
6	MeCN (-0.33)	96	20	2:1	63
7	THF (0.49)	96	23	2:1	50
8	<sup>t</sup> BuOMe (0.94)	96	<5	n.d.	n.d.
9	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (1.25)	96	20	2:1	65
10	Tolueno (2.50)	96	14	2:1	64

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC ; n.d. = no determinado. <sup>b</sup> Determinado por HPLC. <sup>c</sup> MCM41-Pro reciclada se usó como catalizador. <sup>d</sup> (S)-Prolina se usó como catalizador en forma homogénea.

Para fines comparativos se ha incluido también el resultado empleando (S)-prolina en DMF (entrada 4). Se puede observar que la eficiencia catalítica de la MCM41-Pro disminuye a medida que aumenta la hidrofobicidad del disolvente. Así, la reacción aldólica procede con altas conversiones en formamida y DMF (96 y 80%) y con conversiones moderadas en MeOH (46%). Por el contrario, la reacción en tolueno dio lugar al producto **69** con una baja conversión después de 96 h, y en *tert*-butilmetiléter únicamente se observaron trazas del mismo. En la mayoría de los disolventes la diastereoselectividad fue baja, y la enantioselectividad moderada, excepto para la reacción llevada a cabo en DMF, en la que se obtuvo el isómero *anti* con buena diastereoselectividad y alto ee. Incluso, la estereoselectividad obtenida al emplear DMF fue mejor que la obtenida con (S)-prolina en condiciones homogéneas (entrada 3 versus 4).

Tras una simple filtración y lavado,<sup>111</sup> el catalizador pudo ser reutilizado en una nueva reacción que tuvo lugar sin diferencias significativas con respecto a conversión y estereoselectividad (entrada 2).

### **Efecto del agua**

Es conocido que la adición de pequeñas cantidades de agua es en ocasiones beneficioso para las reacciones aldólicas catalizadas por prolina.<sup>5c,112,113</sup> Si tenemos en cuenta el mecanismo propuesto, que implica la formación de una enamina intermedia, y la consecuente formación de una molécula de agua,<sup>45,46c</sup> una vez que el carbonilo aceptor reacciona con la enamina con la consiguiente formación del enlace C-C, el intermedio iminio resultante es atacado por una molécula de agua, dando lugar al producto y regenerando el catalizador.

En las condiciones heterogéneas en las que trabajamos cuando se usa MCM41-Pro, el agua presente en el medio de reacción se repartirá entre el disolvente orgánico y el soporte sólido. El reparto entre uno y otro será dependiente de la hidrofobicidad del disolvente usado. En los disolventes más hidrofóbicos, las moléculas de agua tenderán a quedar unidas a los silanoles del soporte y, por lo tanto, la pérdida de agua en el disolvente disminuirá la regeneración de la prolina. Este mecanismo podría explicar la pobre eficacia catalítica observada cuando las reacciones fueron llevadas a cabo en disolventes hidrofóbicos.

Para comprobar esta hipótesis se examinó el efecto de la adición de agua a la reacción de **68** con la cetona **1** en dos disolventes de distinta hidrofobicidad, MeCN y tolueno, en los cuales las reacciones habían tenido lugar con bajas conversiones (tabla 3.2).

---

<sup>5c</sup> Ibrahim, I.; Zou, W.; Xu, Y.; Córdova, A. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 211-222.

<sup>45</sup> Clemente, F. R.; Houk, K. N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5766-5768.

<sup>46c</sup> Allemann, C.; Gordillo, R.; Clemente, F. R.; Cheong, P. H. -Y.; Houk, K. N. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 558-569.

<sup>111</sup> El catalizador se filtró y se lavó sucesivamente con metanol, acetato de etilo, diclorometano, hexano y éter dietílico (dos veces con cada uno).

<sup>112</sup> Tanaka, F.; Thayumanavan, R.; Mase, N.; Barbas, C. F., III, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 325-328.

<sup>113</sup> (a) Ward, D. E.; Jheengut, V. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 8347-8350. (b) Nyberg, A. I.; Usano, A.; Pihko, P. M. *Synlett*, **2004**, 1891-1896.

**Tabla 3.2.** Efecto de la adición de agua sobre la reacción aldólica catalizada por MCM41-Pro entre **68** y **1**.

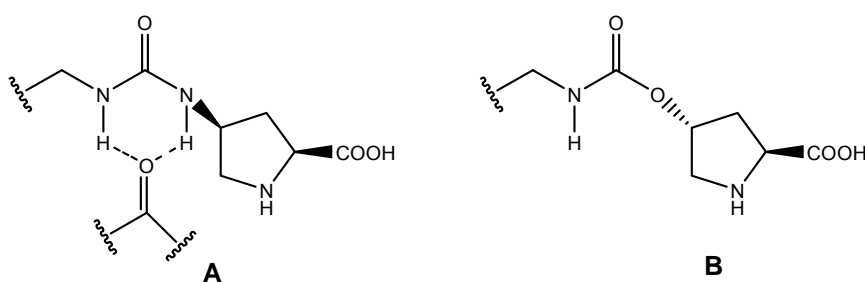
Entrada	Disolvente	H <sub>2</sub> O (equiv)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	MeCN	0	20	2:1	63
2	MeCN	2	20	3:1	73
3	MeCN	5	21	3:1	62
4	MeCN	10	22	3:1	66
5	Tolueno	0	14	2:1	64
6	Tolueno	2	33	6:1	65
7	Tolueno	5	47	10:1	78
8	Tolueno	10	< 5	n.d.	n.d.
9	Tolueno	20	< 5	n.d.	n.d.

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC ; n.d. = no determinado. <sup>b</sup> Determinado por HPLC.

Mientras que en el disolvente hidrofílico MeCN la adición de pequeñas cantidades de agua no afectaron al rendimiento de la reacción (entradas 1-4), sin embargo, en un disolvente hidrofóbico como es el tolueno, cuando se añadieron entre 2-5 equivalentes de agua hubo un apreciable incremento de la conversión. Además, las reacciones en tolueno mostraron un incremento progresivo en la estereoselectividad conforme la cantidad de agua añadida subía hasta 5 equivalentes (entradas 5-7), llegando a una relación de diastereoisómeros de 10:1. Sin embargo, cuando se adicionaron 10 y 20 equivalentes de agua a la reacción en tolueno, el rendimiento caía drásticamente y sólo se obtuvieron trazas de aldol (entradas 8 y 9). Estos resultados podrían racionalizarse asumiendo que las moléculas de agua que se añaden (hasta 5 equivalentes), permanecen unidas alrededor de la interfase sólido-disolución, muy cerca del centro catalítico, favoreciendo el ciclo catalítico (aumento de la conversión) y participando en la estructura del estado de transición (aumento de la estereoselectividad). Sin embargo, al añadir un exceso de agua (10 y 20 equivalentes), la formación de un sistema bifásico podría ser la responsable de la drástica pérdida de reactividad.

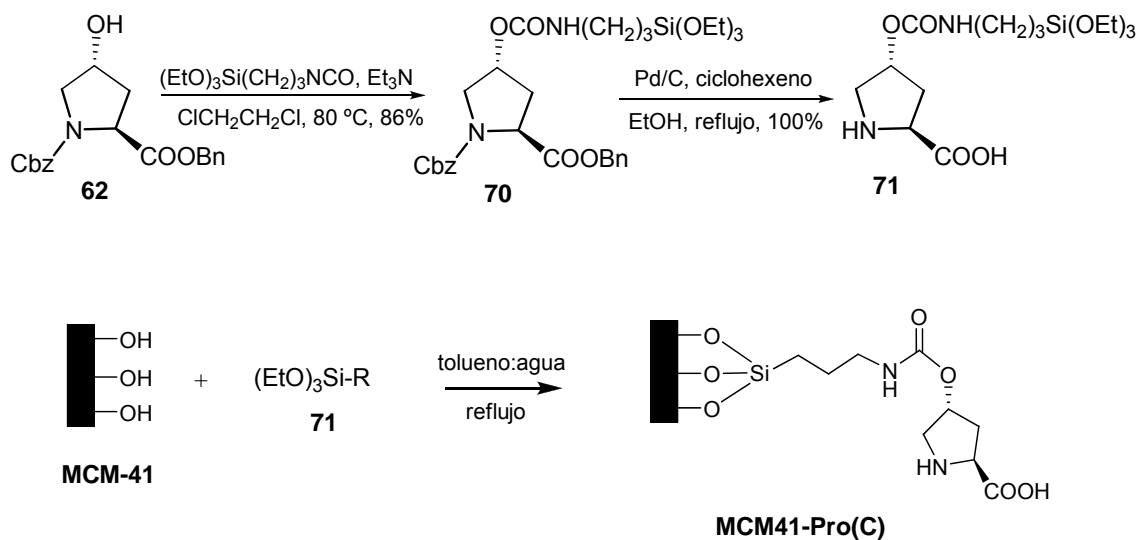
### Efecto del espaciador

La naturaleza del espaciador empleado para el anclaje de la prolina al material mesoporoso podría también estar influyendo en el progreso de las reacciones. Podría darse el caso de que la funcionalidad urea presente en la MCM41-Pro interaccionase con el grupo carbonilo de los sustratos mediante la formación de enlaces de hidrógeno (figura 3.1, A), de manera dependiente del disolvente, lo cual afectase tanto a la velocidad como al rendimiento de la reacción. Para comprobar esta hipótesis, sintetizamos un nuevo catalizador MCM41-Pro(C), en el cual reemplazamos el grupo urea por un grupo carbamato (figura 3.1, B).



**Figura 3.1.** **A:** Interacción mediante enlaces de hidrógeno de la urea presente en la MCM41-Pro con el grupo carbonilo de los sustratos. **B:** Fragmento del nuevo catalizador MCM41-Pro(C), en el que se ha reemplazado la funcionalidad urea por un grupo carbamato.

La síntesis del nuevo catalizador se llevó a cabo en pocas etapas partiendo de la hidroxil-(S)-prolina protegida **62** como se describe en el esquema 3.2:



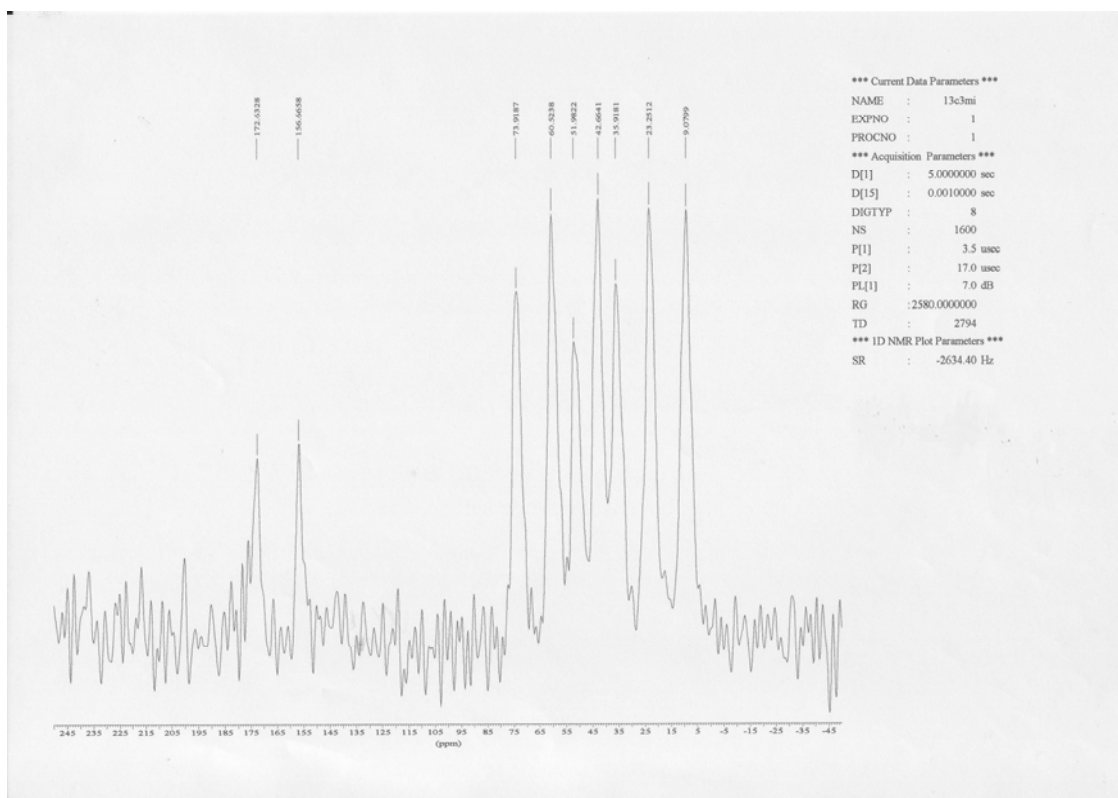
**Esquema 3.2.** Síntesis del catalizador heterogéneo MCM41-Pro(C).

Para ello, se hizo reaccionar **62** con trietoxisililisocianato en 1,2-dicloroetano a 80 °C, formándose el derivado **70**. Para finalizar se desprotegeron simultáneamente el grupo carboxilo y la amina del anillo de pirrolidina mediante hidrogenación dando lugar al compuesto **71**, igual que en la síntesis de **67** descrita anteriormente (esquema 3.1). El anclaje entre **71** y MCM-41 se llevó a cabo igualmente por calefacción en tolueno:agua.

El catalizador con el grupo carbamato, MCM41-Pro(C) se caracterizó mediante  $^{13}\text{C}$ -RMN (sólido) y espectroscopía de IR.

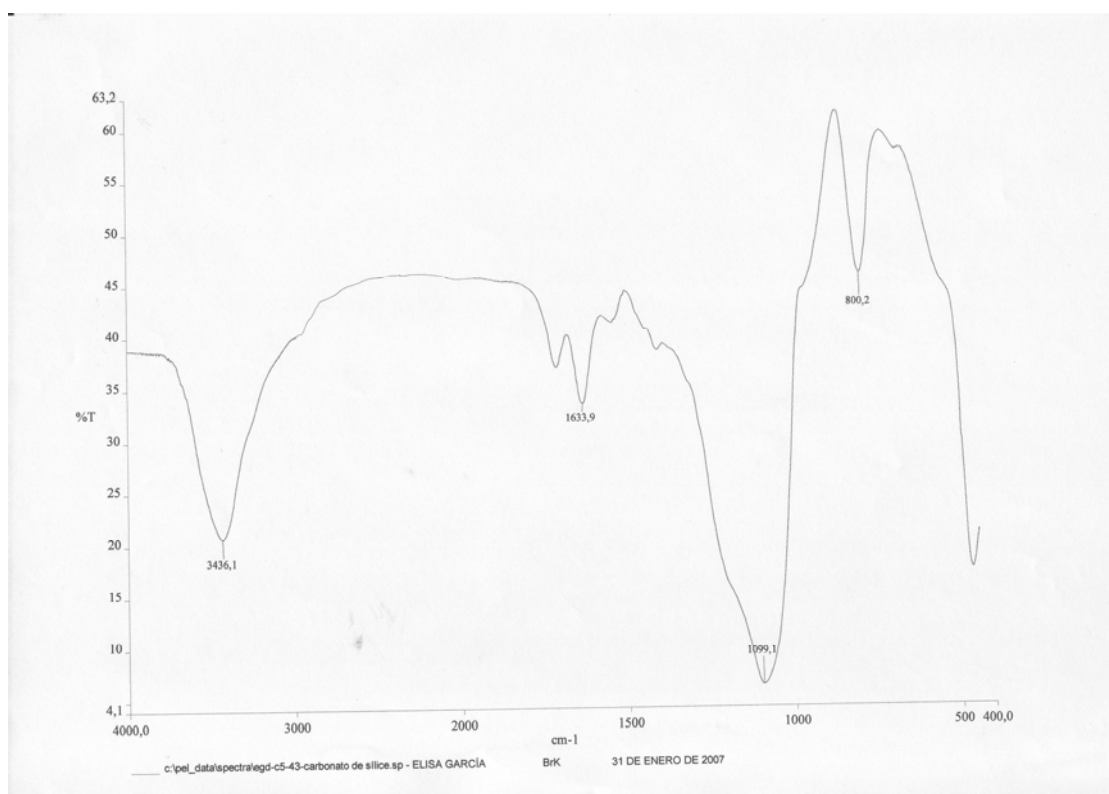
En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (sólido) pueden distinguirse todas las señales correspondientes al anillo de prolina, además de las señales pertenecientes al espaciador empleado para el anclaje, exceptuando las de los tres grupos etoxi- que estaban presentes en **71**, lo cual es indicativo de que el anclaje al material mesoporoso ha tenido lugar.

**MCM41-Pro(C):**  $^{13}\text{C}$  RMN (sólido) CPMAS (100.63 MHz, 298 K):  $\delta$  172.6 (COOH), 156.7 (NHCOO), 73.9 (C-4 prolina), 60.5 (C-2 prolina), 51.9 (C-5 prolina), 42.7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-NHCOO}$ ), 35.9 (C-3 prolina), 23.2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}_2\text{Si}$ ), 9.1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Si}$ ).



En el espectro de IR pueden observarse las bandas de vibración características de tensión y deformación de los grupos funcionales presentes en la molécula.

**MCM41-Pro(C):** IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3436.1 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ), 1633.9 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ,  $\delta_{\text{NHCONH}}$ ), 1099.1 ( $\nu_{\text{C-O}}$ ,  $\nu_{\text{C-N}}$ ), 800.2 ( $\nu_{\text{Si-C}}$ ,  $\delta_{\text{COOH}}$ ).

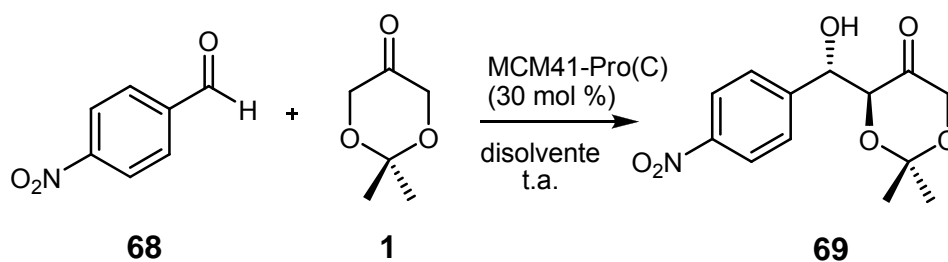


Los moles de prolina anclados por gramo de material se calcularon, al igual que en el caso de la MCM41-Pro, en base al tanto por ciento de nitrógeno determinado por análisis elemental.<sup>114</sup>

Una vez sintetizado el nuevo catalizador comprobamos si el cambio del espaciador ejercía algún efecto en la reacción entre el *p*-nitrobenzaldehído y la cetona **1**.

<sup>114</sup> Carga del catalizador 0.919 mmol/g. Anal. Encontrado: C 12.93, H 2.18, N 2.57 %.

**Tabla 3.3** Efecto del espaciador en la reacción aldólica entre el *p*-nitrobenzaldehído y la cetona **1**.



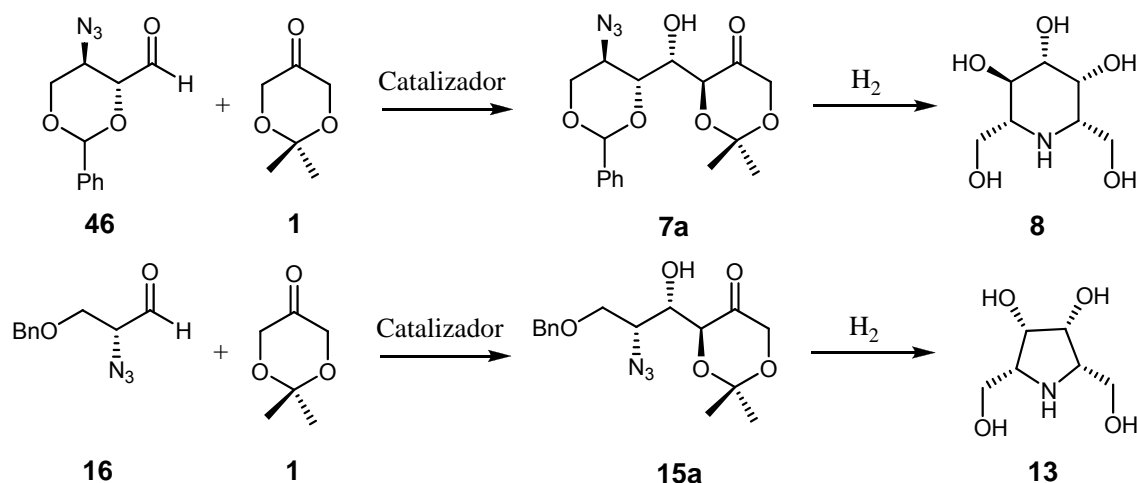
Disolvente	Tiempo (h)	Conv. (%) <sup>a</sup>	<i>anti/sin</i> <sup>a</sup>	ee (%) <sup>b</sup>
Formamida	48	88	2:1	46
DMF	84	67	2:1	40
Tolueno <sup>c</sup>	84	79	3:1	34

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup> Determinado por HPLC. <sup>c</sup> Reacción llevada a cabo con 5 equivalentes de agua.

Las reacciones se llevaron a cabo en tolueno con 5 equivalentes de agua, así como en formamida y DMF (tabla 3.3). Para el caso de la formamida, se han necesitado tiempos de reacción más largos para obtener resultados del mismo orden que con el catalizador anterior, tanto de rendimiento como de diastereoselectividad. Sin embargo, con este nuevo catalizador la reacción tuvo lugar de una manera más eficaz en tolueno, dando los aldoles con unas conversiones comparables a las obtenidas en formamida. En los tres disolventes, sin embargo, las diastereoselectividades y los excesos enantioméricos fueron menores que los obtenidos con MCM41-Pro. Es posible que en este empeoramiento de estereoselectividad pueda tener algún efecto el cambio de configuración en el C-4 del anillo de prolina.

Una vez llevados a cabo los estudios sobre la reacción aldólica catalizada por prolina en forma heterogénea, nos propusimos evaluar los dos nuevos catalizadores, MCM41-Pro y MCM41-Pro(C), para la reacción aldólica entre dioxanona (**1**) y los aldehídos quirales **16** y **46**, preparados a partir del tartrato de dietilo, los cuales se han empleado en nuestro grupo como precursores de iminoazúcares de anillo de cinco y seis miembros respectivamente (esquema 3.3), como se describe previamente en la presente memoria.





**Esquema 3.3.** Aplicación a la síntesis de aldoles precursores de iminoazúcares.

Los resultados de las reacciones en presencia de MCM41-Pro y MCM41-Pro(C) en formamida y tolueno con cinco equivalentes de agua se muestran en la tabla 3.4.

**Tabla 3.4.** Reacción aldólica entre **16** y **46** con **1** en presencia de MCM41-Pro y MCM41-Pro(C).

Entrada	Aldehído	Catalizador	Disolvente	Rendimiento <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>b</sup>
1	<b>46</b>	MCM41-Pro	Formamida	62	5:1
2	<b>46</b>	MCM41-Pro	Tolueno <sup>c</sup>	30	3:1
3	<b>46</b>	MCM41-Pro(C)	Formamida	56	2:1
4	<b>46</b>	MCM41-Pro(C)	Tolueno <sup>c</sup>	64	3:1
5	<b>16</b>	MCM41-Pro	Formamida	52	3:1
6	<b>16</b>	MCM41-Pro	Tolueno <sup>c</sup>	10	n.d.
7	<b>16</b>	MCM41-Pro(C)	Formamida	57	3:1
8	<b>16</b>	MCM41-Pro(C)	Tolueno <sup>c</sup>	44	2:1

<sup>a</sup> Rendimiento obtenido tras la purificación. <sup>b</sup> Determinado por <sup>1</sup>H RMN. n.d. = no determinado. <sup>c</sup> Reacción llevada a cabo con 5 equiv de agua.

Con MCM41-Pro la reacción en formamida dio lugar a los aldoles **7a** y **15a** con un 62 y 52% de rendimiento, respectivamente, mientras que en tolueno se observó un descenso significativo del rendimiento (30 y 10%, respectivamente).

Sin embargo, con el catalizador MCM41-Pro(C) que posee una funcionalidad carbamato, se obtuvieron **7a** y **15a** con rendimientos comparables en ambos disolventes. Con respecto a las estereoselectividades, se obtuvieron exclusivamente los productos de adición con configuración *S* en la posición C-3, con relaciones (4*R*,3*S*)/(4*S*,3*S*) que variaban desde 2:1 a 5:1. Los productos mayoritarios *anti-7a* y *anti-15a* se transformaron en los iminociclitolos de seis y cinco miembros mediante hidrogenación (compuestos **8** y **13**, esquema 3.3).

Por tanto, se ha mostrado que la (*S*)-prolina heterogeneizada sobre el soporte mesoporoso MCM-41 posee propiedades catalíticas que difieren de las presentadas por la prolina soluble, las cuales en algunos casos ofrecen ventajas considerables respecto a la catálisis homogénea; aun así, la inmovilización no está exenta de presentar ciertos inconvenientes. Como análisis crítico, podríamos concluir que:

El catalizador híbrido MCM41-Pro ha mostrado ser capaz de catalizar la reacción aldólica asimétrica en disolventes de distinta polaridad, lo cual aumenta la aplicabilidad de una variable fundamental, como es el disolvente, al estudio de las reacciones aldólicas catalizadas por prolina. Esta ventaja justificaría el procedimiento de inmovilización, ya que únicamente teniendo en cuenta el relativamente bajo coste de este aminoácido, no parecería necesario.

Además, el catalizador ha podido ser recuperado fácilmente y reutilizado sin pérdidas considerables de rendimiento ni de selectividad, lo cual es muy importante ya que, como se comentó en el Capítulo 1, las industrias solamente se muestran interesadas en el reciclaje de un catalizador si y sólo si ha sido escrupulosamente comprobado que el catalizador reciclado presenta el mismo nivel de actividad que el catalizador nuevo. Por otra parte, la posibilidad de reciclar un catalizador reduciría los costes a la hora del empleo del mismo a escala industrial, lo cual es una ventaja considerable dada la necesidad de transferir la metodología empleada en catálisis asimétrica a la síntesis a gran escala.

Empleando el catalizador inmovilizado se han alcanzado conversiones equivalentes a las obtenidas con la prolina soluble, a pesar de necesitar tiempos más largos de reacción, y también se han mejorado tanto las diastereo- como las enantioselectividades con respecto a la de la catálisis

homogénea (tabla 3.1, entrada 3 versus 4). Aquí hay varios aspectos a tener en cuenta: por una parte, los tiempos de reacción se alargan al emplear el catalizador heterogéneo, pero hay que tener en cuenta que el catalizador soportado se encuentra más impedido estéricamente y menos accesible que su versión no soportada, por tanto es de esperar esta pérdida de actividad; por otro lado, la mejora observada en las selectividades obtenidas, que dependen de la estabilidad del estado de transición formado durante el ataque de la enamina al aldehído, lo cual ha sido ya explicado con detalle en el segundo capítulo de la presente memoria. Claramente, los alrededores más cercanos del centro activo pueden afectar profundamente la aproximación, estabilizando o desestabilizando un estado de transición frente a otro, y, en nuestro caso, parece que el entorno creado por el soporte alrededor del centro catalítico favorece el estado de transición que da lugar al producto *anti*.

El efecto del soporte también se ha hecho patente en nuestro caso a la hora de evaluar el efecto del agua en la reacción aldólica, cuyo mecanismo implica la formación de una molécula de agua, que posteriormente es necesaria para la regeneración del catalizador. Se ha demostrado que la eficiencia catalítica es menor al llevar a cabo las reacciones en disolventes hidrofóbicos, y que esto podría deberse al reparto de las moléculas de agua presentes en el medio de reacción entre el disolvente orgánico y los silanoles del soporte sólido, dependiendo de la hidrofobicidad del disolvente empleado en cada caso (tablas 3.1 y 3.2). Observando la gran influencia que el soporte puede tener en el transcurso de la reacción, no es de extrañar que la elección del mismo sea el asunto más relevante a la hora de establecer las condiciones para la inmovilización de un catalizador orgánico. A éste le siguen en importancia la zona del catalizador donde llevar a cabo el anclaje, y la clase de espaciador empleado, que, como ha quedado demostrado en el presente capítulo, no es un asunto trivial, puesto que el cambio de una funcionalidad urea por carbamato en el espaciador empleado en nuestro caso, aumentó la eficiencia catalítica para el caso de las reacciones llevadas a cabo en tolueno (tabla 3.3), obteniendo resultados comparables a los obtenidos en formamida. Además, para la preparación del nuevo catalizador MCM41-Pro(C) eran necesarias un menor número de etapas sintéticas que para la síntesis de MCM41-Pro, lo cual supone también una ventaja ya que reduce el coste del mismo, y, teniendo en

cuenta que la prolina es un aminoácido relativamente barato, la inmovilización del mismo tendrá más sentido cuanto menor sea el coste del proceso.

Por último, bajo condiciones heterogéneas se han obtenido, con rendimientos y estereoselectividades apropiados, precursores de iminoazúcares a partir de una reacción aldólica que puede ser llevada a cabo tanto en formamida como en tolueno, siendo este último un disolvente en el cual el uso de la (S)-prolina se encontraba dificultado por problemas de solubilidad (tabla 3.4).

## **CAPÍTULO 4**

# **ESTUDIO DE LA REACCIÓN ALDÓLICA CATALIZADA POR POLÍMEROS PREPARADOS A PARTIR DE MONÓMEROS METACRÍLICOS DE HIDROXIPROLINA**



## 4.1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

### 4.1.1. Catalizadores soportados sobre soportes poliméricos

Versiones soportadas sobre polímeros de catalizadores orgánicos han sido ampliamente desarrolladas y explotadas recientemente, debido principalmente a los beneficios que presentan a la hora de la recuperación y el reciclaje del catalizador.<sup>18a,20,21b,115</sup>

Entre los soportes heterogéneos destaca el poliestireno entrecruzado. Regen fue el primero en utilizarlo para la inmovilización de sales de amonio cuaternarias y su uso como catalizadores.<sup>116</sup> Este trabajo fue pronto seguido por otros similares que describían la inmovilización de otros catalizadores de transferencia de fase, como sales de fosfonio,<sup>117</sup> éteres corona<sup>117a,118</sup> o criptandos.<sup>117a,119</sup>

Posteriormente ha sido empleado también para la inmovilización de otros tipos de catalizadores, como catalizadores de oxidación<sup>120</sup> y también catalizadores de la reacción aldólica.<sup>23,121</sup>

<sup>18a</sup> Para inmovilización de la mayoría de catalizadores organometálicos ver: De Vos, D. E.; Vankelecom, I. F. J.; Jacobs, P. A. en: *Chiral Catalysts Immobilization and Recycling*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.

<sup>20</sup> Trindade, A. F.; Gois, P. M. P.; Afonso, C. A. M. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 418-514.

<sup>21b</sup> Benaglia, M.; Puglisi, A.; Cozzi, F. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3401-3429.

<sup>23</sup> (a) Font, D.; Sayalero, S.; Bastero, A.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 337-340. (b) Font, D.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4653-4655.

<sup>115</sup> Un número del *Bioorganic & Medicinal Chemistry Lett. (Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1791-1884) ha sido dedicado recientemente a catalizadores y reactivos soportados sobre polímeros en química orgánica sintética.

<sup>116</sup> Regen, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 5956-5957.

<sup>117</sup> (a) Cinquini, M.; Colonna, S.; Molinari, H.; Montanari, F.; Tundo, P. *Chem. Commun.* **1976**, *11*, 394-395. (b) Molinari, H.; Montanari, F.; Quici, S.; Tundo, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 3920-3927.

<sup>118</sup> Fukunishi, k.; Czech, B.; Regen, S. L. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1218-1221.

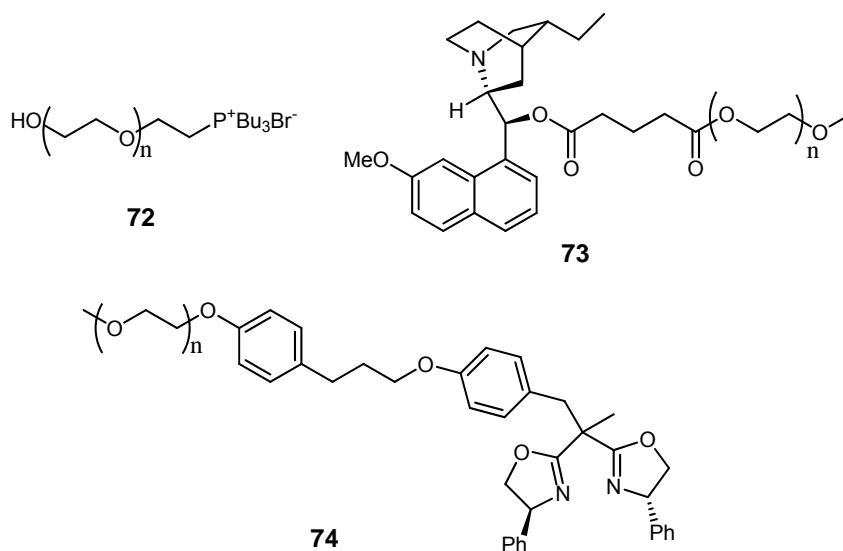
<sup>119</sup> Anelli, P.L.; Montanari, F.; Quici, S. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4910-4914.

<sup>120</sup> (a) Smith, k.; Liu, C. H.; El-Hiti, G. A. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 917-927. (b) Yuan, X. Y.; Li, H. Y.; Hodge, P.; Kilner, M.; Tastard, C. Y.; Zhang, Z. P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 2401-2407.

<sup>121</sup> (a) Giacalone, F.; Gruttadauria, M.; Marculescu, A. M.; Noto, R. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 255-259. (b) Kehat, T.; Portnoy, M. *Chem. Commun.* **2007**, *27*, 2823-2825.

Sin embargo, a pesar de las conocidas ventajas de los soportes entrecruzados, existen también algunos inconvenientes en el uso de estas resinas debido a la naturaleza heterogénea de las condiciones de reacción. Entre ellos se incluyen comportamientos cinéticos no lineales, desiguales distribuciones o acceso a la reacción química, problemas de solvatación asociados con la naturaleza del soporte o dificultades sintéticas a la hora de transferir las reacciones orgánicas estándar a la fase sólida. Al reemplazar las resinas por soportes poliméricos lineales homogéneos (es decir, el catalizador está en la misma fase que los reactivos), se establecen de nuevo las condiciones de reacción de la química orgánica clásica, pero además, los catalizadores homogéneos soportados pueden ser precipitados al final de la reacción mediante adición de un precipitante y recuperados como en un sistema heterogéneo. Esta metodología, denominada “síntesis en fase líquida”, en esencia evita las dificultades de la síntesis en fase sólida preservando la mayoría de sus ventajas.

A pesar de que “síntesis soportada sobre polímeros solubles” es un término menos ambiguo que “síntesis en fase líquida”, este último término es el que prevalece en la bibliografía.



**Figura 4.1.** Catalizadores soportados sobre PEG para diversas reacciones orgánicas.

Entre los polímeros lineales utilizados como soportes destaca el polietilenglicol (PEG), el cual ha sido ampliamente usado como soporte barato



y fácilmente funcionalizable tanto para la inmovilización de reactivos como para la recuperación y el reciclaje de catalizadores.<sup>24</sup> Una gran variedad de catalizadores se han anclado a PEG, entre ellos catalizadores de transferencia de fase (**72**),<sup>25</sup> para hidrogenación,<sup>26</sup> ligandos para la dihidroxilación asimétrica de Sharpless catalizada por osmio (**73**),<sup>27</sup> catalizadores de epoxidación,<sup>28</sup> y catalizadores para la formación de enlaces C-C (**74**).<sup>29</sup> (Figura 4.1).

#### 4.1.2 Prolina y sus derivados soportados sobre polímeros como catalizadores de la reacción aldólica

Dada la gran expansión que ha experimentado el campo de la organocatálisis, y en especial el uso de la prolina y sus derivados como catalizadores de la reacción aldólica, no es de extrañar que se hayan desarrollado versiones soportadas de este tipo de moléculas.

##### **Catalizadores heterogéneos derivados de prolina**

Entre los catalizadores heterogéneos puede destacarse el derivado de prolina **75** (figura 4.2), desarrollado por Davis, empleando como soporte una resina TentaGel (PEG-PS).<sup>122</sup> Dipéptidos y tripéptidos se emplearon como espaciadores, siendo los dipéptidos Pro-Ser/Thr los que mostraron mejores enantioselectividades para la reacción aldólica.

Casi simultáneamente, Kudo publicó la aplicación de tripéptidos de prolina (D-Pro-Tyr-Phe) inmovilizados sobre resinas de PEG-PS para reacciones aldólicas en un medio trifásico, mostrando mayor eficiencia que los

<sup>24</sup> Dickerson, T. J.; Reed, N.N.; Janda, K. D.; *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3325-3344.

<sup>25</sup> (a) Grinberg, S.; Shaubi, E. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 2895-2902. (b) Annunziata, R., Benaglia, M.; Cinquini, M.; Cozzi, F.; Tocco, G. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1737-1739.

<sup>26</sup> (a) Bergbreiter, D. E.; Zhang, L.; Mariagnanam, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9295-9296. (b) Fan, Q. -H.; Deng, G. -J.; Lin, C. -C.; Chan, A. S. C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1241-1247.

<sup>27</sup> (a) Han, H.; Janda, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7632-7633. (b) Han, H.; Janda, K. D. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1731-1733. (c) Kuang, Y. -Q.; Zhang, S. -Y.; Wei, I. -L. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5925-5927.

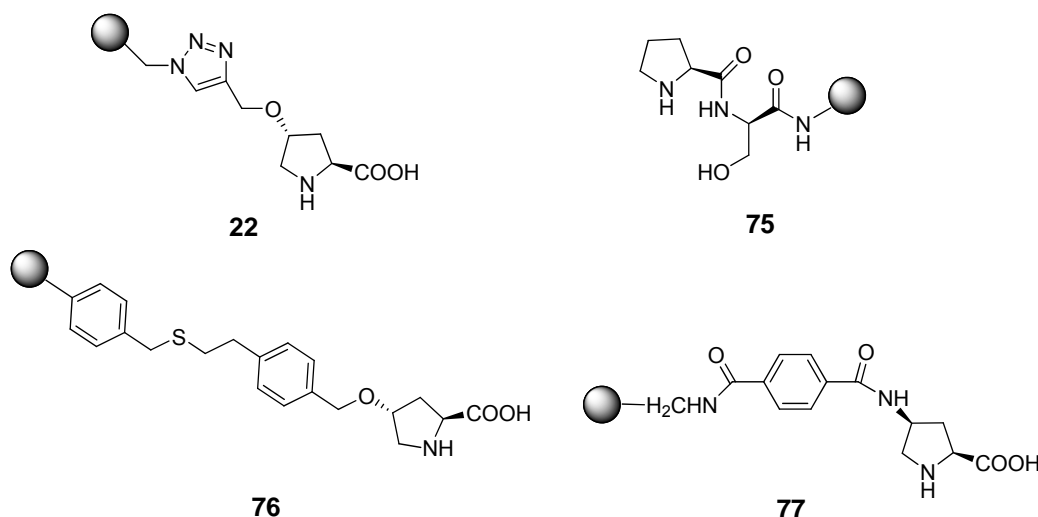
<sup>28</sup> Reger, T. S., Janda, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6929-6934.

<sup>29</sup> (a) Cozzi et al, *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 533. (b) Benaglia, M.; Celentano, G.; Cozzi, F.; *Adv. Synth. Catal.* **2001**, *343*, 171-173. (c) Gu, L.; Wu, Y.; Zhang, Y.; Zhao, G. *J. Mol. Catal.* **2007**, *263*, 186-194. (d) Yao, Q. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3896-3898.

<sup>122</sup> Andreae, M. R.; Davis, A. P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 2487-2492.

desarrollados por Davis. Además, el catalizador pudo ser reciclado cuatro veces sin pérdida de eficacia.<sup>123</sup>

El grupo de Pericás ha anclado covalentemente prolina vía cicloadición 1,3-dipolar a una resina de Merrifield funcionalizada con un grupo azido (**22**, figura 4.2). Este catalizador se empleó para la reacción aldólica entre ciclohexanona y benzaldehído, pero los tiempos de reacción necesarios para alcanzar conversiones cuantitativas a veces eran muy largos (144h). Cantidades catalíticas de DiMePEG<sub>2000</sub> mejoraron la reactividad del sistema, probablemente debido a una difusión mejor de los reactivos. La reciclabilidad del catalizador heterogéneo fue un éxito sin pérdidas de eficiencia tras tres ciclos.<sup>23b</sup>



**Figura 4.2.** Catalizadores heterogéneos para la reacción aldólica.

Por su parte, Gruttadauria y colaboradores anclaron la 4-hidroxiprolina sobre una resina de poliestireno (**76**), y llevaron a cabo reacciones aldólicas en agua, alcanzando altos rendimientos (98%), y estereoselectividades (*anti/sin* 96/4, ee 98%). El catalizador fue reutilizado sin pérdida de eficiencia al menos en cinco ocasiones.<sup>121a,124</sup> Resultados similares fueron obtenidos por Tao, el

<sup>23b</sup> Font, D.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4653-4655.

<sup>121a</sup> Giacalone, F.; Gruttadauria, M.; Marculescu, A. M.; Noto, R. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 255-259.

<sup>123</sup> Akagawa, K.; Sakamoto, S.; Kudo, K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8185-8187.

<sup>124</sup> Gruttadauria, M.; Giacalone, F.; Marculescu, A. M.; Lo Meo, P.; Riela, S.; Noto, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *28*, 4688-4698.

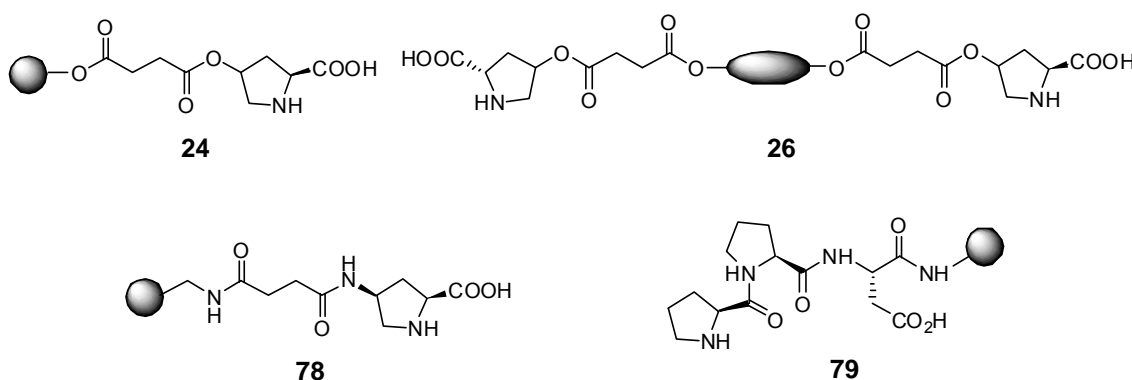
cual empleó otro tipo de espaciador para conectar la prolina al poliestireno (**77**, figura 4.2).<sup>125</sup>

### Catalizadores homogéneos derivados de prolina

La inmovilización de (2*S*,4*R*)-4-hidroxiprolina sobre el monometiléter de PEG<sub>5000</sub> fue llevada a cabo por Cozzi. Estos catalizadores (**24** y **26**, figura 4.3) mostraron una eficiencia comparable a la de la prolina soluble en DMSO. El catalizador **24** pudo ser recuperado con altos rendimientos (hasta el 80%), mediante precipitación con dietiléter, y reutilizado tres veces.<sup>29a</sup>

El grupo de Tao escogió poliestireno lineal para la inmovilización de prolina como catalizador de la reacción aldólica asimétrica entre benzaldehído y cetonas cíclicas en DMF húmeda. Este catalizador (**78**) mostró una gran eficiencia en términos de discriminación quiral (96:4 d.r. y 96% ee), y su reutilización se llevó a cabo después de la precipitación del mismo añadiendo éter etílico (cuatro ciclos con un 10% de pérdida de eficiencia en total).<sup>126</sup>

Cabe destacar también el catalizador sintetizado por el grupo de Wennemers, mediante el anclaje covalente del tripéptido H-Pro-Pro-Asp-NH<sub>2</sub> a cadenas poliméricas de PEG (**79**), con el que consiguieron altos rendimientos y excesos enantioméricos empleando únicamente 0.5 mol% de catalizador.<sup>127</sup>



**Figura 4.3.** Catalizadores homogéneos para la reacción aldólica.

<sup>29a</sup> Benaglia, M.; Cinquini, M.; Cozzi, F.; Puglisi, A.; Celentano, M. *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 533-542

<sup>125</sup> Liu, Y. X.; Sun, Y. N.; Tan, H. H.; Tao, J. C. *Catal. Lett.* **2008**, *120*, 281-287.

<sup>126</sup> Liu, Y. X.; Sun, Y. N.; Tan, H. H.; Liu, W.; Tao, J. C. *Tetrahedron:Asymmetry* **2007**, *18*, 2649-2656.

<sup>127</sup> Revell, J. D.; Gantenbein, d.; Krattiger, P.; Wennemers, H. *Biopolymers* **2006**, *84*, 105-113.

La inmovilización de la prolina ha sido uno de los objetivos más explorados a la hora de conseguir catalizadores reciclables. En solamente unos pocos años, como se acaba de describir en los dos apartados anteriores, una gran variedad de catalizadores soportados derivados de prolina han sido desarrollados con excelentes resultados.

#### **4.1.3 La reacción aldólica asimétrica organocatalizada en medios acuosos**

A pesar de que los procesos enzimáticos ocurren en la naturaleza en medios acuosos, el agua ha sido un disolvente a evitar para las reacciones orgánicas comunes. En ocasiones, incluso la presencia de trazas de la misma daña la reacción, complica la formación del producto o reduce la estereoselectividad. Debido a ello, los químicos orgánicos se ven obligados a llevar a cabo manipulaciones anhidras tediosas para alcanzar el éxito.

Sin embargo, los pioneros descubrimientos de Breslow,<sup>128</sup> acerca de que el agua aumentaba el rendimiento y la selectividad de la reacción de Diels-Alder, mostraron que en algunos casos las reacciones orgánicas en medios acuosos ofrecían ventajas con respecto a aquéllas llevadas a cabo en disolventes orgánicos.<sup>129</sup> El uso de este disolvente, con propiedades físicas y químicas únicas, como su elevada constante dieléctrica y su alta tensión superficial, además de las variadas interacciones que se pueden producir entre el agua y los sustratos (enlaces de hidrógeno, polaridad, acidez, hidrofobia, etc.) hacen del agua un disolvente interesante para su uso industrial o para trabajos de investigación.

Brillantes contribuciones a este área incluyen transposiciones de Claisen,<sup>130</sup> reacciones de alilación,<sup>131</sup> oxidaciones,<sup>132</sup> hidrogenaciones de alquenos<sup>133</sup> y

---

<sup>128</sup> (a) Rideout, D. C.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816-3927. (b) Breslow, R.; Maitra, U.; Rideout, D. C. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1901-1904.

<sup>129</sup> Para monografías, ver: (a) Li, C., Chan, T. H. *Organic Reactions in Aqueous Media*; Wiley: New York, 1997. (b) *Organic Synthesis in Water*; Grieco, P. A., Ed.; Thomson Science: Glasgow, Scotland, 1998.

<sup>130</sup> Gajewski, J. J. en: *Organic Synthesis in Water*. Grieco, P. A., Ed.; Blackie Academic & Professional: London, 1998.

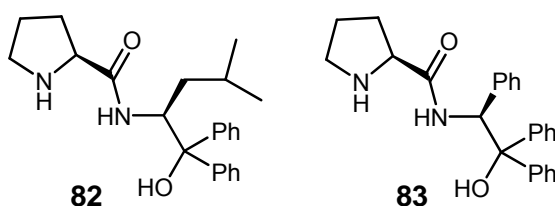
<sup>131</sup> (a) Lu, W.; Chan, T. H. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3467-3473. (b) Loh, T. -P.; Zhou, J. -R. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 9115-9118.

<sup>132</sup> Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 3455-3457.



Siguiendo estos trabajos, los medios de reacción basados en agua han sido objeto de controversia.<sup>138</sup> Así, el término “en presencia de agua” debería usarse para una reacción que tuviese lugar en una fase orgánica concentrada y agua presente como una segunda fase. Por el contrario, el término “en agua” debería ser usado para las reacciones en las que los sustratos participantes y el catalizador se encontrasen disueltos de forma homogénea en el agua.<sup>137,138</sup>

Recientemente Singh y colaboradores publicaron dos organocatalizadores derivados de prolina (figura 4.4) capaces de catalizar la reacción aldólica en medios acuosos con altas enantioselectividades y empleando una carga de catalizador de solamente el 0,5% mol.<sup>139</sup> Los autores describen que la reacción tiene lugar bajo condiciones bifásicas, mediante la asociación hidrofóbica del catalizador y el sustrato. La agregación de las moléculas orgánicas excluye al agua de la fase orgánica y lleva al equilibrio hacia la formación de la enamina.



**Figura 4.4.** Organocatalizadores desarrollados por el grupo de Singh para la reacción aldólica en agua.

Hayashi y colaboradores llevaron a cabo reacciones aldólicas en presencia de agua catalizadas por un organocatalizador combinado prolina-surfactante,<sup>34c</sup> proponiendo una emulsión fase orgánica-agua como medio de reacción ideal, en el cual las moléculas orgánicas pudiesen asociarse mediante interacciones hidrofóbicas.

En la misma línea, el grupo de Noto sintetizó una serie de catalizadores que dieron excelentes resultados (figura 4.5), siendo **84e** fue el que mejores resultados proporcionó. Mostraron así que para alcanzar altas actividades y estereoselectividades es suficiente con tener el sustituyente apropiado en

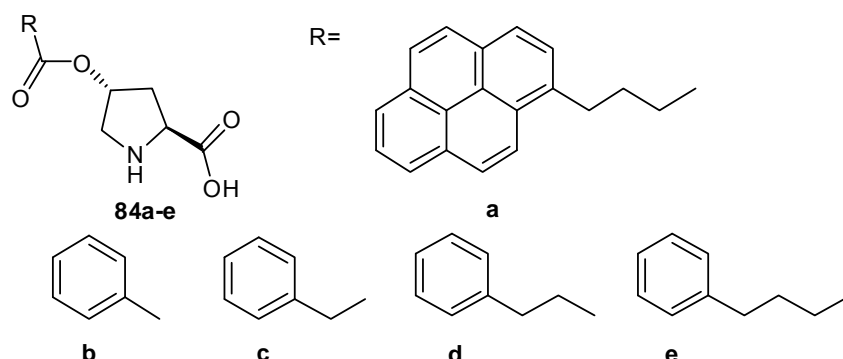
<sup>34c</sup> Hayashi, Y.; Aratake, S.; Okano, T.; Takahashi, J.; Sumija, T.; Shoji, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5527-5529.

<sup>137</sup> Aratake, S.; Itoh, T.; Okano, T.; Nagae, N.; Sumija, T.; Shoji, M.; Hayashi, Y. *Chem. -Eur. J.* **2007**, *13*, 10246-10256.

<sup>138</sup> Brogan, A. P.; Dickerson, T. J.; Janda, K. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8100-8102.

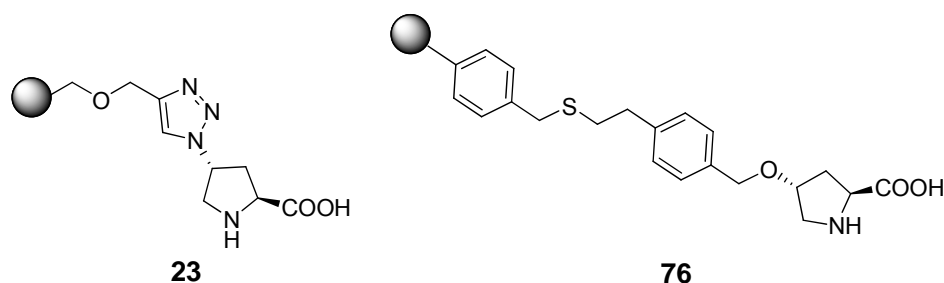
<sup>139</sup> Maya, V.; Raj, M.; Singh, V. K. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2593-2595.

posición 4 de la prolina, sin necesidad de esqueletos quirales adicionales en la molécula.<sup>140</sup>



**Figura 4.5.** Catalizadores hidrofóbicos desarrollados por Noto y colaboradores.

Teniendo en cuenta esto último, varios investigadores han empleado soportes altamente hidrofóbicos, como poliestireno, para la inmovilización de la prolina (figura 4.6), presentando, como añadido a su alta eficiencia, la posibilidad de una fácil separación del medio de reacción y varias reutilizaciones sin pérdida de actividad.<sup>23a,123,124,141</sup>



**Figura 4.6.** Catalizadores obtenidos mediante la inmovilización de prolina sobre soportes hidrofóbicos como catalizadores reciclables para la reacción aldólica en agua.

Recientemente se ha publicado también un sistema catalítico asimétrico en agua mediado por una  $\beta$ -ciclodextrina sulfatada que puede incluir en su cavidad

<sup>23a</sup> Font, D.; Sayalero, S.; Bastero, A.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 337-340.

<sup>123</sup> Akagawa, K.; Sakamoto, S.; Kudo, K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8185-8187.

<sup>124</sup> Gruttadauria, M.; Giacalone, F.; Marculescu, A. M.; Lo Meo, P.; Riela, S.; Noto, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 4688-4698.

<sup>140</sup> Giacalone, F.; Gruttadauria, M.; Lo Meo, P.; Riela, S.; Noto, R. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2747-2760.

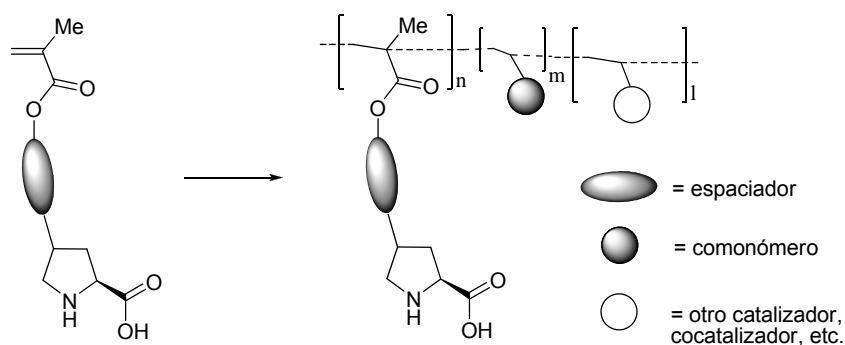
<sup>141</sup> Wu, Y.; Zhang, Y.; Yu, M.; Zhao, G.; Wang, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4417-4420.

una *tert*-butilfenoxiprolina y un reactivo hidrofóbico asociado. Mediante este sistema se consiguieron excelentes enantioselectividades para la reacción aldólica de ciclohexanona con aldehídos aromáticos.<sup>142</sup>

#### 4.1.4 Objetivos

Como se puede observar en los apartados previos, la estrategia habitual consiste en que los catalizadores son anclados sobre soportes sólidos *prefabricados*. Esta aproximación está muy establecida, pero presenta limitaciones que vienen dadas por la naturaleza del soporte, la cual va a condicionar en gran parte las características del catalizador final.

Teniendo esto en cuenta, en nuestro grupo de investigación se planteó la posibilidad de explorar una nueva estrategia: en lugar de modificar el soporte polimérico prefabricado introduciendo el resto catalítico derivado de la prolina, nos propusimos un diseño basado en la funcionalización del monómero precursor (esquema 1.9).



**Esquema 1.9.** Estrategia para la obtención de polímeros basados en monómeros de prolina modificados.

La idea consistiría en la funcionalización de la prolina empleando el grupo metacrilo como grupo polimerizable y la posterior obtención de polímeros que contuviesen la funcionalidad catalítica de dos maneras diferentes: 1) mediante polimerización del monómero que soporta a la prolina, obteniendo así homopolímeros, los cuales presentarían una carga máxima de catalizador, o 2)

<sup>142</sup> Huang, J.; Zhang, X.; Armstrong, D. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9073-9077.



mediante copolimerización con otros comonómeros. Esta aproximación, como ya se comentó en el Capítulo 1, ofrece la posibilidad de llevar a cabo la polimerización controlando tanto la naturaleza de los comonómeros como la carga de catalizador, pudiéndose preparar así materiales tanto homogéneos como heterogéneos con una gran variabilidad estructural y composicional. Las propiedades químico-físicas del soporte, como la solubilidad, serán principalmente definidas por el componente mayoritario. Además se podrían incluir terceros componentes, como se muestra en el esquema 1.9, que podrían actuar también como catalizadores, abriendo la posibilidad al desarrollo de reacciones secuenciales en un solo paso. Otra de las ventajas de nuestra estrategia es la utilización de monómeros puros para llevar a cabo la polimerización, mientras que en la modificación de un soporte sólido prefabricado suelen quedar impurezas provenientes de reacciones secundarias imposibles de separar del polímero funcionalizado.

Desde el punto de vista de química de polímeros, las unidades repetitivas que contienen la funcionalidad prolina (esquema 1.9) tienen carácter zwitteriónico, puesto que en un cierto intervalo de pH pueden presentarse como iones dipolares con carga formal positiva y negativa sobre los grupos amino y ácido carboxílico, respectivamente, siendo eléctricamente neutros. Este carácter hace a este tipo de polímeros sensibles al pH, presentando un punto isoeléctrico (IEP), que es el pH en el cual no hay carga global neta en la macromolécula y ésta es eléctricamente neutra. En este punto el polímero se encuentra en su conformación más compacta (pudiendo incluso precipitar) debido a las interacciones coulombianas intermoleculares, y, a medida que nos vamos alejando del IEP, mayor es la carga neta (positiva o negativa) y más extendida es la conformación. Este tipo de propiedades pueden ser muy útiles a la hora de la recuperación del catalizador polimérico homogéneo del medio de reacción y el reciclaje del mismo.

Por lo tanto, los objetivos fundamentales de este capítulo serán:

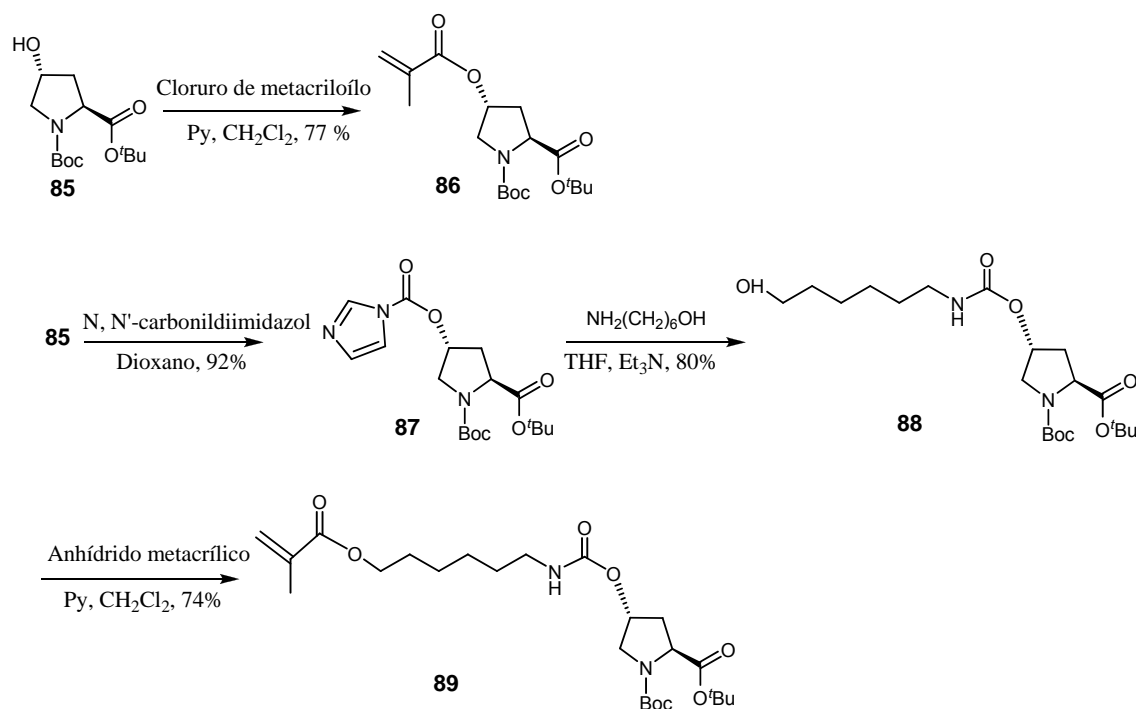
- Preparación de polímeros lineales que actúen como catalizadores homogéneos en agua a partir de monómeros metacrílicos de hidroxiprolina.
- Evaluación de los anteriores como catalizadores de la reacción aldólica en agua.

## 4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.2.1 Síntesis de los monómeros

En primer lugar se llevó a cabo la síntesis de los monómeros derivados de prolina que posteriormente serían empleados para llevar a cabo las polimerizaciones. Se sintetizaron así dos moléculas, una obtenida mediante esterificación directa (**86**) y una segunda en la que se empleó un carbamato como espaciador alifático (**89**). Este espaciador flexible puede tener alguna influencia sobre el balance anfílico y la accesibilidad de la prolina, pudiendo jugar un papel en el comportamiento del polímero.

El monómero **86** (esquema 4.2), se preparó en una única etapa mediante esterificación con cloruro de metacrililo del derivado de hidroxiprolina **85**, el cual se obtuvo mediante el procedimiento descrito por el grupo de Pericás.<sup>23b</sup>



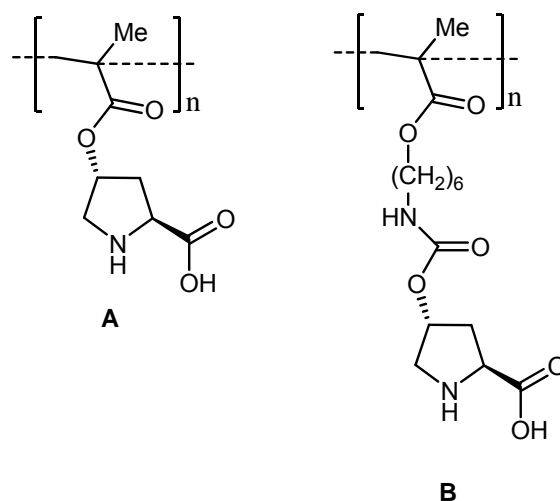
Esquema 4.2. Síntesis de los monómeros **86** y **89**.

<sup>23b</sup> Font, D., Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2006**, 8, 4653-4655.

Para la síntesis del monómero **89** (esquema 4.2), el derivado de hidroxiprolina **85** se hizo reaccionar con *N,N'*-carbonildiimidazol para dar lugar al derivado de imidazolilcarbonilo **87**. Mediante el acoplamiento de **87** con 6-amino-1-hexanol se obtuvo el carbamato **88**, el cual fue acilado por tratamiento con anhídrido metacrílico para obtener el monómero **89**.

#### 4.2.2 Preparación de los homopolímeros. Reacción de polimerización.

Una vez obtenidos los monómeros se llevó a cabo la síntesis de los homopolímeros que contenían la funcionalidad prolina (figura 4.7).

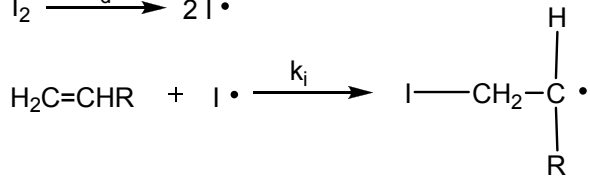
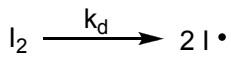


**Figura 4.7.** Esquema de las unidades monoméricas de las que se componen los homopolímeros **A** y **B**.

Los polímeros sintetizados en este capítulo fueron preparados mediante polimerización vía radical seguida de desprotección. Esta polimerización consiste en una polimerización en cadena en la que las especies reactivas son radicales. Los radicales son moléculas orgánicas que contienen un electrón desapareado y que generalmente se consideran especies inestables y reactivas. Los compuestos más representativos que polimerizan mediante esta vía son los alquenos y derivados, entre los que se encuentran los metacrílicos, grupo al que pertenecen los monómeros utilizados en este trabajo.

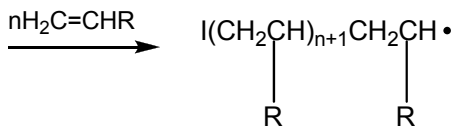
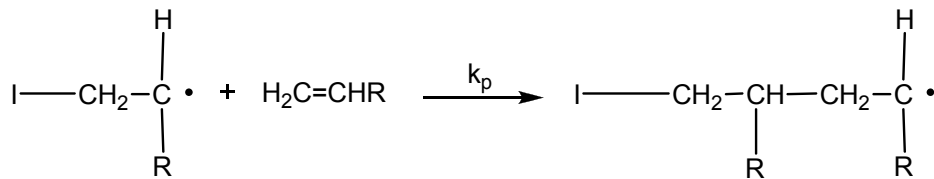
El proceso de polimerización consta de tres etapas: iniciación, propagación y terminación (figura 4.8).

**INICIACIÓN**



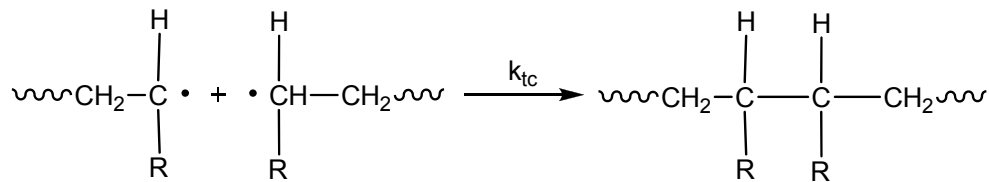
R = H, CH<sub>3</sub>, COOH, COOR', COOCH<sub>3</sub>, etc

**PROPAGACIÓN**

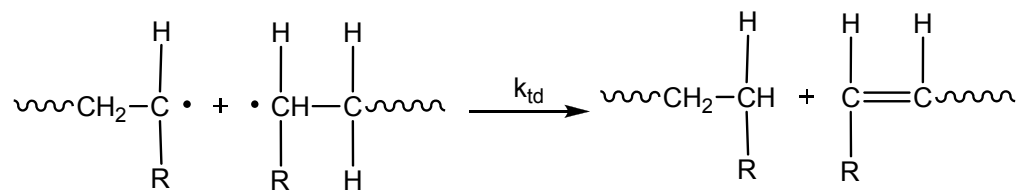


**TERMINACIÓN**

Combinación (acoplamiento radical)



Desproporción



**TRANSFERENCIA**

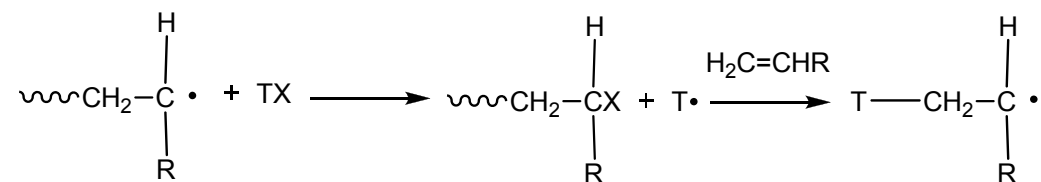


Figura 4.8. Esquema de polimerización radical para polímeros vinílicos.

La etapa de INICIACIÓN se lleva a cabo a su vez en dos etapas. En una primera etapa se produce la disociación homolítica del iniciador, que puede activarse térmicamente (como será nuestro caso), por luz ultravioleta o por diversos agentes químicos, dando lugar a radicales libres primarios que constituyen la especie iniciadora.

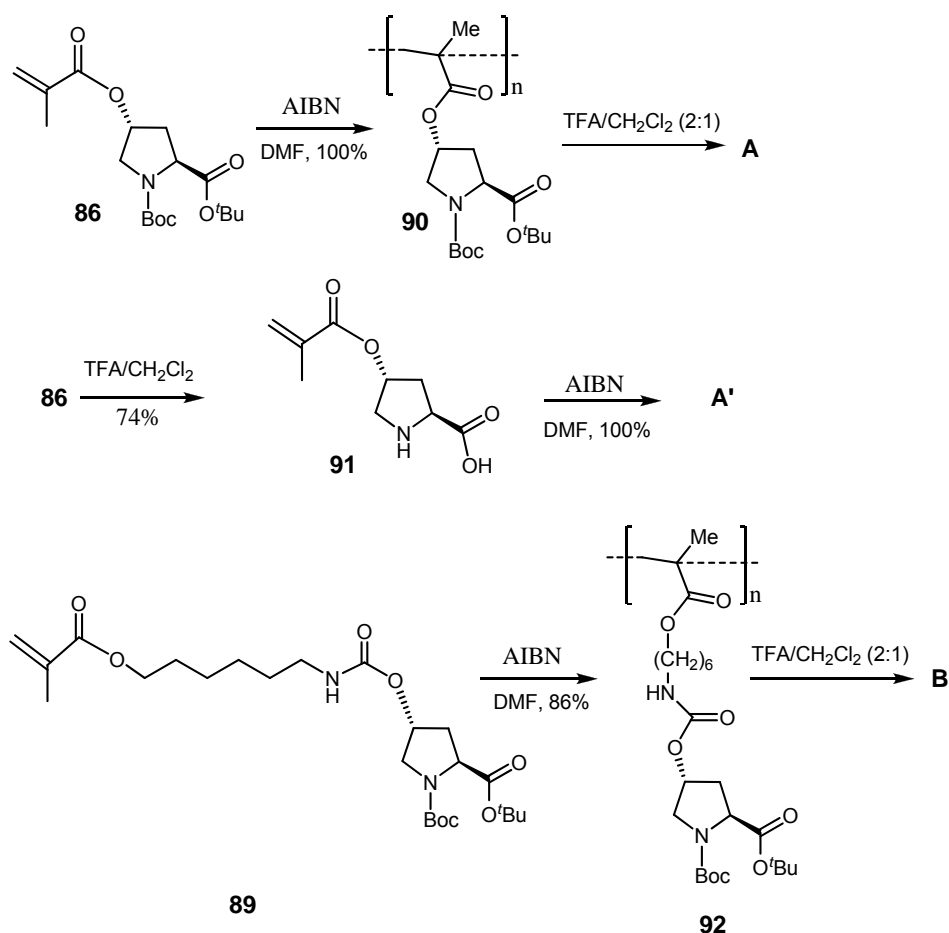
Estos radicales libres primarios se adicionan, en una segunda etapa, a la primera molécula de monómero para dar lugar a una especie activa radicalaria, siendo  $k_i$  la constante cinética de esta etapa. Esta especie activa reacciona a continuación con más moléculas de monómero, en la etapa denominada como PROPAGACIÓN.

El fin de la reacción (TERMINACIÓN) tiene lugar por desactivación birradicalaria de los centros reactivos, la cual puede llevarse a cabo mediante combinación o desproporción. En la terminación por combinación, los radicales reaccionan entre sí mediante acoplamiento radical. En la terminación por desproporción, un átomo de hidrógeno en posición  $\beta$  respecto a un centro reactivo se transfiere al extremo reactivo radical de otra cadena en crecimiento dando lugar a dos especies poliméricas, una saturada y otra insaturada.

Existe también otro posible proceso denominado TRANSFERENCIA (figura 4.8), que no influye en la velocidad de reacción, y que también puede ser la causa de la terminación de una cadena. En este proceso se transfiere el radical libre activo de una cadena en crecimiento a otra molécula (un monómero, una cadena de polímeros inactiva, una molécula de disolvente, etc.) y se crea un nuevo radical libre que crecerá más adelante.

Así, el polímero **A** se preparó a partir del monómero **86**, cuya polimerización en cadena vía radicales libres se llevó a cabo en DMF y en presencia de AIBN como iniciador radicalico para formar así el derivado lineal de polimetacrilato **90** (esquema 4.3). La hidrólisis ácida de los grupos protectores dio lugar al polímero **A**. De forma alternativa se obtuvo el polímero **A'** mediante polimerización del metacrilato de prolina desprotegido **91**, el cual había sido preparado previamente mediante el tratamiento de **86** con ácido trifluoroacético y purificado posteriormente mediante cromatografía en gel de sílice. El producto **A'** mostró los mismos datos espectroscópicos que el polímero **A** obtenido previamente. Estos datos nos permitieron confirmar la

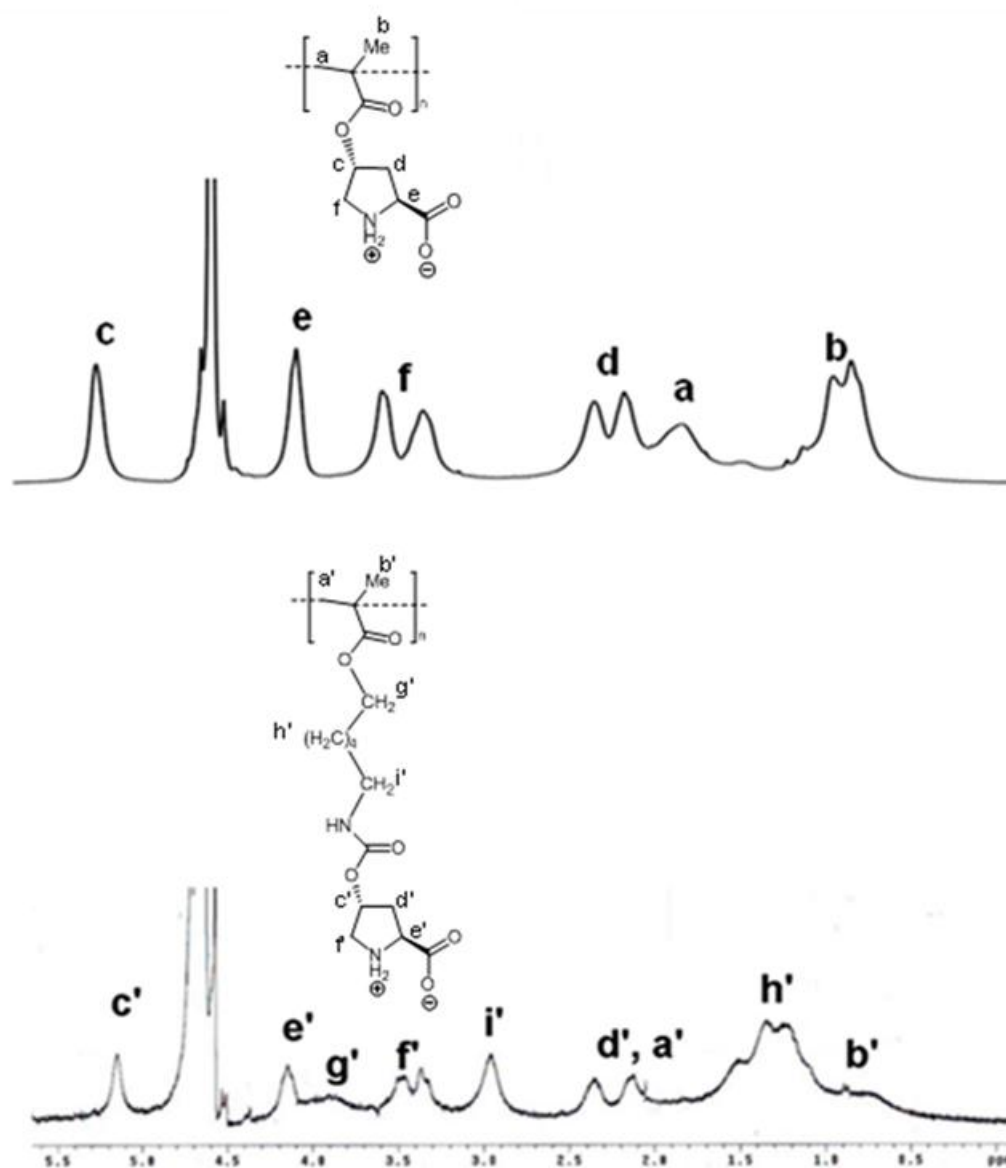
completa desprotección e integridad estructural del polímero **A**, ya que en la ruta alternativa para la obtención del polímero **A'** se empleó el monómero puro **91**, además de un procedimiento de polimerización mediante el cual no es posible que tenga lugar una modificación estructural. La posibilidad de usar monómeros tanto protegidos como desprotegidos aumenta la versatilidad a la hora de llevar a cabo las polimerizaciones, puesto que pueden ser realizadas en distintos disolventes. Sin embargo, polimerizaciones con monómeros de este tipo desprotegidos, como es el caso de **91**, únicamente pueden ser llevadas a cabo en agua debido a sus condiciones de solubilidad. En este trabajo se ha empleado preferentemente la vía polimerización/desprotección debido a una mayor facilidad a nivel experimental.



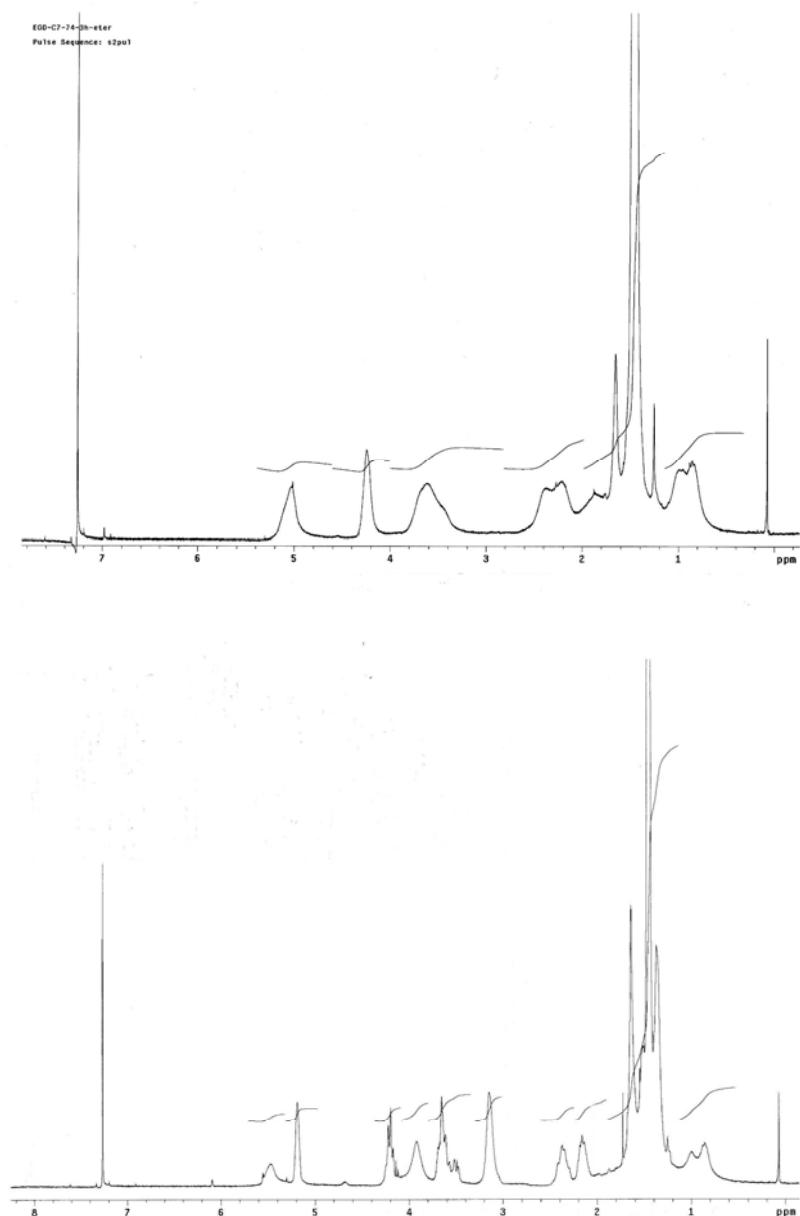
**Esquema 4.3.** Síntesis de los polímeros **A**, **A'** y **B**.

Procedimientos de polimerización y desprotección similares a los descritos anteriormente se aplicaron a **89** para dar lugar al polímero **B**.

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN de los polímeros **A** y **B** son consistentes con las estructuras propuestas (figura 4.9). Se puede observar que ambos exhiben los picos anchos típicos de las especies poliméricas, presentando las señales correspondientes al anillo de prolina, y, en el caso del polímero **B**, además presenta las señales del espaciador. En ningún caso pueden observarse las intensas señales alrededor de 1.4 ppm correspondientes a los grupos *terc*-butilo (ver figura 4.10), lo cual indica que la desprotección de los mismos fue completa.



**Figura 4.9.** Espectros de  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K) de los polímeros **A** y **B** (arriba y abajo, respectivamente).



**Figura 4.10.** Espectros de <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K) de los polímeros protegidos **90** y **92** (arriba y abajo, respectivamente).

Estos polímeros fueron caracterizados por GPC<sup>143</sup> en sus formas protegidas, ya que las desprotegidas podían causar grandes problemas al interactuar con el relleno de las columnas. Los pesos moleculares se referenciaron con respecto a estándares de PEG. Los pesos moleculares promedio en número para los polímeros **90** y **92** fueron 71000D y 83000D,

<sup>143</sup> La cromatografía de permeación en gel (GPC) es la técnica de separación más sencilla para observar la distribución de pesos moleculares de un polímero. Es un tipo de cromatografía de exclusión basada en la diferencia de penetración de las moléculas en los poros de la fase estacionaria dependiendo del tamaño de la molécula.



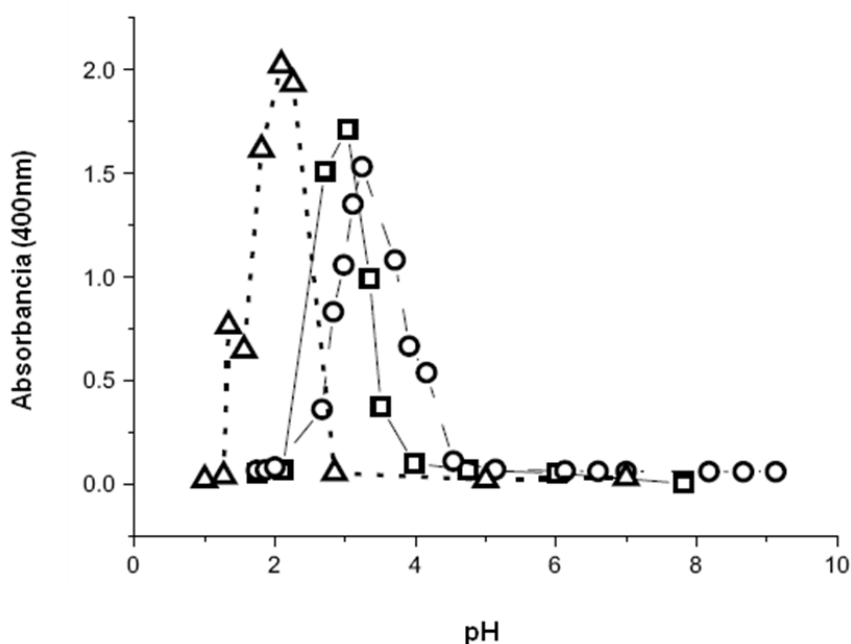
respectivamente, con polidispersidades de 2.6 y 3.1, los cuales son valores típicos para polimerizaciones radicáticas usando iniciadores térmicos.

Estos homopolímeros además presentan una máxima carga de catalizador, siendo ésta, según los datos teóricos del análisis elemental, 5,02 mmol/g en el caso de **A** y 2,92 mmol/g para **B**. Para el caso de catalizadores anclados sobre soportes sólidos prefabricados suelen conseguirse cargas de catalizador entre 0,1 y 1,5 mmol/g en los mejores casos.

#### 4.2.3 Estudios de sensibilidad al pH de los homopolímeros A y B

Los polizwitteriones son normalmente insolubles en medios acuosos en el punto isoeléctrico (IEP), ya que las interacciones entre las cargas de signo opuesto son máximas en este punto. Por encima y por debajo de éste la carga neta es negativa o positiva respectivamente, ya que la estequiometría se pierde permitiendo a las cadenas lineales macromoleculares expandirse, solvatare y finalmente disolverse.

Con objeto de evaluar este efecto, se monitorizaron los cambios de solubilidad de los polímeros **A** y **B** mediante ensayos de turbidimetría a diferentes fuerzas iónicas, 0.15 y 1 (figura 4.11).



**Figura 4.11.** Absorbancia a 400nm frente al pH para los polímeros **A** ( $\square$ ) y **B** ( $\circ$ ) a fuerzas iónicas = 0.15 y para el polímero **A** ( $\Delta$ ) a fuerza iónica = 1.

Si tomamos como IEP el pH medio entre los puntos de enturbiamiento (los dos valores límite de pH en los cuales la solución cambia de transparente y homogénea a no transparente y heterogénea), los IEPs son muy similares, aproximadamente 3 y 3.5 para los polímeros **A** y **B** respectivamente, a una fuerza iónica de 0.15. Este valor tan bajo de IEP (el IEP del aminoácido prolina es de 6.3) puede estar relacionado con las diferencias de accesibilidad a los grupos ionizables, el amino y el ácido carboxílico. Un polímero estructuralmente homólogo derivado de aminocrotonato ha mostrado también un IEP muy bajo, alrededor de 2, lo cual fue atribuido tentativamente a la diferente accesibilidad de los grupos carboxilo y amino secundarios en la ionización.<sup>144</sup> Este polímero de aminocrotonato también contenía grupos ácido carboxílico y amino secundarios.

La tacticidad de un polímero hace referencia a la disposición relativa de los centros estereogénicos presentes en la cadena principal del polímero. Así, un polímero isotáctico, según la IUPAC, es aquél en el cual los sustituyentes de la cadena principal están enlazados a un carbono quiral en la misma posición. Los polímeros sindiotácticos poseen también un orden constante en los sustituyentes, pero se encuentran enlazados de forma alternante al carbono quiral de la cadena principal del polímero. Por último, en los polímeros atácticos, los sustituyentes se encuentran distribuidos de manera aleatoria a lo largo de la cadena de la macromolécula.

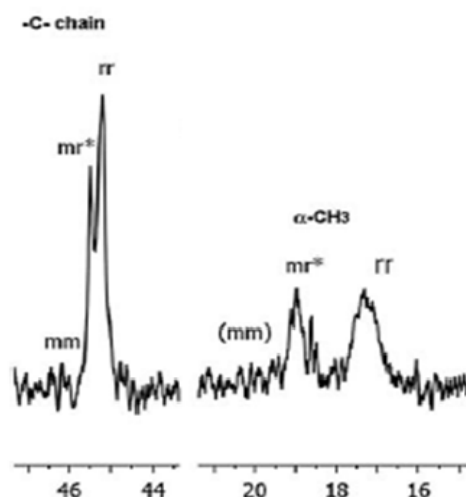
Las cadenas de polimetacrilato normalmente suelen ser sindiotácticas predominantemente, con parámetros isotácticos entre 0.2 y 0.3,<sup>145</sup> lo que significa que entre un 20 y 30% de las diadas son isotácticas. En la figura 4.12 se muestran unas ampliaciones de los espectros de <sup>13</sup>C desacoplados de los  $\alpha$ -CH<sub>3</sub> (entre 15 y 22 ppm) y los carbonos cuaternarios (alrededor de 45 ppm) de ambos homopolímeros. Estas señales muestran patrones complejos que han sido analizados en términos del contenido de las diferentes secuencias estereoquímicas como se indica en la figura, siguiendo las asignaciones clásicas de los polimetacrilatos (a medida que aumenta el campo, isotácticos

---

<sup>144</sup> Kudaibergenov, S. E.; Didukh, A. G.; Zgumadilova, G. T.; Koizhaiganova, R. B.; Bimendina, L. A.; Jung-Gyun, N. *Macromol. Symp.* **2004**, *207*, 153-171.

<sup>145</sup> Gallardo, A., San Román, J. *Polymer* **1994**, *35*, 2501-2509.

mm, heterotácticos mr+rm y sindiotácticos rr).<sup>145,146</sup> Como era esperable, los polímeros son predominantemente sindiotácticos con parámetros isotácticos de  $\sigma = 0.30$  y  $0.23$  para **A** y **B** respectivamente. Este efecto de tacticidad podría estar influenciando la ionización de la amina, y la alta interacción entre grupos vecinos en unidades isotácticas podría ser la responsable de los valores tan bajos de IEP obtenidos.



**Figura 4.12.** Ampliación del espectro de <sup>13</sup>C de los α-CH<sub>3</sub> y los carbonos cuaternarios del polímero **A** en D<sub>2</sub>O.

En la figura 4.11 también puede observarse la influencia del incremento de la fuerza iónica, ya que al pasar de un valor de 0.15 a 1, el IEP del polímero **A** baja hasta un valor alrededor de 2. Es bien conocido que la fuerza iónica influencia los valores de pK de los ácidos y aminas de las macromoléculas, como las proteínas.<sup>147</sup>

<sup>145</sup> Gallardo, A., San Román, J. *Polymer* **1994**, 35, 2501-2509.

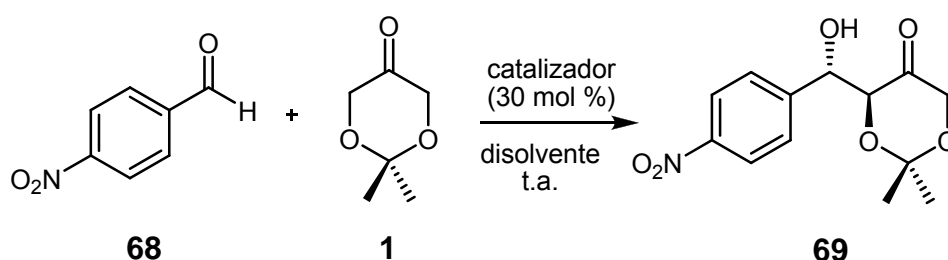
<sup>146</sup> Pham, Q. T.; Petiaud, R.; Waton, H.; Llauro-Darricades, M. F. *Proton and carbon NMR spectra of polymers*. 5th ed. Wiley; 2003.

<sup>147</sup> (a) Huyhues-Despointes, B. M. P.; Thurlkill, R. L.; Daily, M. D.; Schell, D.; Briggs, J. M.; Antosiewicz, J. M. *J. Mol. Biol.* **2003**, 325, 1093-1105. (b) Voet, J. G.; Coe, J.; Epstein, J.; Matossian, V.; Shipley, T. *Biochemistry* **1981**, 20, 7182-7185.

#### 4.2.4 Evaluación de los homopolímeros A y B como catalizadores de la reacción aldólica

Una vez sintetizados los homopolímeros nos propusimos evaluar su eficiencia como catalizadores de la reacción aldólica. Para ello llevamos a cabo el estudio de la reacción entre 4-nitrobenzaldehído (**68**) y dioxanona (**1**) catalizada por los polímeros **A** y **B** tanto en agua como, con fines comparativos, en DMF (tabla 4.1).

**Tabla 4.1.** Reacción aldólica entre **68** y **1** en presencia de los polímeros **A** y **B**.



Entrada	Catalizador	Disolvente	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	L-Prolina	DMF	48	88	2:1	63
2	A	H <sub>2</sub> O (pH 7.0)	48	-	-	-
3	B	H <sub>2</sub> O (pH 7.0)	48	11	1:1	46
4	A <sup>c</sup>	DMF	48	78	8:1	78
			64	90	7:1	88
5	B <sup>c</sup>	DMF	48	84	3:1	58
			64	99	3:1	48
6	A <sup>d</sup>	DMF	24 <sup>e</sup>	26	8:1	80
7	B <sup>d</sup>	DMF	24 <sup>e</sup>	25	5:1	78

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup> Determinado por HPLC; Los valores de e.e. se refieren al diastereoisómero mayoritario. <sup>c</sup> Los polímeros fueron usados tras tratamiento con Et<sub>3</sub>N. <sup>d</sup> La funcionalidad prolina se encontraba en su forma ácida. <sup>e</sup> No se observó ningún progreso en la reacción tras 24h.

Los polímeros fueron solubles en ambos disolventes. En DMF los polímeros fueron probados con la funcionalidad prolina en dos formas iónicas distintas: en la forma ácida, tal y como se obtuvo tras la desprotección con ácido trifluoroacético (entradas 6 y 7), y también en forma neutra obtenida tras el tratamiento con Et<sub>3</sub>N.

En la tabla 4.1 se incluyen también los resultados empleando L-prolina en DMF (entrada 1), con fines comparativos. De los resultados obtenidos en la catálisis podemos sacar las siguientes conclusiones:

Mientras que no se observó reacción con el polímero **A** en agua tras 48 h, con el polímero **B**, que contiene el espaciador hidrocarbonado, se obtuvieron los aldoles correspondientes, aunque con baja conversión y estereoselectividad (entradas 2 y 3). Este pequeño pero diferente cambio en el comportamiento de ambos polímeros indica que este espaciador hidrófobo, que había sido introducido en un principio con el fin de estudiar la influencia de la distancia entre el anillo de prolina y la cadena polimérica sobre la catálisis, es beneficioso para que las reacciones aldólicas tengan lugar en agua.

En DMF se obtuvieron mejores resultados. Así, el polímero **A** dio lugar a los aldoles con rendimientos comparables a los obtenidos con L-prolina pero con mejores diastereo- y enantioselectividades (entrada 4 *versus* entrada 1). Con el polímero **B** se obtuvo una conversión excelente pero una estereoselectividad más baja (entrada 5).

La forma iónica en que se encontrase la prolina resultó ser importante, puesto que las reacciones en presencia de los polímeros obtenidos después de la hidrólisis ácida y sin tratamiento con Et<sub>3</sub>N se pararon después de un 25-30% de conversión (entradas 6 y 7). Resultados similares fueron observados por el grupo de Pihko mientras estudiaban el efecto de la adición de bases, ácidos y agua sobre la reacción aldólica catalizada por prolina. Mientras que la reacción parecía ser relativamente tolerante a la adición de pequeñas cantidades de bases o ácidos débiles, se paraba completamente con ácidos fuertes como el trifluoroacético.<sup>148</sup>

Por último, evaluamos también las propiedades catalíticas de los polímeros **A** y **B** bajo condiciones heterogéneas. Intentamos llevar a cabo la catálisis en un disolvente no polar, como el CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, tanto en presencia como en ausencia de agua (2, 5 y 10 equivalentes con respecto al aldehído **68**), puesto que, como ya se comentó en el capítulo 4 de la presente memoria, ya había sido descrito que pequeñas cantidades de agua eran en ocasiones beneficiosas para las

---

<sup>148</sup> Pihko, P. M.; Laurikainen, K. M.; Usano, A.; Nyberg, A. I.; Kaavi, J. A. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 317-328.

reacciones aldólicas catalizadas por prolina.<sup>5c,112,113</sup> Sin embargo, únicamente se obtuvieron trazas de los productos después de 4 días, lo que probablemente indica que el polímero colapsa en este medio, bloqueando el acceso de la prolina a los sustratos. Resultados similares se obtuvieron empleando tolueno como disolvente.

#### 4.2.5 Preparación de los copolímeros

Una vez llevada a cabo la síntesis y evaluación de los homopolímeros nos propusimos abordar la síntesis de nuevos polímeros empleando la misma estrategia descrita anteriormente, pero en este caso mediante copolimerización de los monómeros descritos en el apartado anterior con otro comonómero. La ligera actividad observada para la catálisis en agua con el polímero **B**, que contenía el espaciador hidrocarbonado, junto con las observaciones previas descritas en la bibliografía que indicaban que un grupo hidrofóbico unido a la prolina es beneficioso para que las reacciones aldólicas tengan lugar en agua,<sup>34,124,140,149</sup> nos llevaron a elegir un comonómero hidrofóbico: el estireno.

Los copolímeros así obtenidos contendrían la funcionalidad catalítica de la prolina rodeada por anillos aromáticos que podrían interaccionar en agua con los sustratos hidrofóbicos, creando un microentorno que ha sido ya descrito como esencial para que las reacciones puedan ser llevadas a cabo en este disolvente.<sup>34,137,150</sup>

<sup>5c</sup> Ibrahim, I.; Zou, W.; Xu, Y.; Córdova, A. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 211-222.

<sup>34</sup> (a) Mase, N.; Nakai, Y.; Ohara, N.; Yoda, H.; Takabe, K.; Tanaka, F.; Barbas, C. F. III *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 734-735. (b) Hayashi, Y.; Sumiya, T.; Takahashi, J.; Gotoh, H., Urushima, T., Shoji, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 958-961. (c) Hayashi, Y.; Aratake, S.; Okano, T., Takahashi, J.; Sumiya, T., Shoji, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5527-5529.

<sup>112</sup> Tanaka, F.; Thayumanavan, R.; Mase, N.; Barbas, C. F., III, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 325-328.

<sup>113</sup> (a) Ward, D. E.; Jheengut, V. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 8347-8350. (b) Nyberg, A. I.; Usano, A.; Pihko, P. M. *Synlett*, **2004**, 1891-1896.

<sup>124</sup> Gruttadauria, M.; Giacalone, F.; Marculescu, A. M.; Lo Meo, P.; Riela, S., Noto, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *28*, 4688-4698.

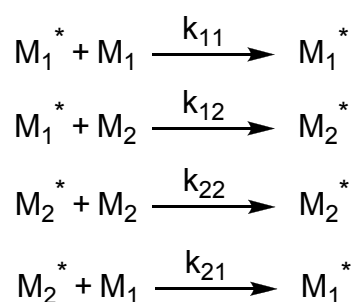
<sup>137</sup> Aratake, S.; Itoh, T.; Okano, T.; Nagae, N.; Sumija, T.; Shoji, M.; Hayashi, Y. *Chem. -Eur. J.* **2007**, *13*, 10246-10256.

<sup>140</sup> Giacalone, F.; Gruttadauria, M.; Lo Meo, P.; Riela, S.; Noto, R. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2747-2760.

<sup>149</sup> Guizzetti, S.; Benaglia, M.; Raimondi, L., Celentano, G. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1247-1250.

<sup>150</sup> Fu, Y. -Q.; An, Y. -J. Liu, W. -M.; Li, Z. -C., Zhang, G.; Tao, J. -C. *Catal. Lett.* **2008**, *124*, 397-404.

En general, la mayoría de las copolimerizaciones obtenidas por vía radical pueden ser descritas composicionalmente mediante el modelo terminal de copolimerización, según el cual la reactividad química de una cadena en crecimiento depende solamente de la unidad final que porta el centro activo, y no de la composición de la cadena que le precede. Así, la copolimerización de dos monómeros  $M_1$  y  $M_2$  dará lugar a dos especies activas en propagación dependiendo de la unidad final, ( $M_1^*$  y  $M_2^*$ ), que reaccionarán con otros monómeros. El esquema cinético de esta etapa de propagación puede resumirse según el siguiente esquema:



**Esquema 4.4**

$M_1^*$  y  $M_2^*$  representan los macrorradicales en crecimiento acabados en 1 ó 2, y  $k_{11}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{21}$  y  $k_{22}$  son las constantes de velocidad de propagación, en las que el primer subíndice corresponde al extremo radical en crecimiento y el segundo corresponde al monómero que se adiciona a la cadena. Las relaciones de reactividad de los monómeros vienen dadas por la relación entre estas constantes:

$$r_1 = \frac{k_{11}}{k_{12}} \quad r_2 = \frac{k_{22}}{k_{21}}$$

**Ecuación 4.1**

A partir de estas ecuaciones cinéticas y asumiendo que se cumplen las condiciones del estado estacionario, es decir, que las concentraciones de radicales en crecimiento se mantienen constantes durante la etapa de propagación, se llega a la siguiente ecuación:

$$\frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{[M_1](r_1[M_1] + [M_2])}{[M_2](r_2[M_2] + [M_1])}$$

### **Ecuación 4.2**

Ésta suele expresarse en forma de fracciones molares:

$$\frac{f_1}{f_2} = \frac{F_1 r_1 F_1 + F_2}{F_2 r_2 F_2 + F_1}$$

### **Ecuación 4.3**

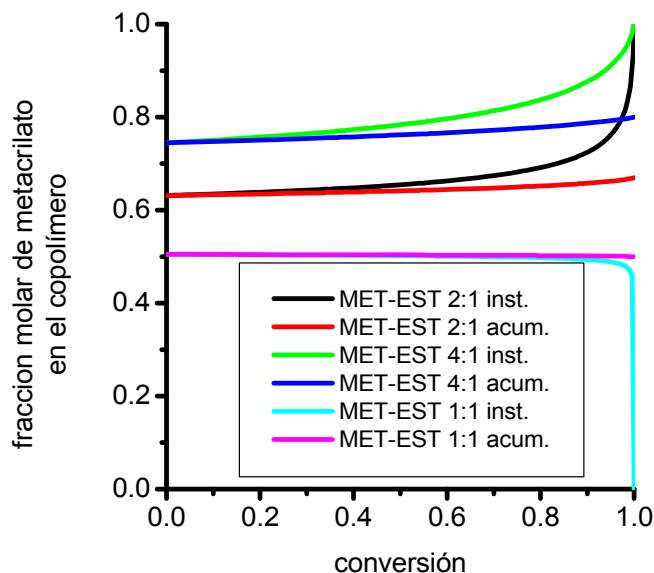
$F_1$  y  $F_2$  representan las fracciones molares de monómero en la alimentación y  $f_1$  y  $f_2$  en el copolímero. Esta ecuación se conoce como ecuación general de copolimerización y expresa la composición instantánea de un copolímero en función de las relaciones de reactividad y de la composición de los monómeros en la alimentación. Además, ha sido confirmada experimentalmente, habiéndose establecido los valores de las relaciones de reactividad para una amplia gama de pares monoméricos. Los parámetros  $r_1$  y  $r_2$  definen las características cinéticas de las reacciones de polimerización que siguen un modelo terminal. Pueden tomar valores mayores o menores que la unidad e indican la tendencia de un monómero a copolimerizar. Así, un valor de  $r_1$  menor que la unidad indica que el radical en crecimiento  $M_1^*$  reacciona más rápidamente con el monómero  $M_2$  que consigo mismo, mientras que un valor de  $r_1$  mayor que la unidad indica que  $M_1^*$  reacciona a mayor velocidad consigo mismo que con  $M_2$ .

En definitiva, el ordenamiento de las unidades durante el crecimiento de las cadenas viene gobernado por estos parámetros, y las interacciones entre las diferentes unidades en el copolímero juegan un papel muy importante en el comportamiento del material en medios acuosos.

La copolimerización simultánea de cualquiera de los metacrilatos de hidroxiprolina y estireno en un recipiente cerrado es en principio una copolimerización intrínsecamente heterogénea en cuanto a las composiciones de los copolímeros frente al tiempo. Tomando como modelo la reacción metacrilato de metilo/estireno en DMF, y usando los datos descritos en la



bibliografía ( $r_{\text{metmetilo}}=0.58$ ,  $r_{\text{estir}}=0.55$ )<sup>151</sup> podemos predecir el curso de la reacción tal y como se muestra en la figura 4.13 para reacciones con relaciones molares iniciales en alimentación de 4:1, 2:1 y 1:1 (MET-EST).<sup>152</sup>



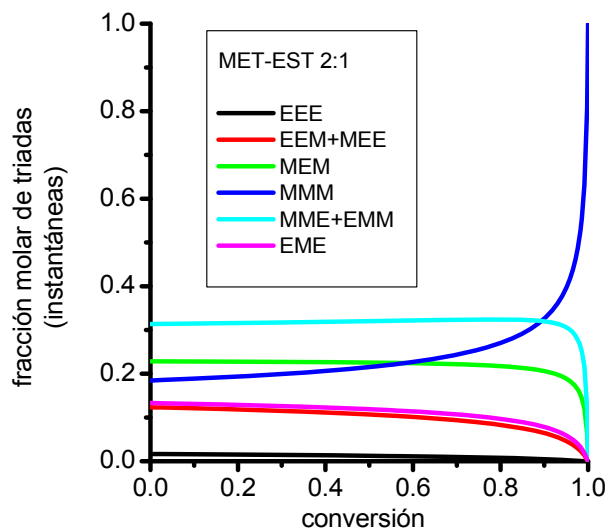
**Figura 4.13.** Fracción molar de metacrilato de metilo en el copolímero frente a la conversión, para distintos copolímeros en relaciones metacrilato de metilo:estireno 2:1, 1:1 y 4:1 .

Se puede observar que para las reacciones 2:1 y 4:1 el metacrilato es menos reactivo (las fracciones molares iniciales de monómeros son 0.67 y 0.8 respectivamente, y los primeros copolímeros son 0.63 y 0.74) y por eso el medio se enriquece en el mismo y los copolímeros son progresivamente más ricos en metacrilato. La reacción 1:1 sería casi homogénea.

Otro aspecto interesante es la distribución de unidades. Es bien sabido que los metacrilatos y el estireno tienden a la alternancia por cuestiones principalmente de polaridad (los sustituyentes confieren polaridades opuestas). Una cadena acabada en metacrilato prefiere reaccionar con estireno y viceversa (es por esto que las relaciones de reactividad ( $r$ ) son en ambos casos menores que la unidad). En este sentido se puede analizar la distribución en términos de secuencias, por ejemplo de tríadas como se ve en la figura 4.14 para la relación 2:1.<sup>152</sup> De las tríadas centradas en estireno, las más pobladas son las alternantes MEM.

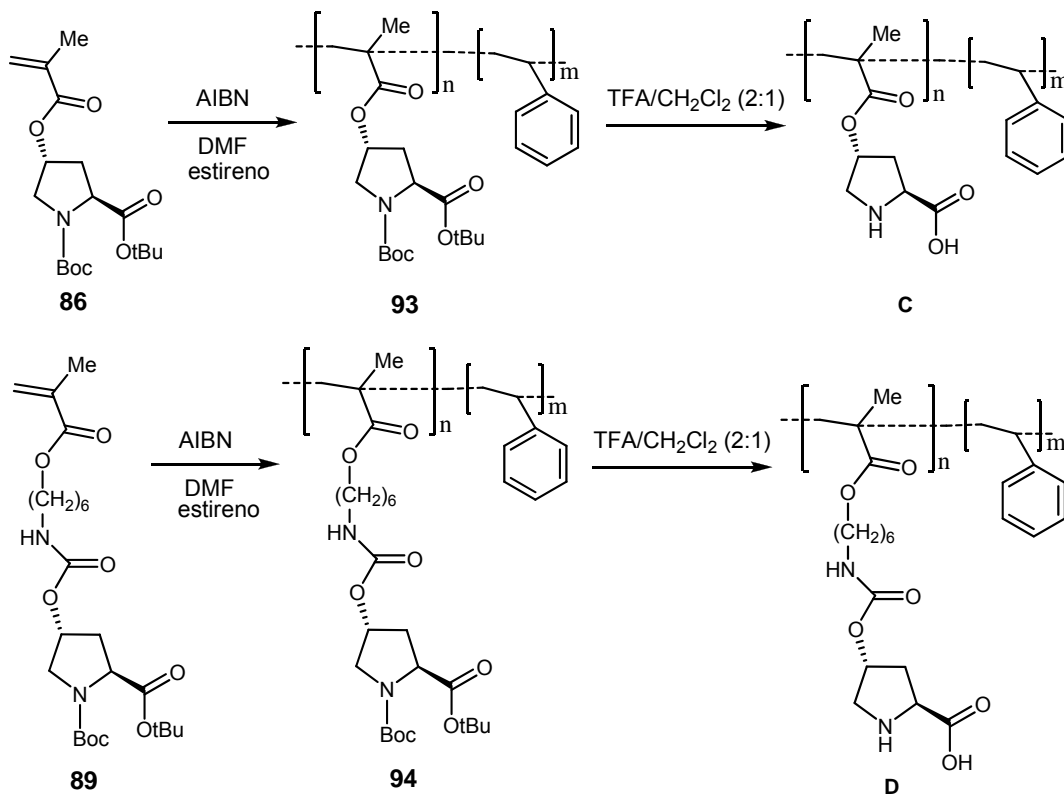
<sup>151</sup> Fujihara, H.; Yamakazi, K.; Matsubara, Y.; Yoshihara, M.; Maeshima, T. *J. Macromol. Sci. Chem. A*, **1979**, *13*, 1081-1088.

<sup>152</sup> Esta predicción se llevó a cabo empleando el software Copol®, A. Gallardo, CSIC, **2004**.



**Figura 4.14.** Fracción molar de tríadas instantáneas en el copolímero frente a la conversión, para una relación metacrilato de metilo:estireno 2:1 .

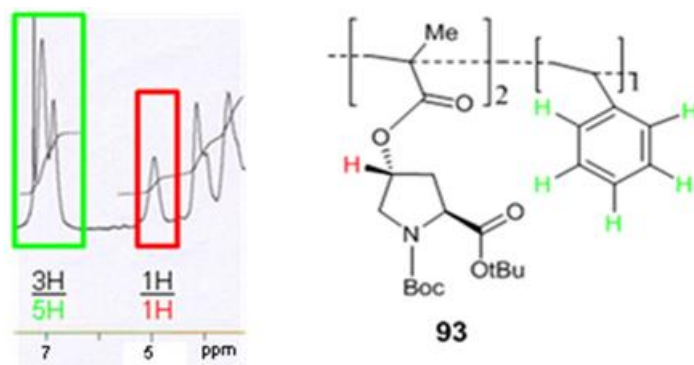
Una vez realizada esta breve introducción sobre las reacciones de copolimerización, a continuación se describe cómo se llevaron a cabo en nuestro caso, según se muestra en el esquema 4.5.



**Esquema 4.5.** Síntesis de los polímeros **C** (arriba) y **D** (abajo).

El copolímero **C** (esquema 4.5, arriba), se preparó mediante la copolimerización del monómero **86**, que había sido sintetizado previamente, y estireno en la relación apropiada. Por cuestiones de solubilidad y como a priori no podíamos saber cómo se iban a comportar en la polimerización, escogimos como primera aproximación una relación de monómeros **86**:estireno 2:1. La polimerización se llevó a cabo en DMF y en presencia de AIBN como iniciador radicalico para dar lugar al copolímero **93**.

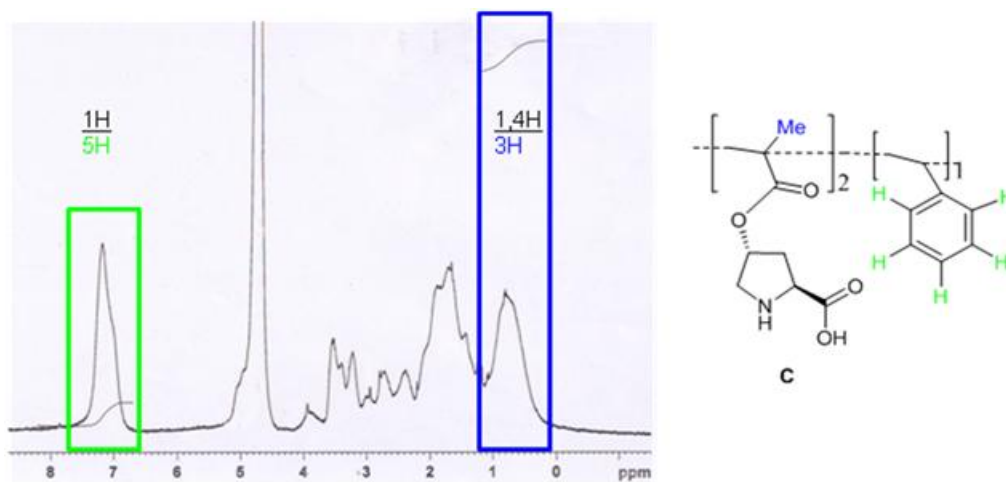
Mediante el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de este polímero se pudo confirmar la conversión de monómero a polímero, puesto que aparecieron picos anchos de estireno en la zona aromática, en torno a 7 ppm. Además, tomando como referencia la integral de los protones aromáticos y comparándola con una de las señales correspondientes al anillo de prolina, se pudo confirmar la relación entre los dos monómeros en el copolímero resultante. Así, eligiendo por ejemplo el singlete ancho a 5 ppm (figura 4.15) correspondiente al protón en posición 4 del anillo de prolina, puede observarse en este caso que la relación de integrales es aromáticos (5H): protón de la prolina (1H), 3:1, lo cual nos indica que la relación entre los dos monómeros en **93** es aproximadamente 1:2 estireno:prolina.



**Figura 4.15.** Sección del espectro de  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K) del polímero **93** donde se puede ver la relación de integrales escogida para el cálculo de la relación entre los monómeros.

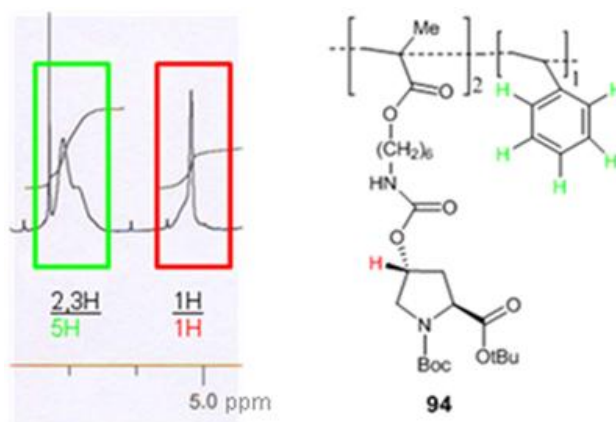
La hidrólisis ácida de los grupos protectores dio lugar al polímero **C**, cuya purificación se llevó a cabo por precipitación en el punto isoeléctrico. En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN puede observarse la desaparición de las señales correspondientes a los grupos *tert*-butilo, indicando que la desprotección fue completa (figura 4.16). En este caso puede corroborarse la relación entre los

monómeros mediante la relación de integrales de la señal correspondiente a los protones aromáticos del estireno (7-7.5 ppm) y la señal de los metilos provenientes del grupo metacrililo, que aparecen entre 0 y 1 ppm.



**Figura 4.16.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K) del polímero **C** donde se puede ver la relación de integrales escogida para el cálculo de la relación entre los monómeros.

El copolímero **D** se preparó del mismo modo, pero empleando en este caso estireno y el monómero **89** que presentaba el espaciador hidrocarbonado también en relación estireno:**89** 1:2 (esquema 4.5, abajo). En la figura 4.17 aparece el espectro de  $^1\text{H}$  RMN del copolímero protegido **94**. La relación de los monómeros en el copolímero se calculó del mismo modo que para el caso de **93**, resultando de nuevo estireno: prolina 1:2. La desprotección se llevó a cabo en las mismas condiciones que en el caso del polímero **C**.

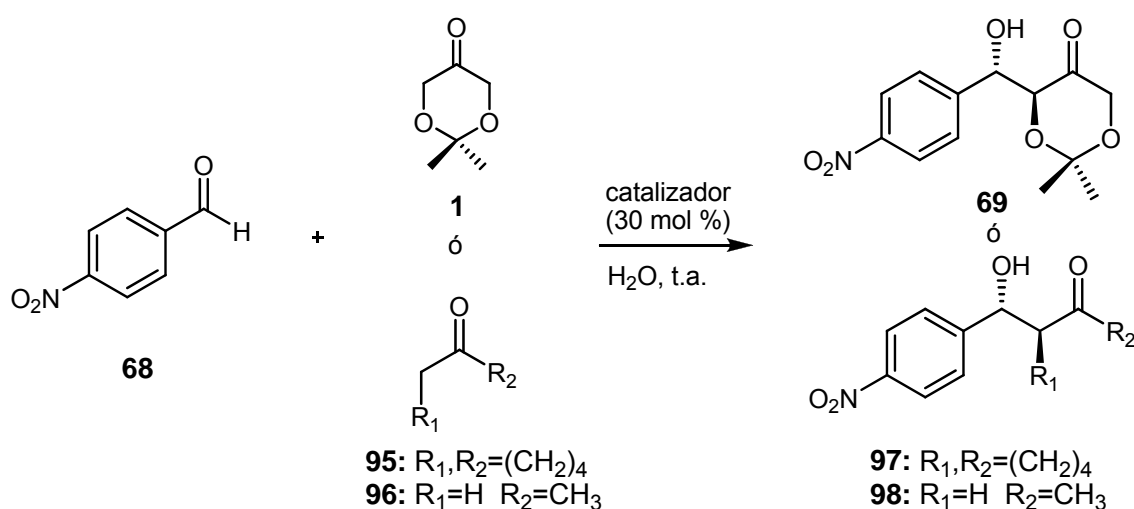


**Figura 4.17.** Sección del espectro de  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K) del polímero **94** donde se puede ver la relación de integrales escogida para el cálculo de la relación entre los monómeros.

### 4.2.6 Evaluación de los copolímeros C y D como catalizadores de la reacción aldólica

Una vez sintetizados los copolímeros nos propusimos evaluar su eficiencia como catalizadores de la reacción aldólica en agua. Para ello llevamos a cabo el estudio de la reacción catalizada por los polímeros **C** y **D**, entre 4-nitrobenzaldehído (**68**) y tres cetonas diferentes: dioxanona (**1**), ciclohexanona (**95**) y acetona (**96**) (tabla 4.2).

**Tabla 4.2.** Reacción aldólica entre **68** y distintas cetonas en presencia de los polímeros **C** y **D**.



Entrada	Catalizador	Cetona	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	<b>C</b>		24	97	1,4:1	46
2	<b>D</b>		24	85	1:3	0
3	<b>C</b>		2	93	2:1	8
4	<b>D</b>		2	97	2:1	4
5	<b>C</b>		24	99		2
6	<b>D</b>		24	97		2

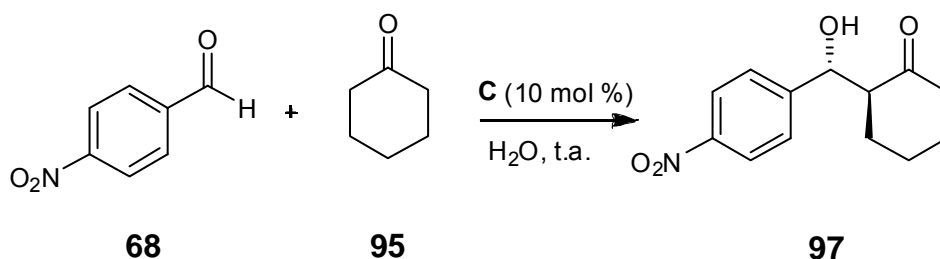
<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup> Determinado por HPLC; Los valores de e.e. se refieren al diastereoisómero mayoritario, (en el caso de la acetona, se refieren al enantiómero *R*).

Para solubilizar los copolímeros en agua fue necesario un tratamiento previo de adición gota a gota de NaOH 100 mM hasta pH= 8, y posteriormente la disolución se llevaba al volumen final necesario con una disolución tampón

(tampón fosfato 100 mM, pH= 7). La tabla 4.2 nos muestra los resultados obtenidos en la catálisis: en primer lugar cabe destacar que en todos los casos la reacción tuvo lugar con excelentes conversiones (85-99%). Este dato muestra que la introducción de comonómeros hidrofóbicos en el polímero realmente tiene una influencia positiva a la hora de llevar a cabo las reacciones aldólicas en agua, puesto que con los homopolímeros no se obtuvieron resultados significativos en este disolvente. Los resultados parecen indicar que la presencia de grupos hidrofóbicos en el catalizador ayuda a la creación de un microentorno hidrofóbico en el que tiene lugar la reacción en agua. En este contexto cabe mencionar que con el sustrato donador más hidrófobo, la ciclohexanona, las reacciones fueron mucho más rápidas (entradas 3 y 4), ya que en dos horas prácticamente se habían completado. No se observaron diferencias significativas de comportamiento entre los dos polímeros; únicamente en el caso de la dioxanona se obtuvo como isómero mayoritario el *sin* (entrada 2), cuando **D** fue usado como catalizador, mientras que en el resto de los casos era el *anti* el diastereoisómero mayoritario. No obstante, las estereoselectividades obtenidas (tanto diastereo- como enantioselectividades) fueron bajas en todos los casos.

Dado que las conversiones obtenidas fueron elevadas, intentamos reducir la cantidad de catalizador empleada en las reacciones, bajando de un 30% a un 10%. Escogimos como reacción aldólica modelo la reacción entre 4-nitrobenzaldehído (**68**) y ciclohexanona (**95**), catalizada por el polímero **C**, y evaluamos distintas condiciones de reacción (tabla 4.3) con el fin de encontrar condiciones que condujeran a estereoselectividades cuando menos satisfactorias.

**Tabla 4.3.** Reacción aldólica entre **68** y ciclohexanona (**95**) empleando el polímero **C** como catalizador.



Entrada	pH	T <sup>a</sup> (°C)	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	anti:sin <sup>a</sup>	ee anti <sup>b</sup> (%)	ee sin <sup>b</sup> (%)
1	7	25	6	88	1:1	26	34
2 <sup>c</sup>	7	25	20	90	1:1	34	40
3	6	25	20	80	1:1	38	34
4	8	25	6	96	1:1	30	36
5 <sup>d</sup>	8	25	6	10	n.d. <sup>e</sup>	n.d.	n.d.
6	7	4	48	99	1:1	24	36
7	7	50	6	97	1:1	46	32

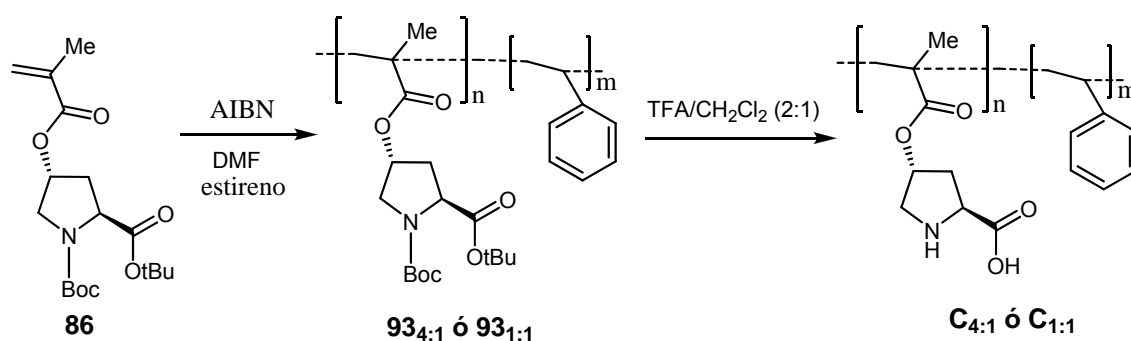
<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup> Determinado por HPLC <sup>c</sup> Los sustratos se encontraban a una concentración 8,5 veces mayor. <sup>d</sup> Control llevado a cabo sin catalizador. <sup>e</sup> n.d.: no determinado.

Las reacciones tuvieron lugar con conversiones muy elevadas incluso empleando únicamente un 10% en moles de catalizador. Sin embargo, ni el empleo de un medio de reacción más concentrado (entrada 2), ni variaciones en el pH (entradas 3 y 4) o la temperatura (entradas 6 y 7) provocaron mejoras significativas en la estereoselectividad.

#### ***Efecto de la relación prolina: estireno en el copolímero***

Dados los resultados obtenidos nos propusimos evaluar si la relación entre los dos comonómeros podía influir de alguna manera en la catálisis. Dado que los ensayos previos habían sido realizados con el polímero en relación prolina:estireno 2:1, decidimos preparar ahora nuevos polímeros en relaciones 4:1 y 1:1. Como monómero derivado de prolina escogimos el producto **86**.

La síntesis de los nuevos copolímeros se llevó a cabo de la misma forma que para la preparación del polímero **C**, cambiando únicamente las relaciones iniciales entre los dos monómeros, según se describe en el esquema 4.5:



**Esquema 4.5.** Síntesis de los polímeros **C<sub>4:1</sub>** ( $n = 4$ ,  $m = 1$ ) y **C<sub>1:1</sub>** ( $n = 1$ ,  $m = 1$ ).

Las polimerizaciones se llevaron a cabo de igual forma en DMF y en presencia de AIBN como iniciador radicalico para dar lugar a los copolímeros **93<sub>4:1</sub>** y **93<sub>1:1</sub>**. De nuevo, la relación entre las integrales de los protones aromáticos y las de las señales correspondientes al anillo de prolina nos sirvieron para confirmar la relación entre los dos monómeros en los copolímeros resultantes.

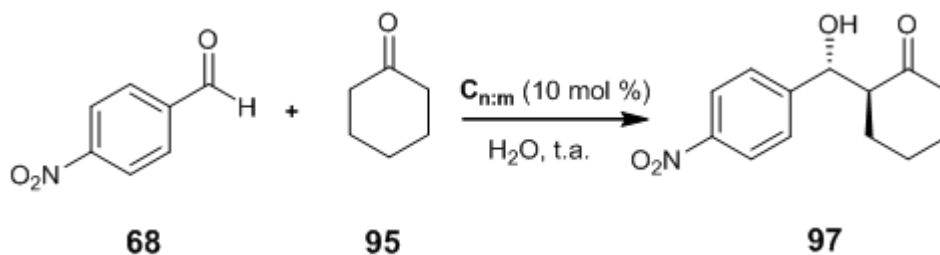
La hidrólisis ácida de los grupos protectores dio lugar a los polímeros **C<sub>4:1</sub>** y **C<sub>1:1</sub>**, cuya purificación se llevó a cabo, igual que en los casos anteriores, por precipitación en el punto isoeléctrico.

Una vez sintetizados los nuevos polímeros, evaluamos su actividad como catalizadores de la reacción aldólica entre 4-nitrobenzaldehído (**68**) y ciclohexanona (**95**) (tabla 4.4). Con fines comparativos aparecen también representados en la tabla los datos obtenidos previamente con **C<sub>2:1</sub>**.

Los resultados obtenidos indican que a medida que aumenta la cantidad de estireno presente en el copolímero la reacción es más rápida. Estas observaciones ponen de manifiesto una vez más la necesidad de grupos hidrófobos presentes en el catalizador para que la reacción pueda tener lugar en agua. Es lógico por tanto que el entorno hidrofóbico creado en el cual tiene lugar la asociación de los reactivos sea más eficaz cuanto mayor es la cantidad de estireno presente en el catalizador.



**Tabla 4.4.** Reacción aldólica entre **68** y **95** empleando el polímero **C** con diferente composición de monómeros como catalizador.



Entrada	Catalizador	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <i>anti</i> <sup>b</sup> (%)	ee <i>sin</i> <sup>b</sup> (%)
1	<b>C</b> <sub>4:1</sub>	20	90	1:1	34	20
2	<b>C</b> <sub>2:1</sub>	6	88	1:1	26	34
3	<b>C</b> <sub>1:1</sub>	6	96	1:1	28	38

<sup>a</sup>Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup>Determinado por HPLC.

Sin embargo, tampoco en estos casos se produjeron cambios considerables en la estereoselectividad de las reacciones.

Esta pérdida de estereoselectividad al llevar a cabo las reacciones en agua ha sido observada por otros autores.<sup>34a,135,153</sup> Hay que tener en cuenta que en síntesis estereoselectiva, la eficiencia puede definirse como la posesión del conocimiento y el control de todos los factores que influyen la disposición espacial de los reactivos a medida que la reacción transcurre.<sup>154</sup> Estos factores pueden ser fáciles de reconocer y manipular cuando las interacciones entre el disolvente y los reactivos son tan insignificantes que pueden ser excluidas del mecanismo. Éste suele ser el caso cuando se usan disolventes apróticos de baja polaridad. Sin embargo, el agua es un disolvente que puede participar mediante interacciones electrostáticas y formación de enlaces de hidrógeno, y por lo tanto debe ser tenido en cuenta en cualquier modelo mediante el cual se intente explicar o predecir el transcurso de una reacción estereodiferenciadora.

En nuestro caso podría estar ocurriendo que el enlace de hidrógeno que se debe formar entre el hidroxilo del ácido de la prolina y el carbonilo del aldehído

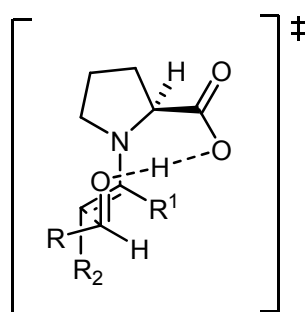
<sup>34a</sup> Mase, N.; Nakai, Y.; Ohara, N.; Yoda, H.; Takabe, K.; Tanaka, F.; Barbas, C. F. III *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 734-735.

<sup>135</sup> Córdova, A.; Notz, W.; Barbas, C. F., III, *Chem. Commun.* **2002**, 3024-3025.

<sup>153</sup> Chimni, S. S.; Mahajan, D.; Babu, V.V. S. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5617-5619.

<sup>154</sup> Lindstrom, U. M. *Chem Rev.* **2002**, *102*, 2751-2772.

aceptor (figura 4.18), pueda estar rompiéndose en agua. La formación del mismo se ha mostrado ya como imprescindible tanto para el rendimiento como para la estereoselectividad de las reacciones aldólicas catalizadas por prolina;<sup>2a,45,46,50a,52c</sup> por tanto, no sería descabellado pensar que ésta fuese la causa de la falta de estereoselectividad observada en nuestras reacciones.



**Figura 4.18.** Estado de transición para el ataque nucleófilo de la enamina al aldehído en la reacción aldólica catalizada por prolina.

#### ***Efecto de la adición de sales sobre el progreso de la reacción***

Llegados a este punto nos planteamos la posibilidad de la adición de sales al medio de reacción, con el fin de evaluar si el aumento de la fuerza iónica del medio podía ejercer algún efecto sobre la conformación adoptada por el polímero en el medio acuoso, lo cual podría ejercer a su vez cierta influencia en el transcurso de la reacción.

Como ha sido comentado anteriormente, la solubilización de los copolímeros en el medio de reacción no era tarea fácil, y nos veíamos obligados a realizar un tratamiento previo elevando el pH para, una vez disueltos, llevar la mezcla al pH deseado empleando disoluciones tampón. Únicamente para la disolución del copolímero **C<sub>4:1</sub>** este tratamiento no fue necesario. Nos planteamos que quizá la adición de sales en el medio de reacción podrían también favorecer la solubilidad de nuestros polianfolitos por

<sup>2a</sup> List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-2396.

<sup>45</sup> Clemente, F. R.; Houk, K. N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5766-5768.

<sup>46</sup> (a) Bahmanyar, S.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11273-11283. (b) Bahmanyar, S.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12911-12912. (c) Allemann, C.; Gordillo, R.; Clemente, F. R.; Cheong, P. H. -Y.; Houk, K. N. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 558-569. (d) Clemente, F. R.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11294-11302.

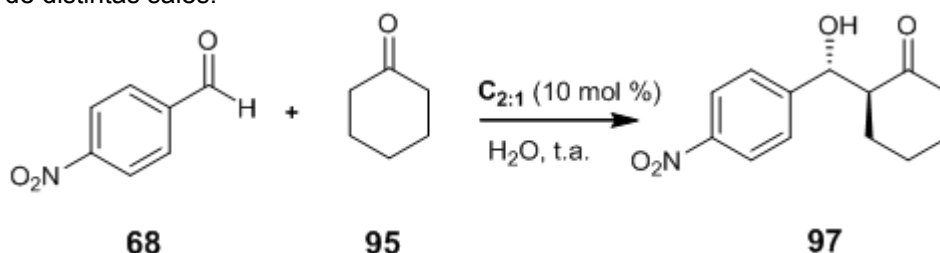
<sup>50a</sup> Nakadai, M.; Saito, S.; Yamamoto, H. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8167-8177.

<sup>52c</sup> He, L.; Cun, L. -F.; Mi, A. -Q.; Jiang, Y. -Z.; Gong, L. -Z. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 346-351.

efecto salino.

Llevamos a cabo por tanto las reacciones aldólicas con el polímero **C**<sub>2:1</sub> como catalizador tanto en agua como en tampón fosfato 100mM (pH=7) y en presencia de distintas concentraciones de sales. Los resultados de las reacciones se muestran en la tabla 4.5.

**Tabla 4.5** Reacción aldólica entre **68** y **95** empleando el polímero **C**<sub>2:1</sub> como catalizador y con adición de distintas sales.



Entrada	Sal, concentración	Disolvente	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>a,b</sup> (%)
1	LiCl 1M	tampón	48	83	1,5:1	40
2	MgCl <sub>2</sub> 1M	tampón	168	64	3:1	78
3	MgCl <sub>2</sub> 1M <sup>c</sup>	tampón	48	65	2:1	74
4	MgCl <sub>2</sub> 1M	agua	96	45	4:1	90
			168	64	5:1	88
5	MgCl <sub>2</sub> 0,5M	tampón	168	58	3:1	77
6	MgCl <sub>2</sub> 0,5M	agua	168	66	7:1	94
7	MgCl <sub>2</sub> 0,1M	tampón	24	72	1:1	34
8	MnCl <sub>2</sub> 1M	agua	96	38	3:1	92
9	CaCl <sub>2</sub> 1M	agua	96	28	3:1	74
10	BaCl <sub>2</sub> 1M	agua	96	26	3:1	86

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup> Determinado por HPLC; los e.e. están referidos al isómero mayoritario. <sup>c</sup> La reacción se llevó a cabo a 50°C.

Para nuestra sorpresa pudimos comprobar que, además del aumento de solubilidad del polímero en agua, las reacciones en presencia de estas sales mostraron unas estereoselectividades superiores a las que veníamos obteniendo en todos los casos con estos catalizadores, con la excepción de la reacción en presencia de LiCl 1M (entrada 1). En este caso los resultados obtenidos tanto de rendimiento como de diastereoselectividad fueron similares a los obtenidos en la catálisis homogénea sin aditivos. Sin embargo, las

reacciones llevadas a cabo en presencia de cationes divalentes mostraron un aumento considerable tanto en las diastereo- como en las enantioselectividades obtenidas, pero los tiempos de reacción se alargaron con respecto a las llevadas a cabo sin estos aditivos. Los experimentos en presencia de sales de manganeso, calcio y bario únicamente se llevaron a cabo en agua, puesto que ninguna de estas sales fue soluble en el medio tamponado. Para unas mismas condiciones de reacción, los mejores resultados se obtuvieron con el catión magnesio (entrada 4 frente a 8, 9 y 10). El aumento de la temperatura provocó un aumento en la reactividad pero unas estereoselectividades menores (entrada 3 frente a 2). Además, para el caso de este ión divalente, las reacciones en agua dieron lugar a unas estereoselectividades mayores que las llevadas a cabo en medio tamponado. Por otra parte, la disminución de la concentración de la sal a la mitad dio lugar a unos rendimientos similares y mejores diastereo- y enantioselectividades (*anti:sin* 7:1 y 94% ee, entrada 4). Al disminuir esta concentración hasta 100 mM se perdió este efecto, obteniendo resultados similares a los previos sin adición de sales.

Demir y colaboradores afirmaron en una publicación que para hacer a un buen catalizador perfecto, el papel de aditivos adecuados o cocatalizadores puede ser crucial a la hora de aumentar la reactividad y estereoselectividad del sistema catalítico.<sup>155</sup>

Recientemente han sido publicados unos resultados por el grupo de Jørgensen, los cuales describían un aumento de la enantioselectividad en la reacción aldólica entre metilglioxal y acetona catalizada por prolinamidas al añadir sales de magnesio.<sup>156</sup> Este incremento de selectividad es explicado como resultado de un cambio en el mecanismo hacia uno que conlleve control mediante quelación por el ión magnesio.

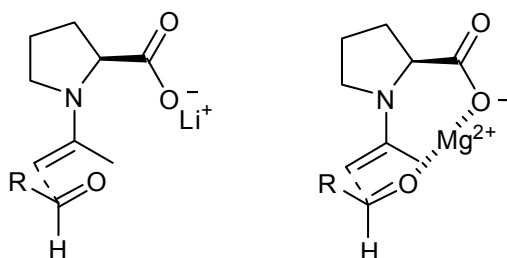
Los datos obtenidos en nuestro grupo parecen confirmar esta hipótesis, mostrando que la quelación mediante el ión magnesio puede presentar un estereocontrol en la reacción aldólica en agua, favoreciendo el estado de transición que da lugar al estereoisómero *anti* mayoritario, sin necesidad de la

---

<sup>155</sup> Reis, O.; Eymur, S.; Reis, B.; Demir, A. S. *Chem. Commun.*, **2009**, 1088-1090.

<sup>156</sup> Alberg, D. G.; Poulsen, T. B.; Bertelsen, S.; Christensen, K. L.; Birkler, R. D.; Johannsen, M.; Jørgensen, K. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 3888-3891.

formación del enlace de hidrógeno que era anteriormente mostrado como esencial para la obtención de estereoselectividades aceptables. En el caso del litio, este ión no presenta la capacidad de quelación que presenta el ión magnesio divalente, y por tanto no es capaz de estabilizar el estado de transición, obteniéndose así las bajas estereoselectividades mostradas (figura 4.19).

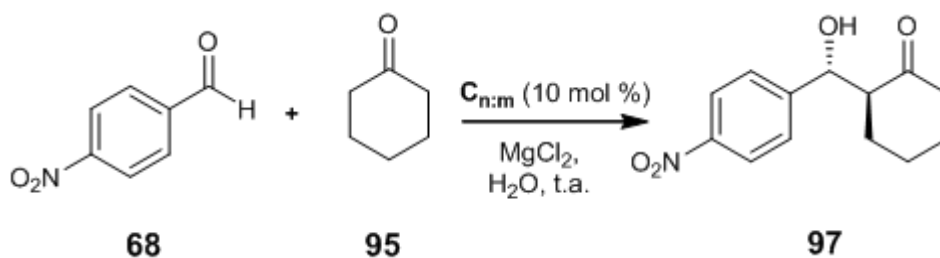


**Figura 4.19.** Estados de transición para la formación del diastereoisómero *anti* mayoritario en la reacción aldólica catalizada por prolina cuando se adicionan sales de Li (izquierda) ó sales de magnesio (derecha).

Otra posible explicación sería que el magnesio podría estar interaccionando con más de un resto de prolina de la cadena polimérica, ejerciendo un efecto de quelación entre sus grupos carboxilo, favoreciendo así que los restos de prolina del polímero adoptasen una disposición más favorable para la reacción aldólica en agua, ejerciendo un efecto de estabilización mayor para el estado de transición que da lugar al producto *anti*.

A la vista de los buenos resultados obtenidos en presencia de sales de magnesio, aplicamos estas condiciones a las reacciones aldólicas catalizadas por los polímeros **C<sub>4:1</sub>** y **C<sub>1:1</sub>**, para comprobar si el efecto observado podía extenderse también a estos catalizadores con distinta cantidad de estireno. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.6. Con fines comparativos aparecen también representados en la tabla los datos obtenidos previamente con **C<sub>2:1</sub>**.

**Tabla 4.6.** Reacción aldólica entre **68** y **95** empleando el polímero **C** con diferente composición de monómeros como catalizador.



Entrada	Catalizador	[MgCl <sub>2</sub> ] M	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	<b>C</b> <sub>4:1</sub>	1	96	18	3:1	66
2	<b>C</b> <sub>2:1</sub>	1	96	45	4:1	90
3	<b>C</b> <sub>1:1</sub>	1	96	60	5:1	92
4	<b>C</b> <sub>2:1</sub>	0,5	168	66	7:1	94
5	<b>C</b> <sub>1:1</sub>	0,5	55	82	>20:1	96

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup> Determinado por HPLC; los e.e. están referidos al isómero mayoritario.

En la tabla puede observarse que estas reacciones mostraron también un aumento tanto en las diastereo- como en las enantioselectividades obtenidas, con respecto a aquéllas llevadas a cabo sin la adición de sales (tabla 4.4). Además, tanto los rendimientos como las estereoselectividades fueron mejores a medida que la cantidad de estireno presente en el catalizador era mayor. Las mejores condiciones de reacción se obtuvieron empleando el polímero **C**<sub>1:1</sub> como catalizador en presencia de cloruro de magnesio 0.5 M, dando lugar a un alto rendimiento (82%) tras 55h de reacción y excelente estereoselectividad, prácticamente un único estereoisómero.

### **Perspectivas futuras**

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la catálisis, en un futuro inmediato pretendemos abordar el estudio acerca del *ámbito de aplicabilidad* de nuestros copolímeros para las reacciones aldólicas empleando distintos sustratos a los utilizados en la reacción modelo.

Además, en las mejores condiciones obtenidas, se llevarán a cabo estudios con el objetivo de evaluar la posibilidad de *recuperación del catalizador* del

medio de reacción aprovechando sus propiedades de sensibilidad al pH, por precipitación en el punto isoeléctrico. Una vez recuperado se procederá a su reutilización, comprobando si mantiene su actividad catalítica tras varios ciclos.

#### 4.2.7 Polímeros lineales frente a polímeros entrecruzados

En el transcurso de nuestra investigación fueron publicados los resultados obtenidos por un grupo noruego<sup>157</sup> que describían una nueva aproximación sintética para la obtención de polímeros basados en monómeros de prolina y prolinamidas derivatizados como sus correspondientes metacrilatos y posterior polimerización con la finalidad de emplearlos como organocatalizadores. Esta metodología llamó rápidamente la atención de la comunidad científica, dedicándosele un artículo en la página web de la RSC<sup>158</sup> en el cual varios expertos en catalizadores soportados sobre polímeros destacaban la gran eficiencia de esta nueva aproximación, así como las ventajas y posible repercusión que podría tener en el desarrollo de futuros catalizadores.

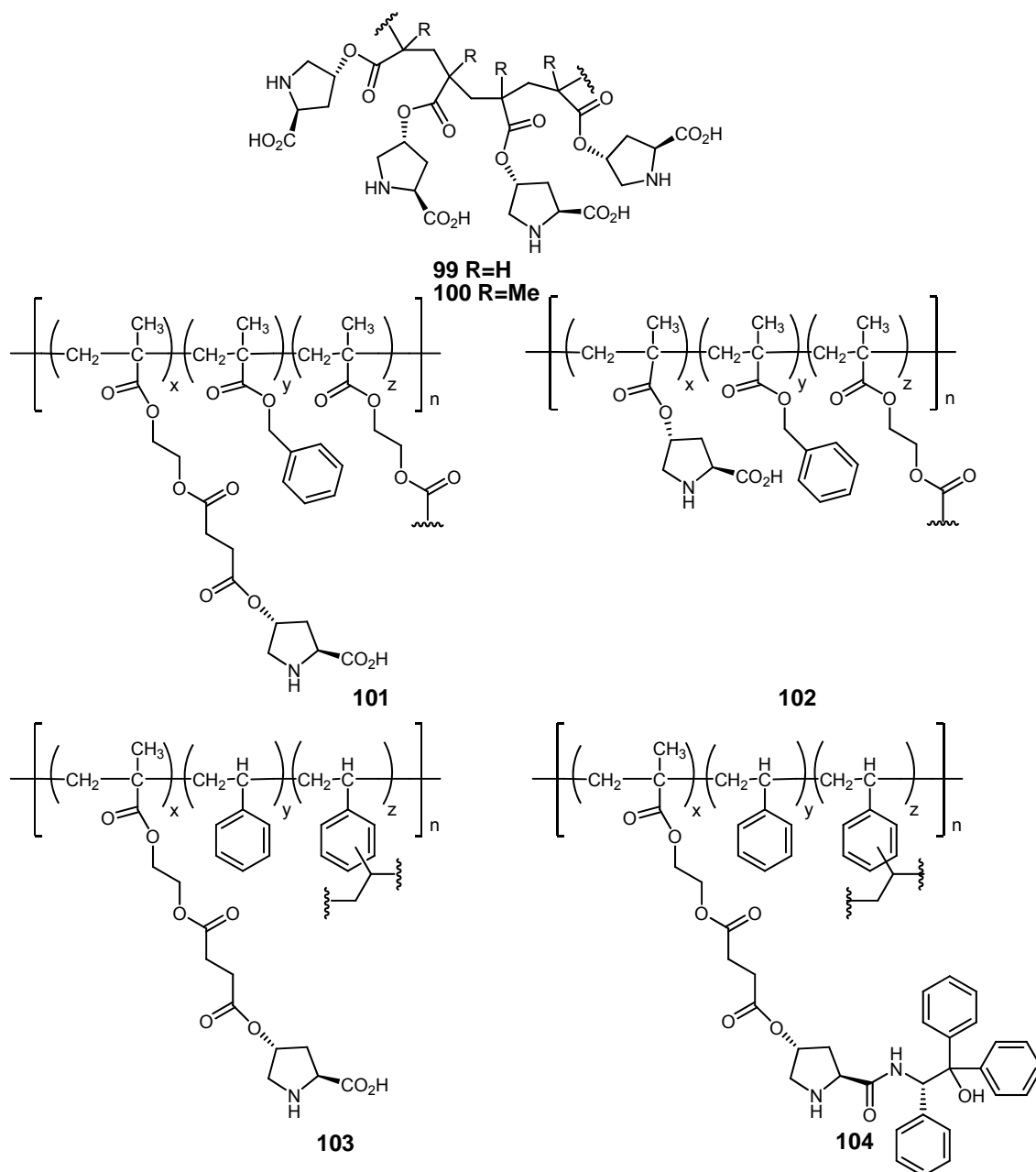
Sintetizaron así mediante polimerización vía radicales libres distintos homopolímeros y copolímeros empleando estireno y derivados como comonómeros (figura 4.20). Mientras que con los homopolímeros lineales **99** y **100** no obtuvieron buenos resultados para las reacciones aldólicas, los copolímeros entrecruzados **101-104** en los que centraron su trabajo, resultaron ser excelentes catalizadores, obteniéndose altas conversiones (65-91%) y excelentes diastereo- (88:12-99:1 *anti:sin*) y enantioselectividades (97-99%) para la reacción aldólica entre 4-nitrobenzaldehído y ciclohexanona en agua.

Estos resultados suponían una aproximación sintética para la obtención de polímeros basados en monómeros de prolina exactamente igual a la que había sido propuesta en nuestro grupo, además del empleo de estireno como comonómero, para la obtención de copolímeros que funcionasen como catalizadores en agua, en lo que también estábamos trabajando.

---

<sup>157</sup> (a) Kristensen, T. E.; Hansen, F. K.; Hansen, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 387-395. (b) Kristensen, T. E.; Vestli, K.; Fredriksen, K. A.; Hansen, F. K.; Hansen, T. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2968-2971.

<sup>158</sup> [www.rsc.org/chemistryworld/News/2009/June/17060901.asp](http://www.rsc.org/chemistryworld/News/2009/June/17060901.asp)



**Figura 4.20.** Distintos homo- y copolímeros sintetizados por el grupo de Hansen.

A pesar de ello, ambos trabajos presentan una diferencia fundamental en cuanto al tipo de polímero obtenido y empleado en la catálisis. El grupo de Hansen se centró en la obtención y el estudio de polímeros entrecruzados análogos a la tradicional resina de Merrifield, que formasen canales internos en los que tuviese lugar la reacción aldólica. Sin embargo, en nuestro caso, preparamos polímeros lineales, lo cual presenta ciertas ventajas, entre las cuales la principal es la mayor simplicidad de la reacción de polimerización, no siendo necesaria la adición de agentes entrecruzantes ni una optimización



previa de las condiciones de polimerización. Además, los polímeros entrecruzados presentan un límite de carga de prolina (0.5-0.8 mmol/g), mientras que nuestros polímeros lineales presentan una carga máxima de catalizador, que en los copolímeros dependerá de la proporción empleada entre prolina y estireno. Pero la diferencia más importante entre ambos trabajos es que en el caso del grupo de Hansen se emplea una catálisis heterogénea mientras que en nuestro caso el catalizador se encuentra soluble en el medio, con las diferencias que ambos sistemas presentan y que han sido comentadas en la introducción.

Además, también es importante destacar, como ya se ha comentado previamente, que tanto en nuestros polímeros lineales como en los entrecruzados de Hansen, los metacrilatos y el estireno tienden a la alternancia. Esta tendencia es especialmente relevante en nuestro caso, puesto que cantidad de estireno en los copolímeros es mayor, en la medida en que las interacciones entre las diferentes unidades en el copolímero juegan un papel muy importante en el comportamiento del material en medios acuosos.

No obstante, para que los nuevos catalizadores poliméricos homogéneos obtenidos en esta tesis doctoral sean competitivos frente a los existentes deberemos mostrar en un futuro inmediato que pueden recuperarse y reciclarse eficazmente.



## **CAPÍTULO 5**

### **DISEÑO DE ENZIMAS ARTIFICIALES BASADOS EN $\beta$ -CICLODEXTRINAS MODIFICADAS CON DERIVADOS DE PROLINA**

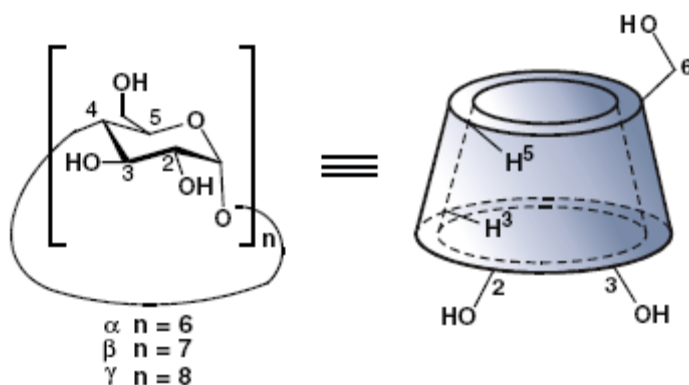


## 5.1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

### 5.1.1 Introducción a la química de las ciclodextrinas

La química supramolecular es esa disciplina de la química que comprende todas las interacciones intermoleculares donde no existen enlaces covalentes establecidos entre las especies intervinientes. La mayoría de estas interacciones son del tipo *anfitrión-huésped*. Entre las potenciales moléculas que pueden actuar como anfitrión, las ciclodextrinas parecen ser unas de las más importantes.

Como ya se comentó en el capítulo 1 de la presente memoria, las ciclodextrinas (CDs) son oligómeros cíclicos solubles en agua compuestos de unidades  $\alpha(1\rightarrow4)$ -D-glucopiranosido con conformación de silla  ${}^4C_1$ . Las CDs más comunes contienen seis ( $\alpha$ -CD), siete ( $\beta$ -CD) u ocho ( $\gamma$ -CD) unidades de glucosa (figura 1.8).

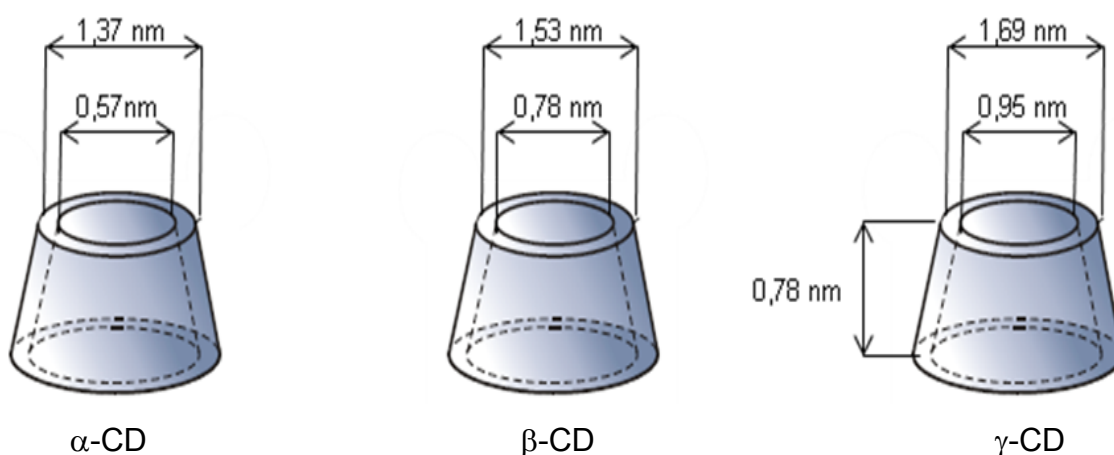


**Figura 1.8.** Estructura de las ciclodextrinas

Las CDs poseen una estructura en forma de cono truncado que es hidrofílica en el exterior y lipofílica en el interior de la cavidad. Esta hidrofobia interna es causada principalmente por los hidrógenos 3 y 5 del azúcar orientados hacia el interior de la cavidad. La hidrofilia externa es resultado de

los grupos alcohol del azúcar, que se encuentran localizados en los dos aros de la estructura cónica, orientados hacia afuera de la cavidad. El aro más pequeño (primario, superior) contiene los grupos hidroxilo en posición 6 y el más grande (secundario, inferior), los OH en posición 2 y 3.

El distinto número de unidades de glucosa confiere variaciones en el tamaño de las ciclodextrinas (figura 5.1). La pequeña  $\alpha$ -CD puede incluir en su cavidad estructuras moleculares estrechas como cadenas de ácidos grasos y cadenas alifáticas no ramificadas. La ligeramente mayor  $\beta$ -CD puede acomodar estructuras como fenilo, naftaleno o colesterol. Por último la  $\gamma$ -CD es lo suficientemente grande para incluir el Buckminsterfulereno de  $C_{60}$ , dando lugar a un complejo de inclusión púrpura.



**Figura 5.1.** Tamaño de las ciclodextrinas en función de las unidades de glucosa que las componen.

Las CDs se pueden obtener fácilmente a partir de la degradación enzimática del almidón, pudiéndose conseguir en grandes cantidades y a bajos precios.<sup>159</sup>

Son estas características hidrofóbicas/hidrofílicas las que hacen a las ciclodextrinas tan versátiles; como *anfitriones supramoleculares* pueden encapsular estructuras no polares en su cavidad siendo solubles en agua al mismo tiempo. En esto son similares a las enzimas, que también se basan en interacciones no covalentes para unir a sus sustratos al centro activo, en medios acuosos.

<sup>159</sup> Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1743-1753.

### **Empleo de ciclodextrinas como enzimas artificiales**

Las enzimas naturales son estructuras proteicas grandes de extrema complejidad molecular, pero su mecanismo de catálisis suele ser muy simple, en el cual solamente están involucrados unos cuantos aminoácidos. Por tanto, es posible construir un modelo simple de un centro activo para obtener una catálisis eficiente y selectiva, pero, como siempre, una simple idea en ciencia no es a veces tan simple de realizar.<sup>160</sup>

Llevar a cabo reacciones químicas selectivas sobre una molécula de CD que contiene de 18 a 21 funcionalidades no es una tarea fácil. Normalmente se lleva a cabo mediante monofuncionalización, pero en la última década, un nuevo método de desbencilación selectiva<sup>161</sup> se está llevando a cabo, mediante el cual es posible liberar una o dos funcionalidades alcohol en lados perpendiculares (azúcares A y D) del aro primario superior de una ciclodextrina perbencilada. Los grupos OH libres pueden ser entonces funcionalizados para desarrollar la actividad catalítica, mientras que el resto de la molécula de CD puede actuar como un centro activo, uniendo específicamente los sustratos en la cavidad.

Mediante estas estrategias de derivatización de ciclodextrinas se han obtenido diversos compuestos, que después han sido evaluados como miméticos de diferentes tipos de enzimas, como glicosidasas,<sup>31</sup> epoxidadas<sup>32</sup> y oxidadas,<sup>31d,33</sup> entre otras (compuestos **27**, **28** y **29**, respectivamente, en figura 1.9).

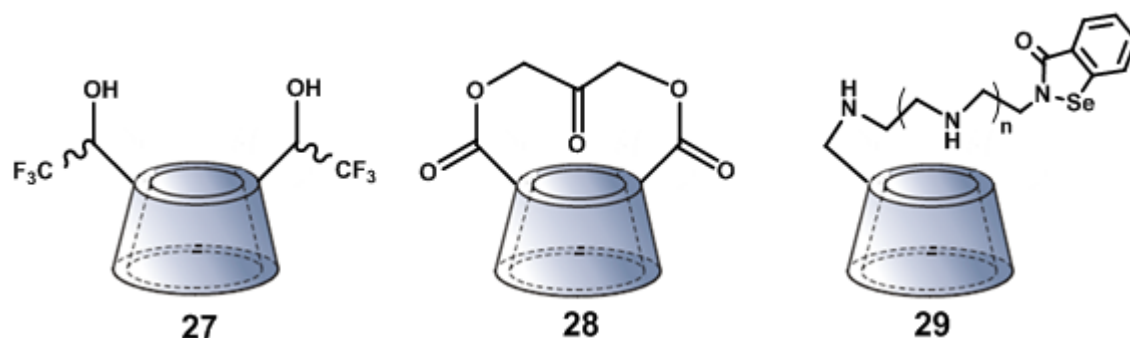
<sup>31</sup> (a) Rousseau, C.; Nielsen, N.; Bols, M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8709-8711. (b) Ortega-Caballero, F.; Bols, M. *Can. J. Chem.* **2006**, *84*, 650-658. (c) Ortega-Caballero, F.; Rousseau, C.; Christensen, B.; Petersen, T. E.; Bols, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3238-3239. (d) Bjerre, J.; Fenger, T. H.; Marinescu, L. G.; Bols, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *4*, 704-710.

<sup>32</sup> (a) Rousseau, C.; Christense, B.; Petersen, T. E.; Bols, M. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3476-3482. (b) Rousseau, C.; Christensen, B.; Bols, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *13*, 2734-2739.

<sup>33</sup> (a) Dong, Z. Y.; Huang, X.; Mao, S. Z.; Liang, H.; Liu, J. Q. , Luo, G. M.; Shen, J. C. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 3575-3579. (b) Liu, Y.; li, B.; Zhang, H. Y. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 9-18. (c) Marinescu, L.; Bols, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4590-4593. (d) Lopez, O. L.; Marinescu, L.; Bols, M. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 8872-8880. (e) Yuan, D. Q.; Atsumi, M.; Yan, J. M.; Kai, M.; Fujita, K. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2932-2939. (f) Yuan, D. Q.; Lu, J.; Atsumi, M.; Izuka, A.; Kai, M.; Fujita, K. *Chem. Comm.* **2002**, *7*, 730-731.

<sup>160</sup> Bjerre, J.; Rousseau, C.; Marinescu, L.; Bols, M. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *81*, 1-11.

<sup>161</sup> Pearce, A. J.; Sinaÿ, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3610-3611.



**Figura 1.9.** Ciclodextrinas modificadas para la obtención de miméticos de diferentes enzimas.

Además, en el grupo de Breslow se han sintetizado derivados de ciclodextrinas con distintas funcionalidades amino sobre el lado de los hidroxilos primarios como miméticos de aldolasas de tipo I, consiguiendo así catalizar reacciones aldólicas en agua.<sup>162</sup>

### 5.1.2 Moléculas basadas en ciclodextrinas como catalizadores de la reacción aldólica

El primer ejemplo de reacción aldólica en el que aparecen ciclodextrinas como especies intervinientes fue el publicado por Watanabe y colaboradores en 1985.<sup>163</sup> En él se describe la reacción aldólica entre 4-nitrobenzaldehído y acetona catalizada por complejos metálicos de ésteres de  $\alpha$ -aminoácidos. El sistema más efectivo fue el formado por un complejo de zinc(II) del éster etílico de la tirosina con la asistencia de una  $\beta$ -ciclodextrina (CD-Zn<sup>II</sup>-TyrOEt 1:1:1), mediante el cual se obtuvieron rendimientos muy elevados en agua, pero no se observó inducción asimétrica.

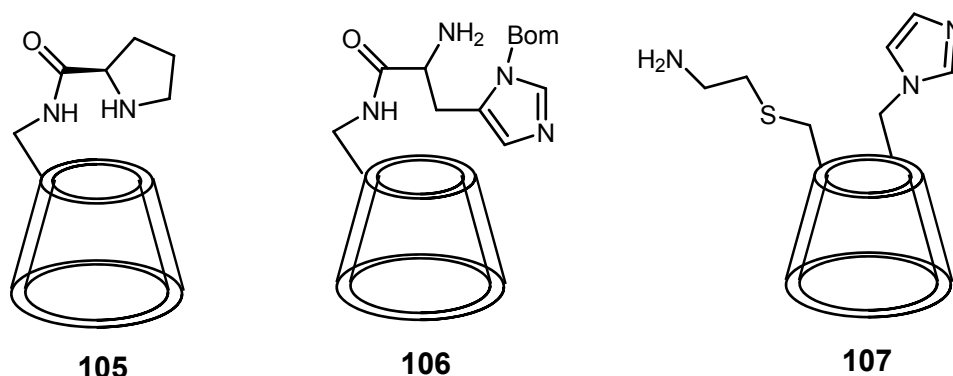
Posteriormente, en el grupo de Breslow se sintetizaron diversas  $\beta$ -ciclodextrinas mono- y bifuncionalizadas (figura 5.2) como miméticos de aldolasas de tipo I, algunas de las cuales mostraron elevadas constantes de velocidad relativa ( $k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}}$ ) para la reacción aldólica entre *m*-nitrobenzaldehído y *p*-*terc*-butilbenzaldehído con acetona. Sin embargo, en la

<sup>162</sup> Yuan, D. -Q.; Dong, S. D.; Breslow, R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 7673-7676.

<sup>163</sup> Watanabe, K. -I.; Yamada, Y.; Goto, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, 58, 1401-1406.



publicación no se menciona ningún dato acerca de las estereoselectividades obtenidas.



**Figura 5.2.** Ciclodextrinas modificadas por el grupo de Breslow como miméticos de aldolasas.

Zhang y colaboradores explotaron una interesante técnica de inmovilización no covalente a la que ya se hizo referencia en el capítulo 3, sirviéndose del anillo aromático presente en la 4-fenoxiprolina para incluirlo en la cavidad de una  $\beta$ -ciclodextrina (**108**, figura 5.3).<sup>95</sup> Obtuvieron así rendimientos del 90% y 83% ee para la reacción aldólica entre acetona y 2-nitrobenzaldehído. El catalizador se pudo recuperar por filtración y fue empleado hasta tres veces con ligeras pérdidas de rendimiento (90% 1<sup>a</sup> vez; 79% 4<sup>a</sup> vez) y sin cambios en el ee.

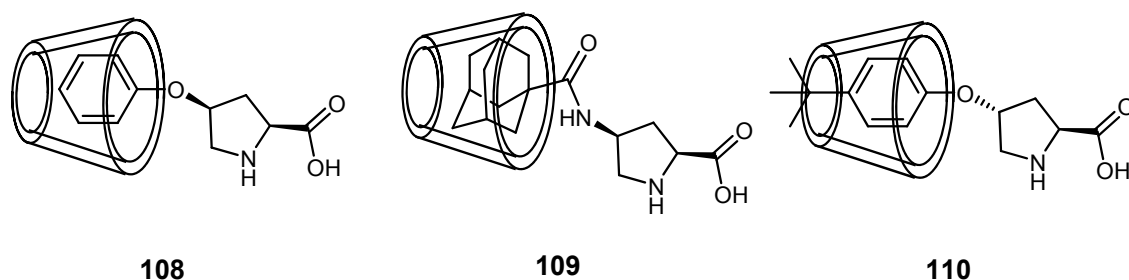
Siguiendo en esta línea, Woggon describió la reacción aldólica de varios aldehídos aromáticos con ciclohexanona catalizada por el complejo de inclusión de una prolina derivatizada en posición 4 con una subunidad de adamantilo y una  $\beta$ -ciclodextrina en agua (**109**, figura 5.3), obteniendo hidroxicetonas con relaciones *anti/sin* de hasta 99:1 y ee en torno al 90%.<sup>164</sup>

Recientemente se ha publicado también un sistema catalítico asimétrico en agua mediado por una  $\beta$ -ciclodextrina sulfatada que puede incluir en su cavidad un catalizador de *terc*-butilfenoxiprolina (**110**, figura 5.3). Este sistema ha demostrado conseguir excelentes enantioselectividades para la reacción aldólica de ciclohexanona con aldehídos aromáticos únicamente.<sup>142</sup>

<sup>95</sup> Shen, Z.; Liu, Y.; Jiao, C.; Ma, J.; Li, M.; Zhang, Y. *Chirality* **2005**, *17*, 556-558.

<sup>142</sup> Huang, J.; Zhang, X.; Armstrong, D. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9073-9077.

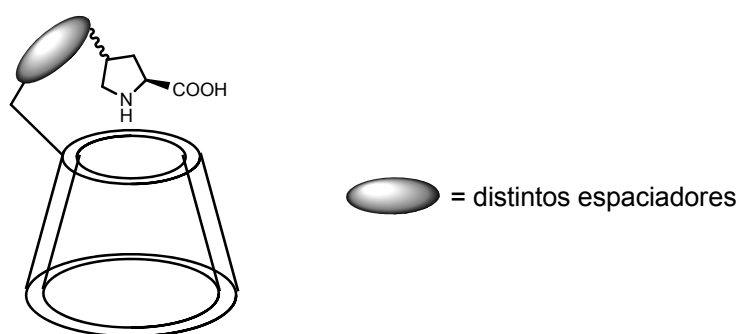
<sup>164</sup> Liu, K.; Häussinger, D.; Woggon, W. -D. *Synlett* **2007**, *14*, 2298-2300.



**Figura 5.3.** Catalizadores formados por complejos de inclusión de derivados de prolina en la cavidad de  $\beta$ -ciclodextrinas como catalizadores de la reacción aldólica.

### 5.1.3 Objetivos

Basándonos en estos antecedentes, y teniendo en cuenta la relevancia de las reacciones aldólicas en medios acuosos, a la cual se hizo referencia extensamente en el capítulo 4, nos propusimos llevar a cabo el anclaje covalente de la prolina sobre una  $\beta$ -ciclodextrina empleando diferentes espaciadores (figura 1.10). Este catalizador híbrido presentaría en su estructura un centro catalítico (la prolina) y un sitio de unión (la ciclodextrina) con potencial selectividad por sustrato, pudiendo actuar así como una enzima artificial que esperábamos funcionase en agua.



**Figura 1.10.** Prolina anclada covalentemente sobre una  $\beta$ -ciclodextrina mediante diferentes espaciadores.

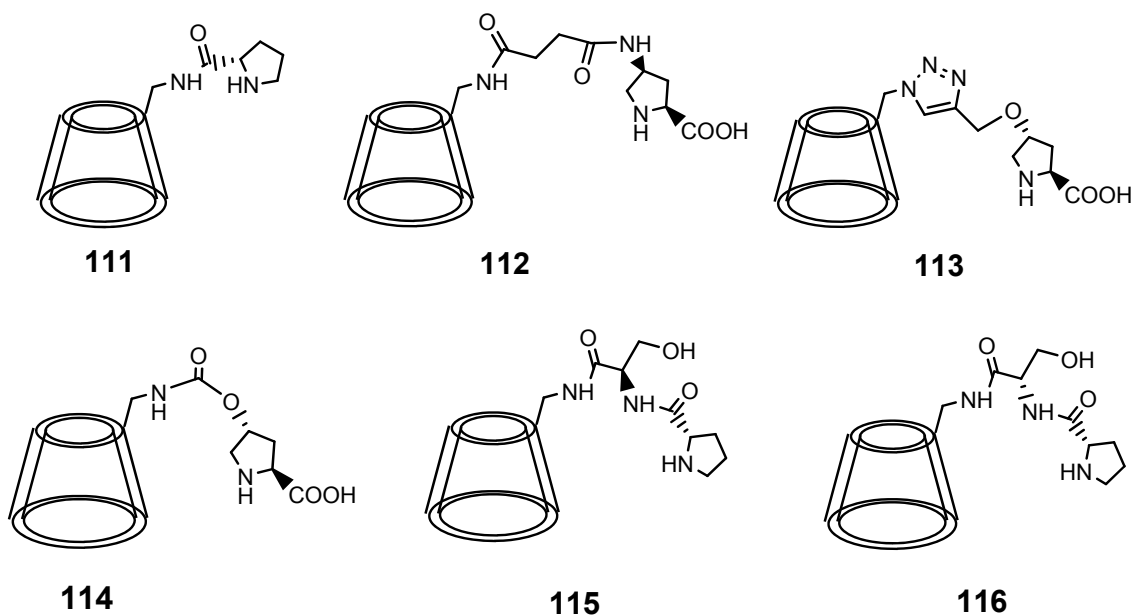
Hay que tener en cuenta que en todos los casos descritos con anterioridad, los catalizadores derivados de prolina se unían a las ciclodextrinas mediante la formación de complejos de inclusión. El único ejemplo en el que se describe

una unión covalente es el trabajo de Breslow,<sup>162</sup> pero las reacciones aldólicas estudiadas se llevaban a cabo en acetona, y en la publicación no se menciona ningún dato acerca de las estereoselectividades obtenidas, sino únicamente constantes cinéticas.

Por tanto, los objetivos principales de este último capítulo serán:

- Síntesis de catalizadores que posean la funcionalidad prolina unida covalentemente a una  $\beta$ -ciclodextrina empleando distintos espaciadores.

Se sintetizarán así seis derivados diferentes:



**Figura 5.4.** Catalizadores derivados de  $\beta$ -ciclodextrina propuestos como objetivo sintético.

- En primer lugar sintetizaremos un derivado similar al empleado por Breslow (**105**), pero utilizando el enantiómero de prolina, con fines comparativos (compuesto **111**, figura 5.4);
- Dado que en el caso anterior el enlace entre ambas funcionalidades se lleva a cabo a través del grupo ácido de la prolina, y ya ha sido descrito que esta funcionalidad libre es esencial para la catálisis,<sup>2b</sup> nos propusimos también la síntesis de tres moléculas más en las cuales la unión entre la prolina y la ciclodextrina se realice mediante derivatización del hidroxilo en posición 4 de la hidroxiprolina:

<sup>2b</sup> Sakthivel, K.; Notz, W.; Bui, T.; Barbas III, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5260-5267.

<sup>162</sup> Yuan, D. -Q.; Dong, S. D.; Breslow, R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7673-7676.

- 1) empleando como espaciador un derivado del ácido succínico que aporte flexibilidad al compuesto (**112**, figura 5.4);
- 2) mediante un espaciador que presente un resto aromático de triazol fácilmente accesible mediante una reacción de cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen (reacción de click),<sup>23,165</sup> con el fin de evaluar el efecto del mismo (**113**, figura 5.4);
- 3) empleando un grupo carbamato como espaciador que le confiera una mayor rigidez, además de acortar el espacio entre la prolina y la ciclodextrina (**114**, figura 5.4).

• Además, y basándonos en los catalizadores derivados de prolinamidas desarrollados recientemente, los cuales en la mayoría de los casos mejoraban los resultados obtenidos con la prolina,<sup>52-57</sup> nos planteamos la síntesis de dos nuevos derivados basados en prolinamidas que presentasen centros adicionales capaces de formar enlaces de hidrógeno con los sustratos en el estado de transición. Para ello estos restos de prolinamida se unirán a la ciclodextrina empleando D- y L-serina como espaciadores, puesto que éstas presentan un hidroxilo adicional donador de enlace de hidrógeno (compuestos **115** y **116**, figura 5.4). Se emplearán los dos enantiómeros de serina para evaluar el efecto ejercido por la disposición espacial adoptada por el resto de prolina.

- Una vez sintetizadas las moléculas objetivo, evaluaremos la actividad de las mismas en la reacción aldólica.

<sup>23</sup> (a) Font, D.; Sayalero, S.; Bastero, A.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 337-340. (b) Font, D.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4653-4655.

<sup>52</sup> (a) Tang, Z.; Jiang, F.; Yu, L. -T.; Cui, X.; Gong, L. -Z.; Mi, A. -Q.; Jiang, Y. -Z.; Wu, Y. -D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5262-5263. (b) Tang, Z.; Yang, Z. -H.; Chen, X. -H.; Cun, L. -F.; Mi, A. -Q.; Jiang, Y. -Z.; Gong, L. -Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9285-9289 (c) He, L.; Cun, L. -F.; Mi, A. -Q.; Jiang, Y. -Z.; Gong, L. -Z. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 346-351.

<sup>53</sup> Samanta, S.; Liu, J.; Dodda, R.; Zhao, C. -G. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5321-5323.

<sup>54</sup> (a) Chen, J. -R.; Lu, H. -H.; Li, X. -Y.; Cheng, L.; Wan, J.; Xiao, W. -J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4543-4545. (b) Chen, J. -R.; An, X. -L.; Zhu, X. -Y.; Wang, X. -F.; Xiao, W. -J. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6006-6009.

<sup>55</sup> Gryko, D.; Kowalczyk, B.; Zawadzki, L. *Synlett* **2006**, *7*, 1059-1062.

<sup>56</sup> Gryko, D.; Lipinski, R. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1948-1952.

<sup>57</sup> (a) Guillena, G., Hita, M. C.; Nájera, C.; Vióquez, S. F. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5933-5943.

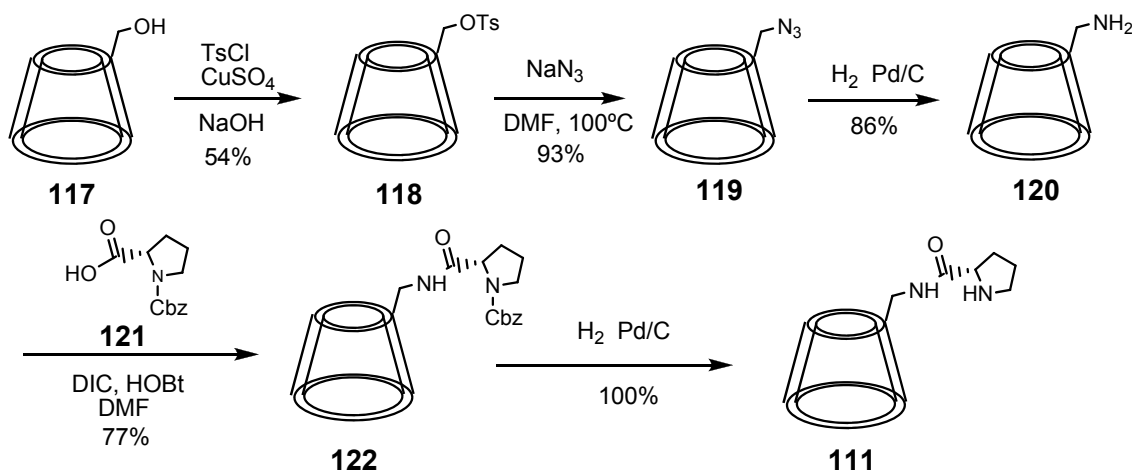
(b) Almasi, D.; Alonso, D. A.; Nájera, C. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2467-2472. (c) Guillena, G.; Hita, M. C.; Nájera, C. *Tetrahedron: Asymm.* **2006**, *17*, 729-733.

<sup>165</sup> Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.

## 5.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.2.1 Síntesis de los catalizadores

En primer lugar se llevó a cabo la síntesis de los distintos catalizadores derivados de  $\beta$ -ciclodextrina. Para preparar el compuesto **111** se siguió la ruta descrita en el esquema 5.1 a partir de la  $\beta$ -ciclodextrina comercial **117**. Para ello se transformó selectivamente uno de los grupos hidroxilo en posición 6 del anillo de ciclodextrina en un grupo tosilo (**118**),<sup>166</sup> lo cual permitió introducir el grupo azido mediante sustitución nucleófila con azida sódica dando lugar a **119**, cuya reducción bajo atmósfera de hidrógeno permitió obtener la amina **120**. A continuación, se hizo reaccionar **120** con *N*-carboxibencilprolina (**121**) en presencia de DIC y HOBt para formar la amida **122**. Para finalizar se desprotegió la amina del anillo de pirrolidina mediante hidrogenación dando lugar al compuesto **111**.

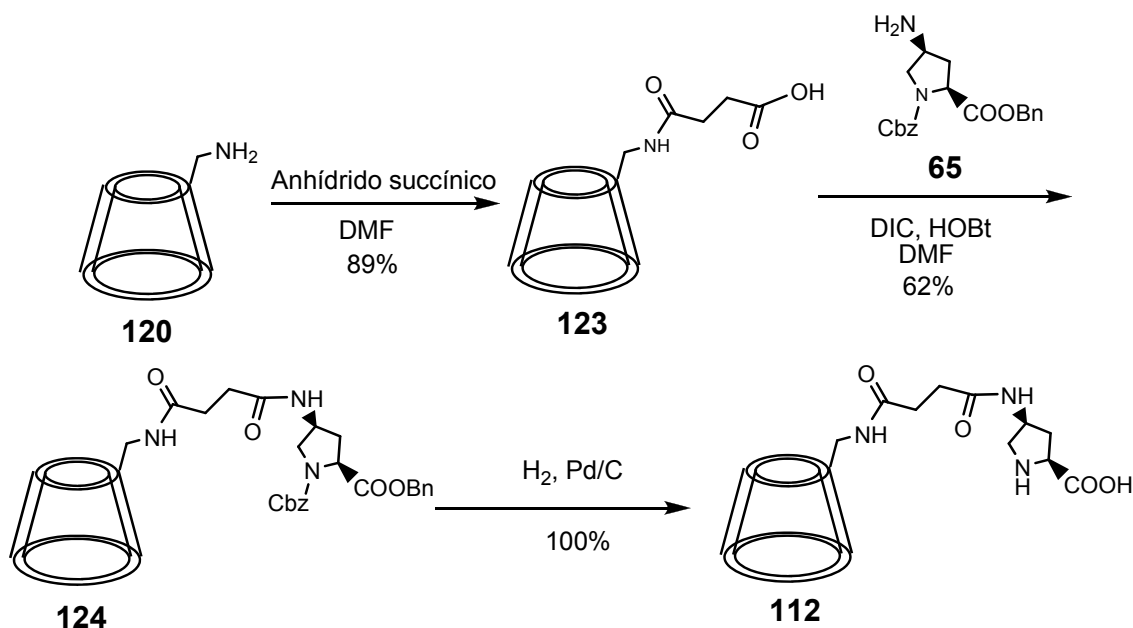


**Esquema 5.1.** Síntesis del catalizador derivado de prolina **111**.

El compuesto **112**, en el cual la prolina se encontraba unida a la ciclodextrina mediante un espaciador derivado del ácido succínico, se sintetizó siguiendo la ruta descrita en el esquema 5.2, partiendo del derivado **120**,

<sup>166</sup> Bausanne, I.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M.; Law, H.; Defaye, J. *Chem. Commun.* **2000**, 1489-1490.

obtenido previamente. Esta amina se hizo reaccionar con anhídrido succínico en DMF, para obtener el derivado **123**,<sup>167</sup> cuyo acoplamiento con la amina **65** en las mismas condiciones descritas en el esquema anterior para la obtención de **122**, dio lugar al compuesto **124**. Por último se desprotegeron simultáneamente el grupo carboxilo y la amina del anillo de prolina mediante hidrogenación dando lugar al compuesto **112**.

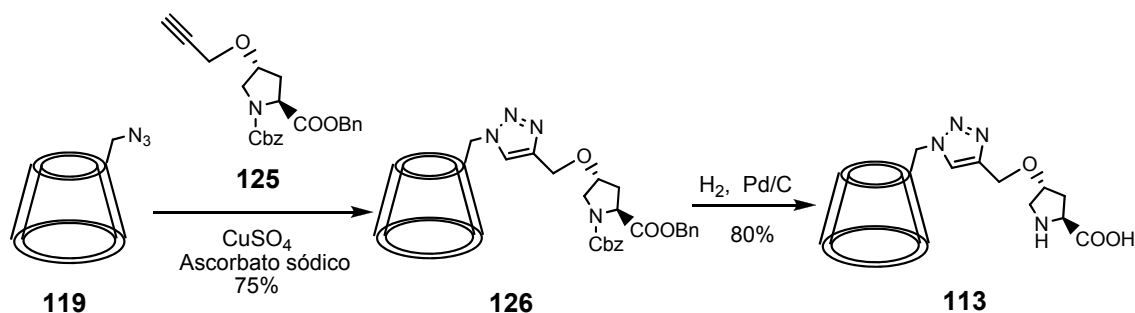


**Esquema 5.2.** Síntesis del catalizador derivado de prolina **112**.

En el derivado **113** el espaciador empleado para la unión de la prolina a la ciclodextrina fue un derivado de triazol, fácilmente accesible mediante cicloadición de Huisgen entre el compuesto **119** preparado previamente y el compuesto **125**<sup>168</sup> (esquema 5.3). Se obtuvo así el derivado **126**, cuya desprotección en condiciones similares a las anteriormente descritas dio lugar al compuesto **113**.

<sup>167</sup> Auzély-Velty, R.; Perly, B.; Taché, O.; Zemb, T.; Jehan, P.; Guenot, P.; Dalbiez, J. -P.; Djedaïni-Pilard, F. *Carbohydrate Res.* **1999**, *318*, 82-90.

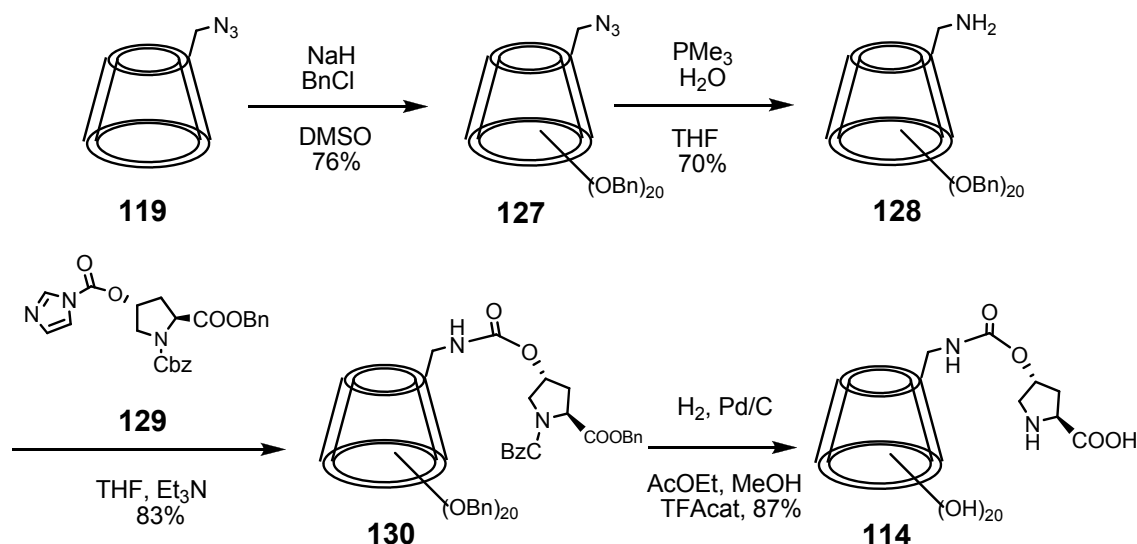
<sup>168</sup> El compuesto **125** se preparó mediante reacción del hidroxilo libre en posición 4 del compuesto **62** con bromuro de propargilo e hidruro sódico en DMF (ver parte experimental).



**Esquema 5.3.** Síntesis del catalizador derivado de prolina **113**.

Para la síntesis del catalizador siguiente (**114**) fue necesaria la protección previa de los hidroxilos libres de la ciclodextrina como bencilos, debido a que estos 20 hidroxilos estaban ejerciendo una competencia en la etapa de formación del carbamato, y no era posible lograr rendimientos aceptables en la obtención del producto deseado. Así, la síntesis de **114** (esquema 5.4), se llevó a cabo mediante la perbencilación del derivado **119** sintetizado previamente, con cloruro de bencilo e hidruro sódico en DMSO. La azida perbencilada **127** se redujo a la amina correspondiente (**128**) con trimetilfosfina mediante reacción de Staudinger. Ésta se hizo reaccionar con el derivado de imidazolilcarbonilo **129**<sup>169</sup> para dar lugar al carbamato **130**, cuya hidrogenación en reactor Parr condujo a la desprotección tanto del grupo carboxilo y la amina del anillo de pirrolidina como de los 20 grupos bencilo presentes en la molécula, obteniendo así el compuesto **114**.

<sup>169</sup> El compuesto **129** fue sintetizado mediante reacción del compuesto **62** con N, N'-carbonildiimidazol (ver parte experimental).

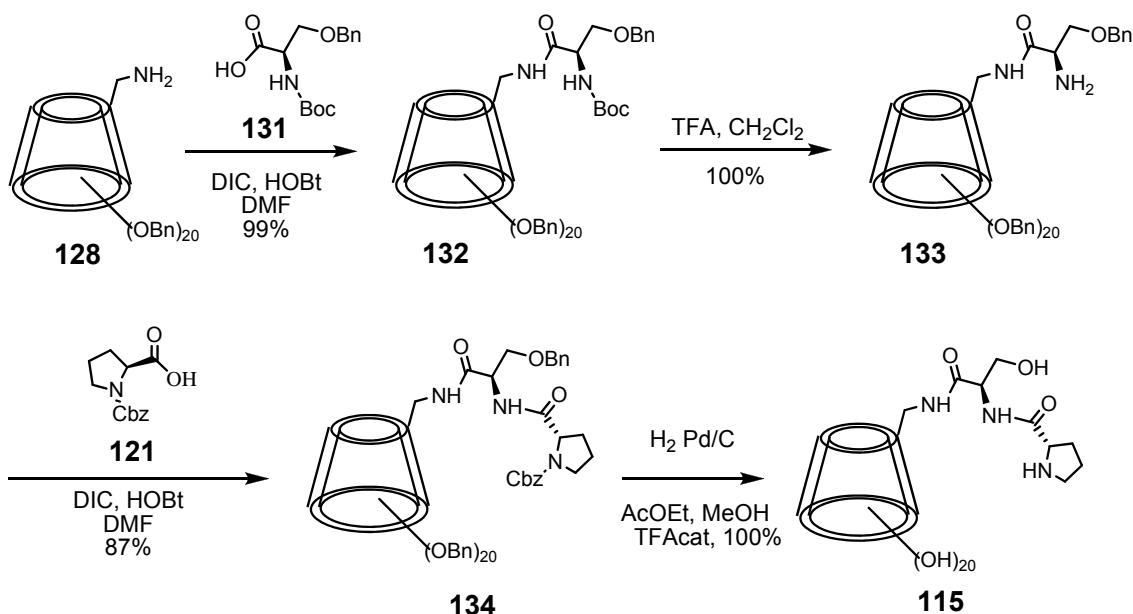


**Esquema 5.4.** Síntesis del catalizador derivado de prolina **114**.

Los dos últimos catalizadores sintetizados fueron los derivados de prolinamida. La síntesis de ambos fue llevada a cabo del mismo modo, pero empleando como espaciador un derivado de D- ó L-serina en cada caso (compuestos **115** y **116**, respectivamente). Debido a la mayor facilidad de manejo experimental de los compuestos perbencilados, la síntesis de ambos se llevó a cabo partiendo de la amina perbencilada **128**.

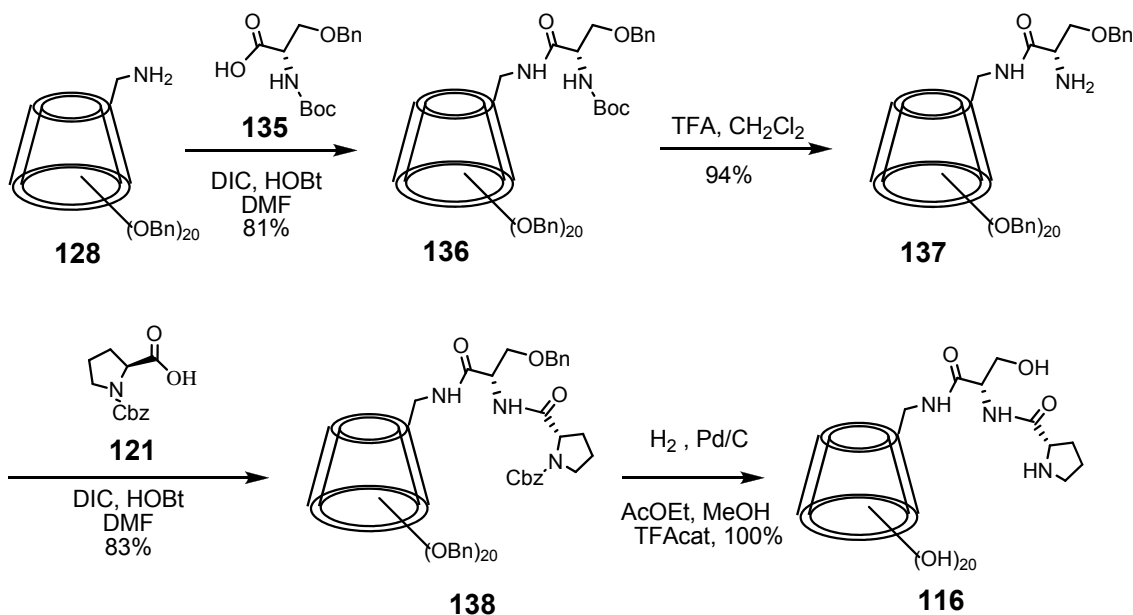
La síntesis del compuesto **115** se llevó a cabo según se describe en el esquema 5.5. Para ello en primer lugar se hizo reaccionar la amina **128** con el derivado protegido de D-serina **131** para formar la amida **132**. El grupo Boc presente en este compuesto se eliminó con ácido trifluoroacético para dar lugar a la amina libre **133**, la cual se transformó en la amida **134** tras reaccionar con *N*-carboxibencilprolina (**121**) en condiciones similares de acoplamiento a las empleadas anteriormente. La eliminación del benciloxicarbonilo, así como de los 21 grupos bencilo presentes en la molécula se llevó a cabo de nuevo mediante hidrogenación, para dar lugar al compuesto **115**.





**Esquema 5.5.** Síntesis del catalizador derivado de prolinamida **115**.

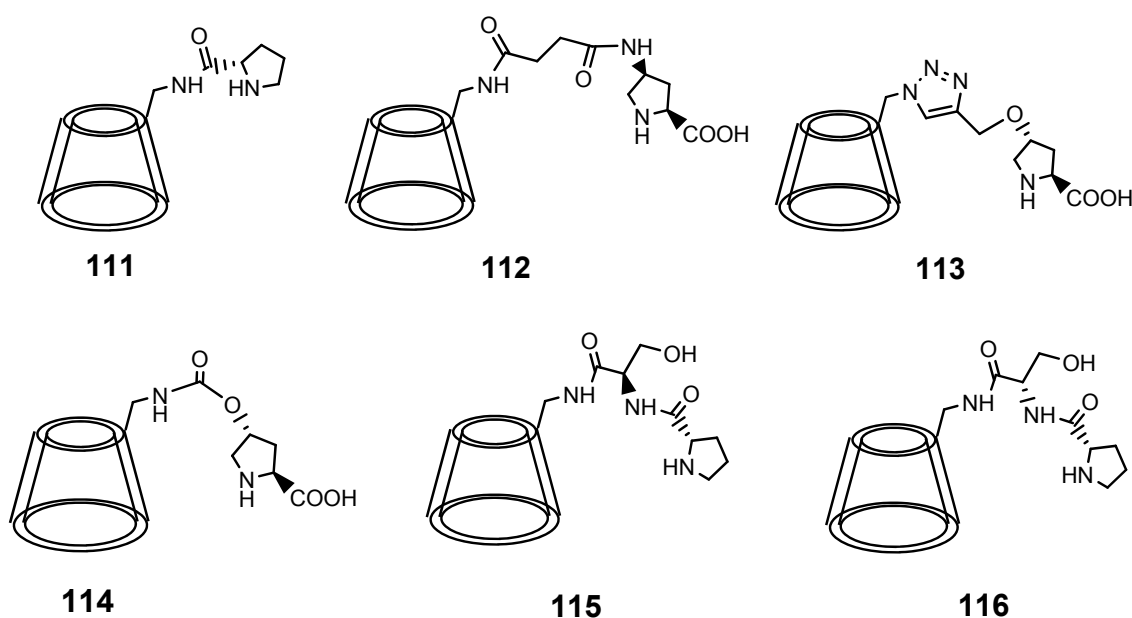
Para el caso de **116**, la ruta de síntesis fue similar a la empleada para **115**, pero empleando en este caso el derivado protegido de L-serina **135** (esquema 5.6). Los rendimientos de cada una de las etapas variaron levemente comparándolos con los obtenidos en la síntesis de **115**.



**Esquema 5.6.** Síntesis del catalizador derivado de prolinamida **116**.

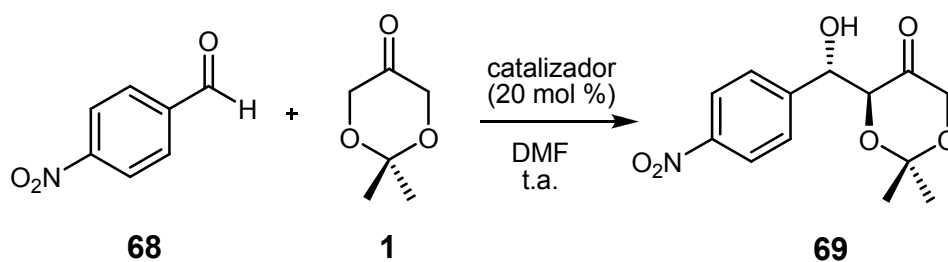
### 5.2.2 Evaluación de los derivados de $\beta$ -ciclodextrina funcionalizados con prolina como catalizadores de la reacción aldólica

Una vez obtenidos los derivados de  $\beta$ -ciclodextrina y prolina (figura 5.4) se llevó a cabo su evaluación como catalizadores de la reacción aldólica. Para ello se estudió la reacción modelo entre *p*-nitrobenzaldehído (**68**) con dioxanona (**1**), en presencia de los distintos catalizadores, tanto en agua como en DMF. Este último disolvente se escogió con una finalidad comparativa entre la actividad catalítica de nuestros híbridos prolina-ciclodextrina y la de la prolina, cuya mayor eficiencia ha sido observada empleando DMSO y DMF como disolventes. Los resultados se recogen en las tablas 5.1 y 5.2.



**Figura 5.4.** Catalizadores derivados de  $\beta$ -ciclodextrina sintetizados.

**Tabla 5.1.** Evaluación de los derivados de  $\beta$ -ciclodextrina como catalizadores de la reacción aldólica entre el *p*-nitrobenzaldehído y la cetona **1** empleando DMF como disolvente.



Entrada	Catalizador	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	L-Prolina	48	88	2:1	63
2	<b>111</b>	48	<5	n.d.	n.d.
3	<b>112</b>	30	76	1:2	6
4	<b>112<sup>c</sup></b>	24	80	1:1,5	6
5	<b>113</b>	48	8	1:1	74
6	<b>114</b>	48	22	8:1	70
7	<b>115</b>	48	<5	n.d.	n.d.
8	<b>116</b>	72	44	3:1	50

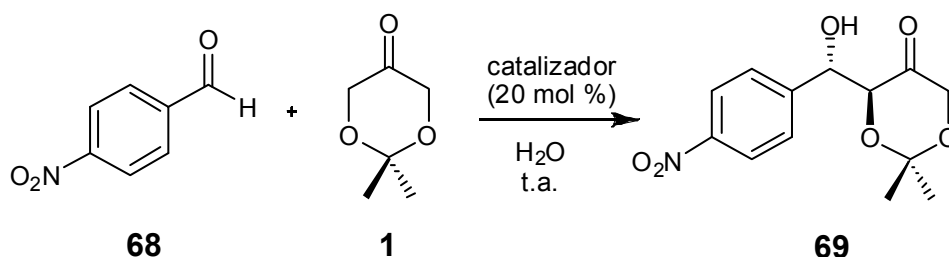
<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC ; n.d. = no determinado. <sup>b</sup> Determinado por HPLC, y se encuentran referidos al diastereoisómero mayoritario. <sup>c</sup> **112** reciclado se usó como catalizador.

Las mejores conversiones en este disolvente se obtuvieron empleando el catalizador **112** (entrada 3), alcanzando conversiones similares a las obtenidas con la prolina en la mitad de tiempo; sin embargo, la estereoselectividad obtenida no fue buena. El orden de reactividad fue **112** > **116** > **114** > **113** > **111**  $\approx$  **115**. El diferente comportamiento entre **115** y **116** muestra la importancia del espaciador escogido, puesto que ambos compuestos se diferencian únicamente en el enantiómero de serina empleado para unir la prolina y la ciclodextrina. Así, mientras que **115** no dio lugar a reacción tras 48 h, con **116** se alcanzó un 44% de conversión (entradas 7 y 8). Para el caso de **114** y **116** las diastereoselectividades fueron mejores que al emplear prolina (entradas 6 y 8 frente a 1); sin embargo, las conversiones obtenidas fueron menores.

Tras una simple extracción y liofilización,<sup>170</sup> el catalizador **112** pudo ser reutilizado en una nueva reacción que tuvo lugar sin diferencias significativas con respecto a conversión y estereoselectividad (entrada 4 frente a 3).

La diferencia de comportamiento de los derivados de  $\beta$ -ciclodextrina como catalizadores de la reacción aldólica en agua fue más notoria (Tabla 5.2).

**Tabla 5.2.** Evaluación de los derivados de  $\beta$ -ciclodextrina como catalizadores de la reacción aldólica entre el *p*-nitrobenzaldehído y la cetona **1** empleando H<sub>2</sub>O como disolvente.



Entrada	Catalizador	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	<b>111</b>	48	30	1:1	4
2	<b>112</b>	24	57	1:1,5	8
3	<b>112</b>	48	70	1:1	2
4	<b>112<sup>c</sup></b>	24	39	1:1	14
5	<b>112<sup>d</sup></b>	24	26	1:1,5	8
6	<b>113</b>	24	<5	n.d.	n.d.
7	<b>114</b>	24	<5	n.d.	n.d.
8	<b>115</b>	24	<5	n.d.	n.d.
9	<b>116</b>	24	<5	n.d.	n.d.

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC ; n.d. = no determinado. <sup>b</sup> Determinado por HPLC, y se encuentran referidos al diastereoisómero mayoritario. <sup>c</sup> La reacción se llevó a cabo a pH=4. <sup>d</sup> **112** reciclado se usó como catalizador.

Las mejores conversiones se obtuvieron de nuevo empleando el catalizador **112** (entradas 2 y 3); sin embargo, la estereoselectividad obtenida no fue buena tampoco en este caso. Un descenso del pH del medio de reacción al emplear este catalizador no contribuyó a mejorar las selectividades, y además disminuyó la conversión (entrada 4). Este catalizador, junto con **111**

<sup>170</sup> Se evaporó la DMF a presión reducida y el residuo se extrajo con agua y diclorometano. La fase acuosa que contiene el catalizador, se lavó con diclorometano (x 3). La disolución acuosa se liofilizó, y el sólido resultante fue empleado como catalizador de la siguiente reacción.

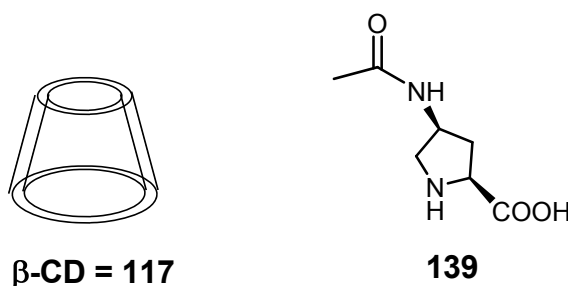
(catalizador similar al empleado por Breslow<sup>162</sup> pero empleando el enantiómero de prolina), fueron los únicos capaces de llevar a cabo la reacción aldólica en agua. En cambio, ninguno de los restantes compuestos **113-116** aceleró la reacción después de 24 h.

De nuevo, tras extracción y liofilización,<sup>171</sup> el catalizador pudo ser reutilizado en una nueva reacción pero, en este caso, la conversión obtenida con el catalizador reciclado disminuyó aproximadamente a la mitad con respecto a la obtenida con el catalizador de primer uso (entrada 5 frente a 2).

### **Efecto del residuo de ciclodextrina en la actividad catalítica**

Una vez evaluada la efectividad catalítica de las moléculas sintetizadas, nos propusimos comprobar si la ciclodextrina estaba realmente ejerciendo algún efecto en el transcurso de la reacción.

Para ello, en primer lugar, evaluamos la actividad catalítica del fragmento de prolina sin el anillo de ciclodextrina. Así, llevamos a cabo las reacciones que se muestran en la tabla 5.3 empleando un catalizador modelo (**139**<sup>172</sup>, figura 5.5) que presenta un grupo acetamido en la misma posición del resto  $\beta$ -ciclodextrina-succinamido en el compuesto **112**, que era el que mejores resultados había proporcionado. Las reacciones se realizaron en presencia y en ausencia de  $\beta$ -ciclodextrina añadida (**117**).



**Figura 5.5.** Catalizador modelo empleado para la evaluación del efecto de la ciclodextrina.

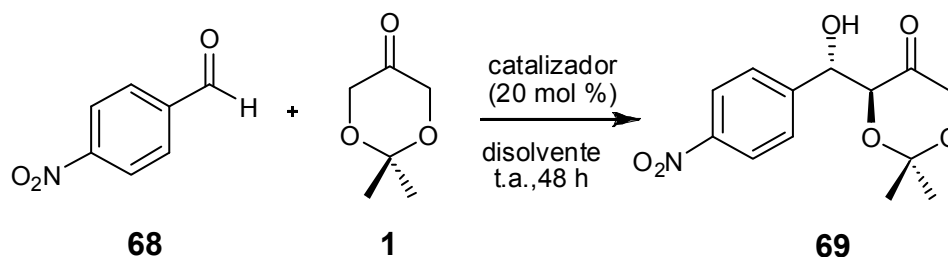
<sup>162</sup> Yuan, D. -Q.; Dong, S. D.; Breslow, R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 7673-7676.

<sup>171</sup> La fase acuosa que contiene el catalizador, tomada directamente de la reacción, se lavó con diclorometano (x 3). La disolución acuosa se liofilizó, y el sólido resultante fue empleado como catalizador de la siguiente reacción.

<sup>172</sup> La síntesis de **139** se llevó a cabo a partir del compuesto **65** (ver parte experimental).

Con fines comparativos aparecen también representados en la tabla los datos obtenidos previamente tanto con L-prolina en DMF como con **112** en ambos disolventes.

**Tabla 5.3.** Evaluación del catalizador modelo para la reacción aldólica entre el *p*-nitrobenzaldehído y la cetona **1**.



Entrada	Catalizador	Disolvente	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	L-Prolina	DMF	88	2:1	63
2	<b>112</b>	DMF	76	1:2	6
3	<b>139</b>	DMF	20	3:1	70
4	<b>139</b> +β-CD	DMF	73	3:1	80
5	β-CD	DMF	<5	n.d.	n.d.
6	<b>112</b>	H <sub>2</sub> O	70	1:1	2
7	<b>139</b>	H <sub>2</sub> O	<5	n.d.	n.d.
8	<b>139</b> +β-CD	H <sub>2</sub> O	8	3:1	74
9	β-CD	H <sub>2</sub> O	<5	n.d.	n.d.

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC ; n.d. = no determinado. <sup>b</sup> Determinado por HPLC, y se encuentran referidos al diastereoisómero mayoritario.

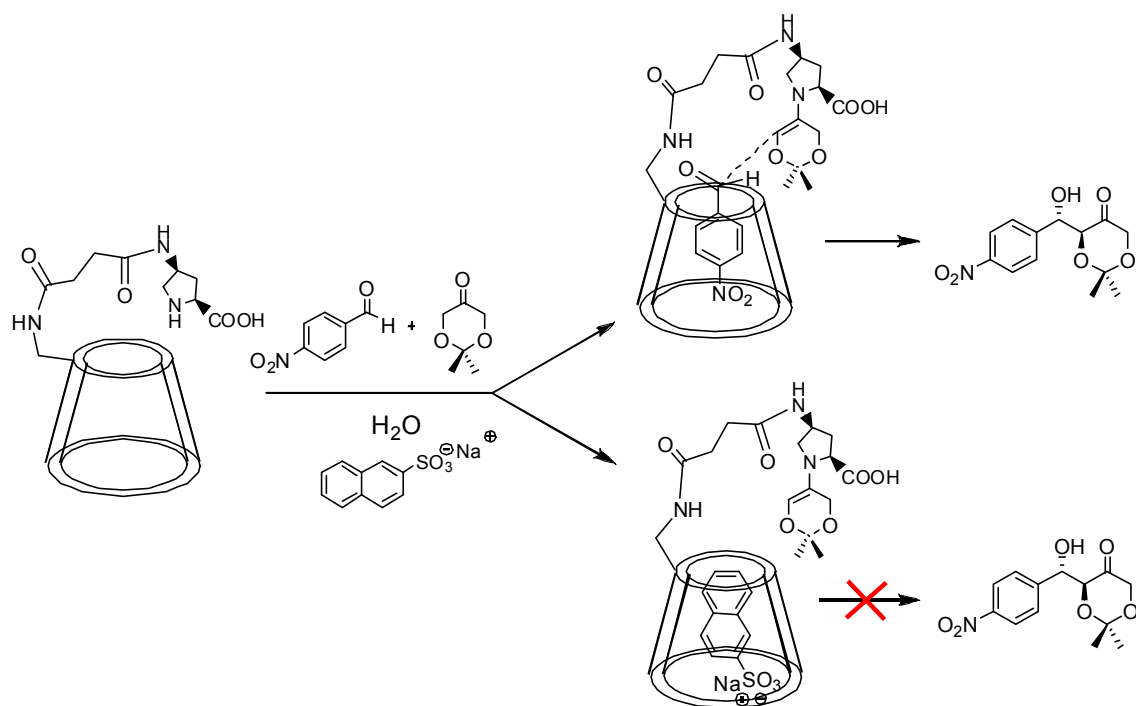
Empleando el catalizador modelo **139** en DMF se obtuvo una conversión menor a las que veníamos obteniendo tanto con L-prolina como con **112** (entrada 3 frente a 1 y 2); sin embargo, esta conversión aumentó al añadir β-CD al medio de reacción (entrada 4), alcanzando un valor similar a los obtenidos con los otros dos catalizadores. En cuanto a la estereoselectividad, hay que destacar que para el caso de **139**, tanto en ausencia como en presencia de β-CD, se obtuvieron buenos resultados, incluso mejores que los obtenidos con L-prolina (entradas 3 y 4 frente a 1), recuperando así la estereoselectividad que se pierde al tener el resto de prolina unido covalentemente a la ciclodextrina (entrada 2). Cuando se empleó únicamente

ciclodextrina sin ningún derivado de prolina adicional, la reacción no tuvo lugar (entrada 5).

Los resultados obtenidos al emplear agua como disolvente nos indicaron claramente que el enlace covalente entre la ciclodextrina y la prolina es necesario para que la reacción aldólica tenga lugar en agua, puesto que la reacción no procedió al emplear el catalizador modelo **139** sin el residuo de ciclodextrina (entrada 7), mientras que se alcanzó una conversión del 70% con **112**, en el que esta unión está presente (entrada 6). Ni siquiera cuando se adicionó ciclodextrina al medio de reacción se obtuvieron conversiones comparables al conjugado covalente prolina-ciclodextrina, puesto que al emplear el catalizador **139** en presencia de ciclodextrina se obtuvo un 8% de aldol tras 48 h (entrada 8), lo cual puede considerarse una cantidad insignificante.

Podemos concluir por tanto que, mientras que en agua es necesaria la existencia de una unión covalente entre la funcionalidad prolina y la ciclodextrina para que la reacción pueda tener lugar, en DMF esto no sería necesario, incluso la funcionalidad catalítica sin la unión al residuo de ciclodextrina da lugar a mejores rendimientos y estereoselectividades.

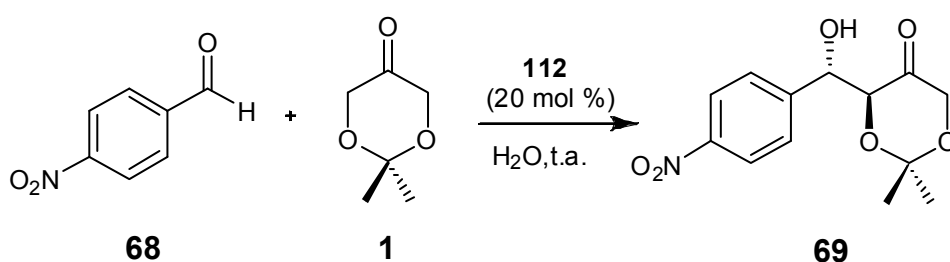
Un segundo experimento que nos permitiría conocer si la cavidad está realmente ejerciendo algún efecto en las reacciones en medio acuoso sería la realización de experimentos de inhibición, similares a los realizados para el caso de las enzimas. Así, la adición de un compuesto con una alta constante de asociación con la ciclodextrina, y que, por tanto es conocido que se incluye en el interior de la misma, debería ejercer algún efecto sobre la cinética de las reacciones, si realmente alguno de los sustratos forma complejos de inclusión con la ciclodextrina el transcurso de las mismas (esquema 5.7).



**Esquema 5.7.** Esquema de las dos posibilidades en el transcurso de la reacción con la adición de un inhibidor.

En primer lugar determinamos la conversión de *p*-nitrobenzaldehído (**68**) con dioxanona (**1**) en agua, empleando **112** como catalizador, a diferentes tiempos, con el fin de elegir el mejor para llevar a cabo los experimentos de inhibición. Los resultados se recogen en la tabla 5.4.

**Tabla 5.4.** Cinética de la reacción aldólica entre el *p*-nitrobenzaldehído y la cetona **1** catalizada por **112**.

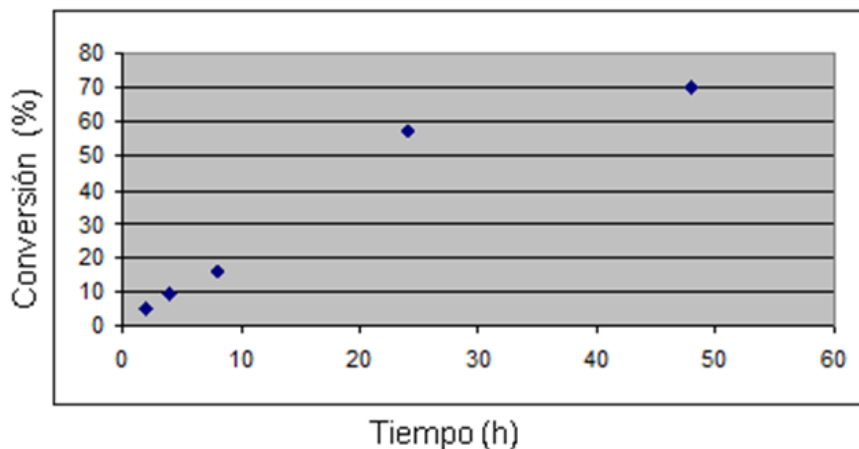


Entrada	Tiempo (h)	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	2	5	1:1,8	n.d.
2	4	9	1:1	n.d.
3	8	16	1:1,4	8
4	24	57	1:1,4	8
5	48	70	1:1,2	2

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC ; n.d. = no determinado. <sup>b</sup> Determinado por HPLC, y se encuentran referidos al diastereoisómero mayoritario.



En la figura 5.6 aparece representada la conversión de aldehído a aldol frente al tiempo.

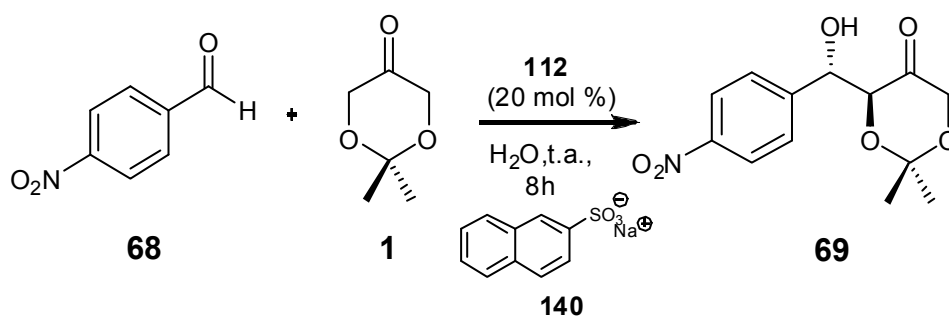


**Figura 5.6.** Representación de la conversión de aldehído a aldol catalizada por **112** frente al tiempo.

A la vista de la gráfica escogimos un tiempo de 8h para la realización de los ensayos de inhibición. Es decir, en la zona lineal de la reacción aldólica, ya que los experimentos de inhibición resultan más fiables realizándolos en este período. Por tanto, llevamos a cabo las reacciones durante 8 h en presencia de cantidades crecientes (0-5 equivalentes) de la sal sódica del ácido 2-naftalensulfónico (**140**), compuesto que presenta una constante de asociación<sup>173</sup> con  $\beta$ -ciclodextrina de  $2.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ , debiendo comportarse por tanto como un inhibidor efectivo.<sup>32a</sup> Los datos obtenidos para los ensayos de inhibición aparecen en la tabla 5.5.

<sup>32a</sup> Rousseau, C.; Christensen, B.; Petersen, T. E.; Bols, M. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3476-3482.

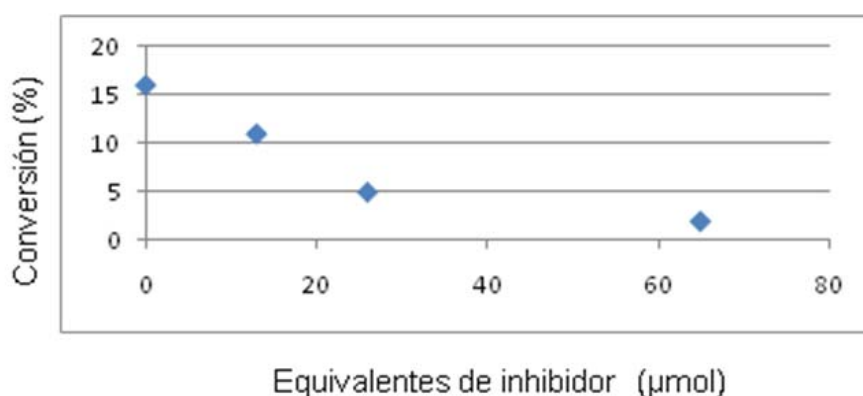
<sup>173</sup> Rekharsky, M. V.; Inoue, Y. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1875-1917.

**Tabla 5.5.** Ensayos de inhibición sobre la reacción aldólica entre el *p*-nitrobenzaldehído y la cetona **1** catalizada por **112**.

Entrada	Equivalentes de inhibidor	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	0	16	1:1,4	8
2	1	11	1:1,2	6
3	2	5	1:1,5	0
4	5	2	1:1,4	0

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup> Determinado por HPLC, y se encuentran referidos al diastereoisómero mayoritario.

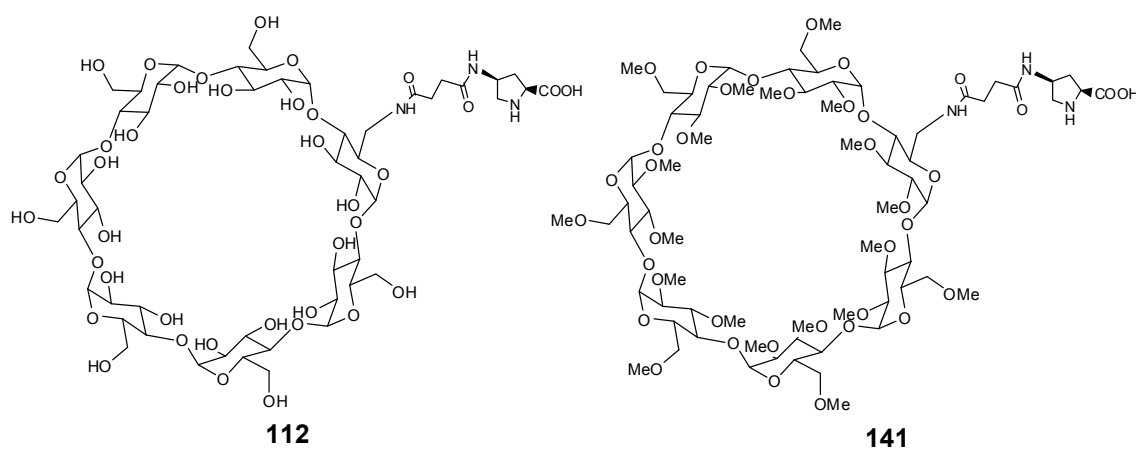
Los datos obtenidos nos sirvieron para comprobar que la cavidad de la ciclodextrina estaba efectivamente ejerciendo un efecto en el desarrollo de la reacción, puesto que las conversiones obtenidas disminuían de manera directamente proporcional a la cantidad de inhibidor añadida, como se aprecia en la figura 5.7.

**Figura 5.7.** Representación de la conversión de aldehído a aldol catalizada por **112** frente a la cantidad de inhibidor añadida tras 8 horas de reacción.

**Intentos de mejora de las estereoselectividades obtenidas en agua**

Una vez evaluada la actividad catalítica de las moléculas sintetizadas, y a la vista de los malos datos de estereoselectividad obtenidos en el único caso que tuvo lugar la reacción con rendimientos aceptables en agua (compuesto **112**), nos propusimos realizar estudios con el fin de mejorar estos valores.

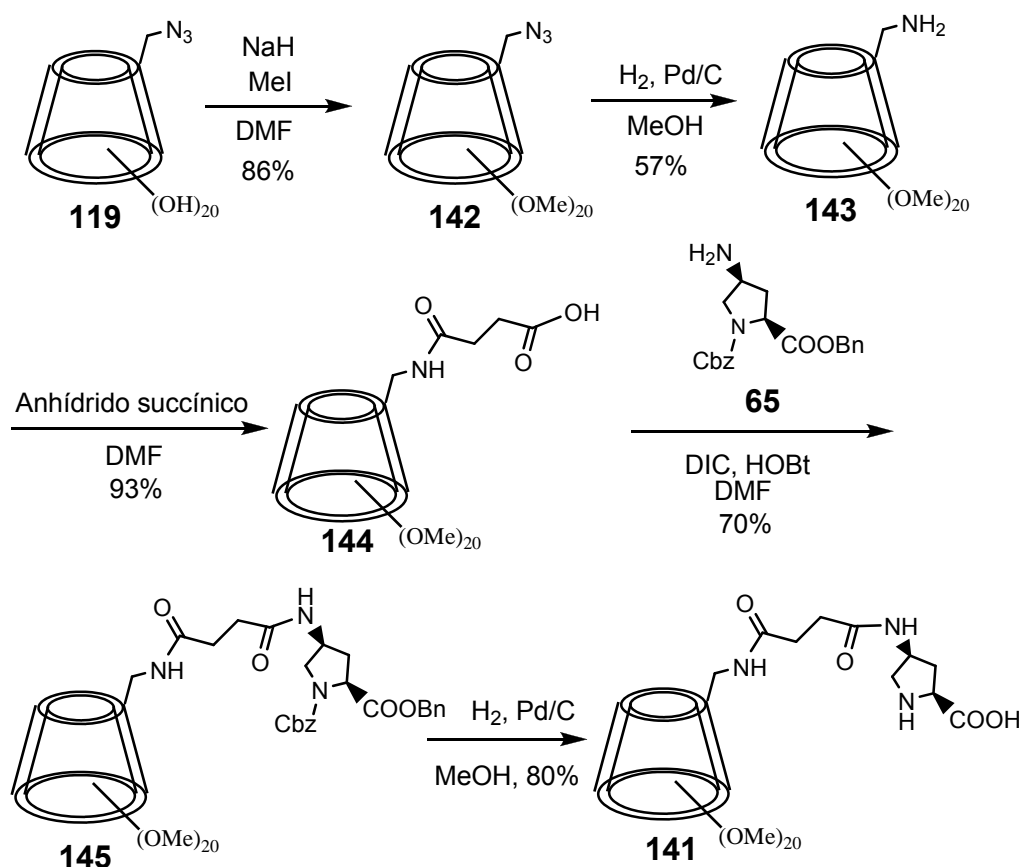
En primer lugar se consideró que esta molécula presenta en su estructura 20 hidroxilos libres (figura 5.8) que podrían estar ejerciendo alguna influencia sobre la estereoselectividad de la reacción.



**Figura 5.8.** Representación de la estructura desarrollada de **112** y su derivado permetilado **141**.

Para comprobar esta hipótesis llevamos a cabo la síntesis de una nueva molécula similar a **112**, pero en la cual todos los hidroxilos del anillo de ciclodextrina se encontrasen metilados.

La síntesis de esta nueva ciclodextrina permetilada se llevó a cabo siguiendo la ruta descrita en el esquema 5.8.



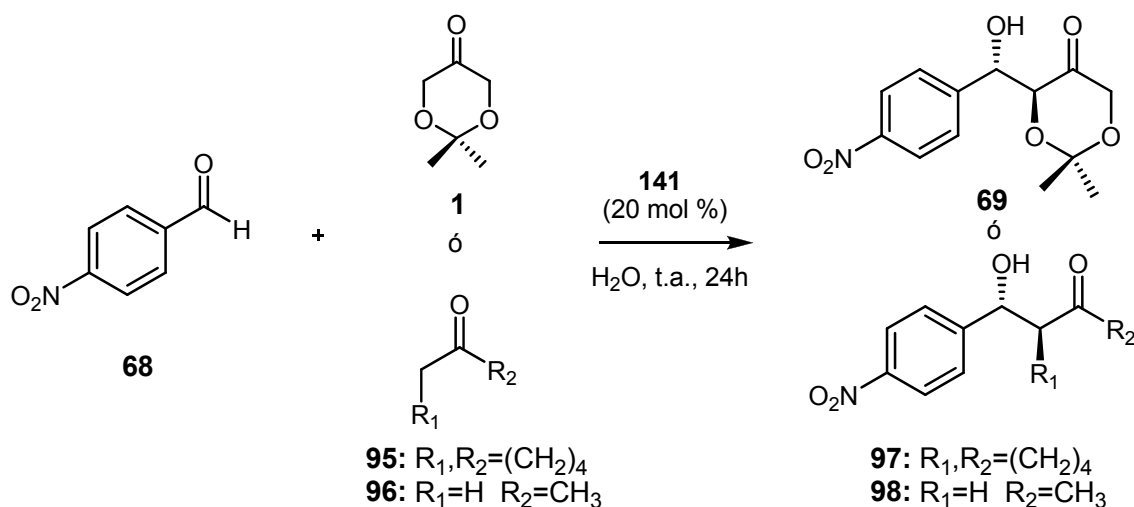
**Esquema 5.8.** Síntesis del catalizador permetilado **141**.

Así se llevó a cabo la metilación de la azida **119** con yoduro de metilo, dando lugar al derivado permetilado **142**.<sup>174</sup> La reducción del mismo a la amina **143** se realizó mediante hidrogenación catalítica. Las siguientes etapas de síntesis fueron similares a las empleadas para la obtención de **112** (esquema 5.2).

Una vez sintetizado el nuevo catalizador, llevamos a cabo las reacciones aldólicas entre 4-nitrobenzaldehído y las tres cetonas que ya veníamos empleando: dioxanona (**1**), ciclohexanona (**95**) y acetona (**96**). Los resultados se muestran en la tabla 5.6.

<sup>174</sup> Yuan, D. -Q.; Lu, J., Atsumi, M.; Yan, J. -M.; Kai, M.; Fujita, K. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2932-2939.

**Tabla 5.6.** Evaluación de la reacción aldólica en agua entre distintas cetonas y 4-nitrobenzaldehído catalizada por **141**.



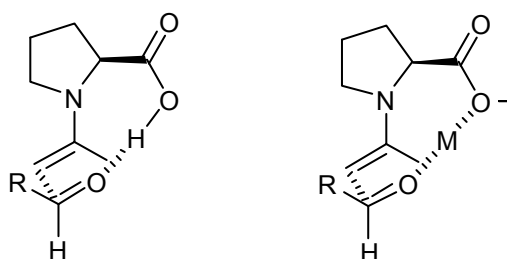
Entrada	Cetona	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>b</sup> (%)
1	<b>1</b>	89	1:1	10 <sup>c</sup>
2	<b>95</b>	69	1:1	54 <sup>d</sup>
3	<b>96</b>	100	-	6 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC. <sup>b</sup> Determinado por HPLC. <sup>c</sup> referido al diastereoisómero *anti*. <sup>d</sup> referido al diastereoisómero *sin*. <sup>e</sup> el enantiómero *R* fue el mayoritario.

La conversión obtenida con el catalizador permetilado **141** al emplear la cetona **1** como donador tras 24 horas de reacción fue muy superior a la obtenida con su equivalente hidroxilado **112** (ver tabla 5.4). Con las cetonas **95** y **96** las conversiones también fueron elevadas, destacando la completa conversión al utilizar **96**, pero las estereoselectividades continuaron siendo muy bajas, obteniéndose prácticamente los cuatro estereoisómeros posibles en las mismas proporciones. Por tanto, la presencia de los grupos hidroxilo del anillo de ciclodextrina no parece que tengan un papel importante en la baja estereoselectividad obtenida en agua, si bien su metilación incrementa la velocidad de la reacción.

También evaluamos el efecto de la adición de metales que pudiesen quelar al grupo carbonilo y al oxígeno del ácido, ejerciendo así el mismo efecto que el enlace de hidrógeno (figura 5.9), bajo una hipótesis similar a la discutida en capítulo 4 en las reacciones catalizadas por polímeros de prolina, en cuyo caso

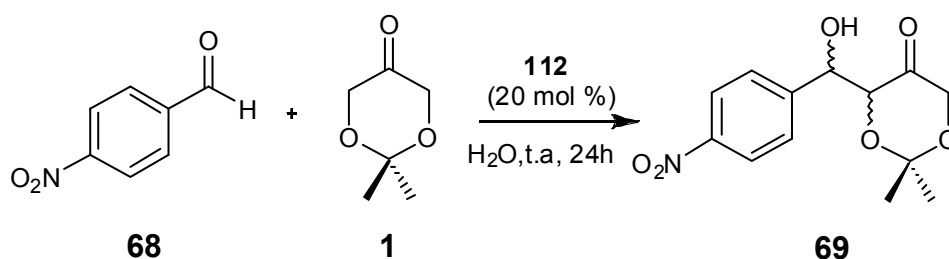
la adición de sales de metales divalentes dio lugar a un incremento de la estereoselectividad.



**Figura 5.9.** Estados de transición para la formación del diastereoisómero *anti* mayoritario en la reacción aldólica catalizada por prolina.

Llevamos a cabo por tanto las reacciones aldólicas en presencia de distintas concentraciones de sales de calcio y magnesio, ya que éstas últimas fueron las que mejores resultados nos habían proporcionado en las reacciones llevadas a cabo en el capítulo 4. Los resultados de las reacciones se muestran en la tabla 5.7:

**Tabla 5.7.** Reacción aldólica entre **68** y **1** empleando **112** como catalizador y con adición de distintas sales.



Entrada	Sal	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	ee <sup>a,b</sup> (%)
1	MgCl <sub>2</sub> 1M	89	1:1,5	2
2	MgCl <sub>2</sub> 0,5M	87	1:1,4	2
3	CaCl <sub>2</sub> 0,5M	67	1:1,8	0
4	CaCl <sub>2</sub> 1M	72	1:2	2
5	-	57	1:1,4	8

<sup>a</sup> Determinado por HPLC. <sup>b</sup> Los e.e. están referidos al isómero mayoritario.

Cabe destacar que, a igual que en el derivado de ciclodextrina permetilada, las conversiones fueron más elevadas que para la reacción en ausencia de

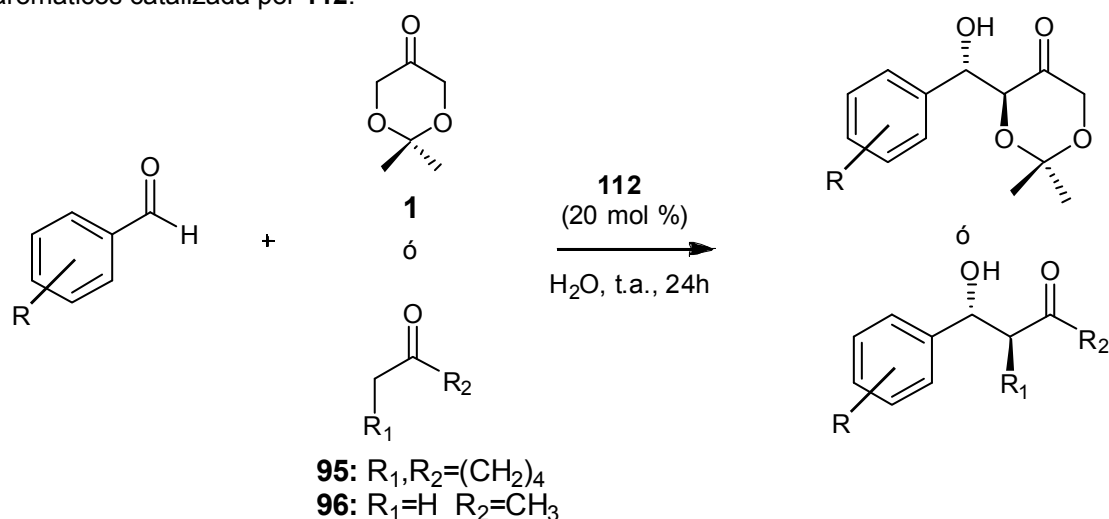
sales (entrada 5). Sin embargo las estereoselectividades de las reacciones no mejoraron.

### Reacciones con otros aldehídos y cetonas

Una vez mostrado que la reacción aldólica modelo podía ser llevada a cabo en agua, a pesar de las bajas estereoselectividades a las que daba lugar, decidimos probar su aplicación a otros aldehídos y cetonas, empleando **112** como catalizador.

Llevamos a cabo así las reacciones empleando tres cetonas diferentes: dioxanona (**1**), ciclohexanona (**95**) y acetona (**96**), y diferentes aldehídos aromáticos. Los resultados se muestran en la tabla 5.8.

**Tabla 5.8.** Evaluación de la reacción aldólica en agua entre distintas cetonas y aldehídos aromáticos catalizada por **112**.



Entrada	Cetona	Aldehído	Conv. <sup>a</sup> (%)	<i>anti:sin</i> <sup>a</sup>	<i>ee</i> <sup>b</sup> (%)
1	<b>1</b>	4-nitrobenzaldehído	57	1:1,4	8
2	<b>95</b>	4-nitrobenzaldehído	27	1,5:1	10
3	<b>96</b>	4-nitrobenzaldehído	21	-	6
4	<b>1</b>	2-nitrobenzaldehído	68	1,6:1	40
5	<b>1</b>	4-clorobenzaldehído	<5	n.d.	n.d.
6	<b>1</b>	2-clorobenzaldehído	<5	n.d.	n.d.

<sup>a</sup> Determinado por RMN y HPLC ; n.d. = no determinado. <sup>b</sup> Determinado por HPLC, y se encuentran referidos al diastereoisómero mayoritario.

La mejor conversión tras 24 horas de reacción se alcanzó al emplear 2-nitrobenzaldehído y dioxanona (entrada 4). En los nitrobenzaldehídos pudo

observarse un pequeño efecto de la posición del sustituyente nitro en la estereoselectividad, (entrada 4 frente a 1). En cuanto a los aldehídos, cabe destacar la importancia del sustituyente, puesto que únicamente tuvo lugar la reacción al emplear derivados aromáticos sustituidos con un grupo nitro. Ni el 2- ni el 4-clorobenzaldehído dieron lugar a cantidades detectables de aldol tras 24 horas.

### 5.2.3 Conclusiones acerca de los resultados obtenidos

Podemos concluir así que se ha llevado a cabo la síntesis de seis moléculas diferentes compuestas por derivados de prolina unidos covalentemente a  $\beta$ -ciclodextrina. Estas moléculas han sido evaluadas como catalizadores de la reacción aldólica tanto en agua como en DMF. El catalizador **112** fue el que dio lugar a mejores conversiones en ambos casos. Este catalizador posee una característica diferencial frente al resto, y es la **flexibilidad** que le confiere el espaciador derivado del ácido succínico que, a la vista de los resultados, parece ser importante para la actividad. Sin embargo, con este catalizador se observó una completa falta de estereoselectividad en la reacción aldólica.

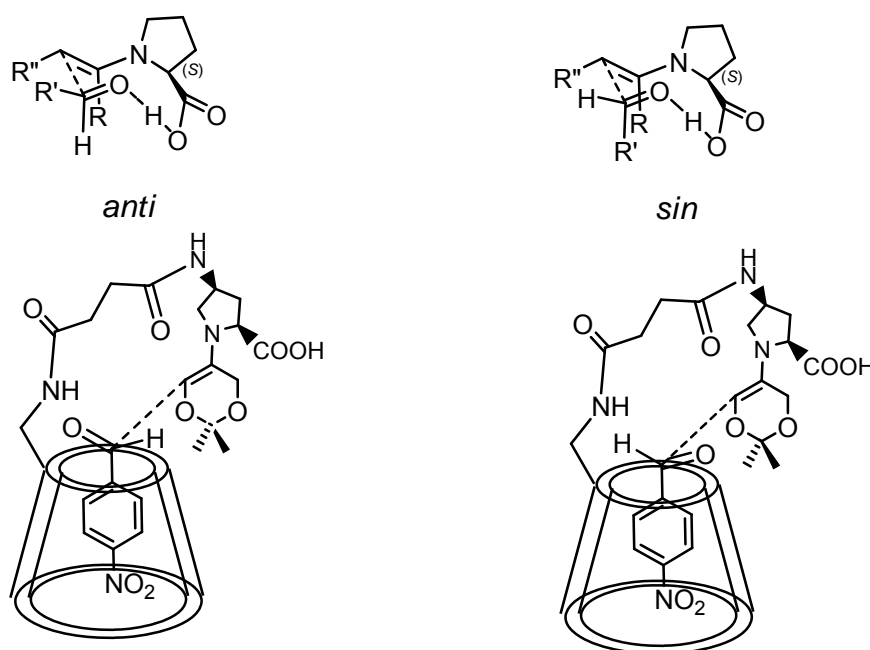
Se ha estudiado también el efecto del residuo de ciclodextrina en la actividad catalítica empleando un catalizador modelo (**139**). Los datos obtenidos nos indicaron que la **unión covalente entre la ciclodextrina y el resto de prolina** es imprescindible para que la reacción pueda transcurrir en agua, puesto que los componentes por separado no dieron lugar a los productos de adición aldólica.

Por otra parte se han realizado experimentos mediante los cuales comprobamos que existía **inhibición** cuando se adicionaba un ligando capaz de incluirse en la cavidad, lo cual nos llevó a pensar que realmente alguno de los sustratos estaba formando complejos de inclusión con la ciclodextrina en el transcurso de las reacciones aldólicas en agua.

En cuanto a las bajas estereoselectividades obtenidas en todos los casos al llevar a cabo la reacción en agua, debe tenerse en cuenta que este tipo de catalizadores presentan, además de la funcionalidad prolina, un centro de



unión adicional, como es la cavidad de la ciclodextrina, que puede estar influenciando la orientación adquirida por los sustratos. Cabe destacar que las estructuras de los complejos de bencenos sustituidos con  $\beta$ -CD muestran mayor variabilidad que para el caso de  $\alpha$ -CD, probablemente debido al mayor tamaño de la cavidad, el cual permite al sustrato aromático más posibilidades para minimizar la energía del sistema.<sup>175</sup> Por tanto, cabría la posibilidad de que los sustratos empleados en la reacción aldólica pudiesen adoptar diferentes posiciones en el interior de la cavidad, lo cual permitiría la formación de estereoisómeros menos favorecidos cuando esta cavidad no se encuentra presente (figura 5.10).



**Figura 5.10.** Estados de transición que darían lugar a la formación de los diastereoisómeros *anti* y *sin* en la reacción aldólica catalizada por prolina (arriba) y por el derivado **112** (abajo).

En cuanto a esto último, nos queda pendiente todavía la realización de estudios acerca de los distintos factores que podrían estar influyendo en la estabilización/desestabilización de los estados de transición que dan lugar a los cuatro posibles estereoisómeros, puesto que este conocimiento resultará básico a la hora de controlar y dirigir la disposición espacial de los reactivos a medida que la reacción transcurre.

<sup>175</sup> Connors, K. A. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1325-1357.



## **CONCLUSIONES**



- Se ha aplicado con éxito una ruta previamente desarrollada en el grupo para la obtención de iminoazúcares de anillo de seis miembros a la síntesis de iminoazúcares de anillo de cinco miembros, empleando como etapa clave una reacción aldólica catalizada por prolina soluble entre un  $\alpha$ -azido aldehído y distintas cetonas.
- Los orígenes de la doble inducción asimétrica observada en estas reacciones aldólicas catalizadas por prolina soluble han sido explicados mediante cálculos teóricos HF/6-31G(d), mostrando que son factores estéricos los que gobiernan el transcurso de la reacción.
- Los iminoazúcares obtenidos mediante la presente aproximación han sido evaluados como inhibidores de glicosidasas, mostrando en algunos casos valores de IC<sub>50</sub> en el rango de nm. Las interacciones moleculares del complejo inhibidor-enzima han sido estudiadas mediante técnicas computacionales de acoplamiento molecular (docking), obteniéndose una muy buena correlación entre los datos experimentales y los resultados teóricos.
- Se ha mostrado que (S)-prolina heterogeneizada sobre el soporte mesoporoso MCM-41 puede catalizar la reacción aldólica asimétrica en disolventes de distinta polaridad e hidrofobicidad, expandiendo la aplicación de esta variable fundamental al estudio de las reacciones catalizadas por prolina. Bajo estas condiciones heterogéneas se han obtenido precursores de iminoazúcares a partir de una reacción aldólica llevada a cabo en tolueno, un disolvente en el cual el uso de la (S)-prolina se encontraba limitado por problemas de solubilidad.
- Se han sintetizado polímeros preparados a partir de monómeros de hidroxiprolina, y han sido evaluados como catalizadores de la reacción

aldólica. Mientras que con los homopolímeros se obtuvieron los aldoles con rendimientos comparables a los obtenidos con (S)-prolina, pero mejores diastereo- y enantioselectividades en DMF, empleando copolímeros hidrofóbicos (prolina-estireno) se obtuvieron altas conversiones (>90%) en agua, obteniéndose mejores resultados cuanto mayor era la cantidad de estireno presente en el copolímero. Mediante la adición de sales de magnesio en el medio de reacción se ha logrado incrementar las estereoselectividades obtenidas en este disolvente.

- Nuevos catalizadores basados en prolina y prolinamidas unidos covalentemente a  $\beta$ -ciclodextrina han sido sintetizados y evaluados a su vez como catalizadores de la reacción aldólica en agua. Se ha mostrado también esta unión covalente entre ambas funcionalidades es esencial para que la reacción transcurra en este disolvente. En algunos casos se han alcanzado altas conversiones con aldehídos aromáticos que pueden ser incluidos en la cavidad de la ciclodextrina. Experimentos de inhibición mostraron que la reacción procedía a través de un complejo ciclodextrina-sustrato.

## **PARTE EXPERIMENTAL**





## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **TÉCNICAS Y APARATOS**

#### ***Procedimientos cromatográficos***

##### ***a) Cromatografía en capa fina***

El seguimiento de las reacciones se ha realizado por cromatografía en capa fina (t.l.c.) utilizando placas de gel de sílice tipo 60 F<sub>254</sub> de 0.2 mm de espesor (Merk). El análisis de las placas se ha llevado a cabo en una lámpara de UV de 254/365 nm y por revelado con molibdato amónico-Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, (50 g de molibdato amónico, 1 g de sulfato cérico (IV), 50 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y H<sub>2</sub>O hasta 1 L), con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado en etanol al 5%, ninhidrina (1 g de ninhidrina en 1 L de etanol (95 %) y 100 mL de n-butanol) y con permanganato potásico (3 g KMnO<sub>4</sub> y 30 g de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en 500 mL de agua).

##### ***b) Cromatografía flash***

En la mayoría de las reacciones la separación y purificación de los productos obtenidos se ha llevado a cabo mediante cromatografía flash en columna de gel de sílice con un tamaño de partícula de 230-400 mesh (Merk). Los eluyentes empleados se indican en cada caso y las proporciones indican la relación volumen:volumen.

##### ***d) Cromatografía de líquidos***

Se ha empleado un cromatógrafo Dionex PDA-100 con columnas Daicel Chiralpack AD-H y Daicel Chiralpack OD-H. Los eluyentes empleados se indican en cada caso y las proporciones indican la relación volumen:volumen.

##### ***e) Cromatografía de permeación en gel***

Estos análisis han sido realizados empleando una columna Resipore (250 x 4.6 mm, 3µM de tamaño de partícula nominal) Polymer Laboratories. Como disolvente se empleó DMF con 0.1% de LiBr. Las medidas se llevaron a cabo a 70°C a un flujo de 0.3 mL/min usando un detector RI. Los pesos moleculares de los polímeros se referenciaron con respecto a estándares de PEG.

#### ***Poderes rotatorios ópticos***

Los poderes rotatorios ópticos se han determinado en un polarímetro Perkin-Elmer 241 MC, en células de cuarzo de 1 dm, utilizando luz amarilla de sodio, a la temperatura de 20 °C y en los disolventes y concentraciones (g/ 100 mL) indicados en cada caso.

### **Técnicas espectroscópicas**

#### **a) Espectroscopía de $^1\text{H}$ -RMN**

Todos los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protón ( $^1\text{H}$ -RMN) se han realizado en los espectrómetros Varian de los modelos Gemini-200 (200 MHz), Innova-300 (300 MHz), Innova-400 (400 MHz), Mercury-400 (400 MHz), Innova-500 (500 MHz), y en Bruker-300 (300 MHz). En cada caso, junto al disolvente deuterado y la temperatura a la que se ha realizado el espectro, está indicada la frecuencia en la que se ha registrado el mismo. También se indican los desplazamientos químicos en la escala  $\delta$  (ppm), la multiplicidad de las señales (s, singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuartete; q, quintuplete; m, multiplete), el número de protones (deducidos por integración), el valor de las constantes de acoplamiento  $J$  (Hz) y la asignación estructural. Las medidas se hicieron con TMS como referencia para los desplazamientos químicos.

#### **b) Espectroscopía de $^{13}\text{C}$ -RMN**

Todos los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -RMN) se han realizado en los espectrómetros Varian de los modelos Gemini-200 (200 MHz), Innova-300 (300 MHz), Innova-400 (400 MHz), Mercury-400 (400 MHz), Innova-500 (500 MHz), y en Bruker-300 (300 MHz). En cada caso se indican los desplazamientos químicos de las señales en la escala de  $\delta$  (ppm) y la asignación estructural. Las medidas se hicieron con TMS como referencia para los desplazamientos químicos.

#### **c) Espectroscopía de RMN bidimensional**

Los experimentos COSY, HMQC, HMBC y NOESY se han realizado en los espectrómetros Varian de los modelos Innova-300, Innova-400, Mercury-400 e Innova-500, empleando la secuencia de pulsos estándar.

#### **d) Espectroscopía de $^{13}\text{C}$ -RMN (sólido)**

El espectro de Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13 en estado sólido, de la muestra de MCM41-Pro, fue realizado usando la técnica de CPMAS (Cross Polarization Magic Angle Spining) a 100.63 MHz en un espectrómetro de pulsos marca Bruker MSL 400 con transformada de Fourier. El ángulo de giro de la muestra fue de  $54^\circ 44'$  y el campo magnético externo utilizado fue de 9.4 T. Los tiempos utilizados en la secuencia de pulsos fueron de 6.5  $\mu\text{s}$  para los pulsos de  $90^\circ$ , 1-3 ms de tiempo de contacto en la polarización cruzada y 5 s de recuperación del sistema. Las medidas se hicieron a temperatura ambiente, con TMS como referencia para los desplazamientos químicos.

e) *Espectroscopía infrarroja (IR)*

Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer Spectrum One de rango 240-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Se empleó la técnica de dispersión en KBr y formación de pastillas a presión reducida.

f) *Espectroscopía UV-visible*

Se utilizó un espectrofotómetro Spectra Max Plus Molecular Devices.

**Espectrometría de masas (EM)**

El equipo utilizado fue un espectrómetro de masas de baja resolución VG 12-1250 mediante inyección directa de la muestra, usando la técnica de impacto electrónico (IE) con una energía de 70 eV y mediante Ionización por Electrospray (IES-EM) en un equipo Hewlett Packard – 110 MSD). Los datos obtenidos están expresados en unidades de masa/carga ( $m/z$ ). El equipo empleado para la obtención de las masas exactas fue un espectrómetro de masas con analizador de masas híbrido Q-TOF 6520 (Agilent Technologies).

**Análisis elementales**

Han sido realizados con un analizador Heraeus CHN-O Rapid, y se expresan en tanto por ciento.

**Disolventes**

Todos los disolventes anhidros se han preparado mediante técnicas habituales de secado<sup>176</sup> según se indica a continuación:

Tetrahidrofurano y tolueno se destilan sobre Na y benzofenona bajo atmósfera de argón, inmediatamente antes de su utilización.

Diclorometano y acetonitrilo se destilan sobre  $\text{CaH}_2$  bajo atmósfera de argón inmediatamente antes de su utilización.

**Reactivos**

Los siguientes reactivos se purificaron de acuerdo a los procedimientos indicados:<sup>176</sup>

Hidroxiacetona, cloruro de tionilo, isobutiraldehído, benzaldehído y ciclohexanona se destilaron.

Cloruro de tosilo se recrystaliza siguiendo el procedimiento descrito.<sup>177</sup>

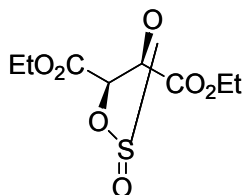
---

<sup>176</sup> Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R. En *Purification of Laboratory Chemicals*. Ed. Pergamon Press, 2<sup>nd</sup> Edition, Nueva York: **1980**.

<sup>177</sup> Staab, H. A.; Wende, L. *Ann. Chem.* **1966**, 86, 694.

CAPÍTULO 2

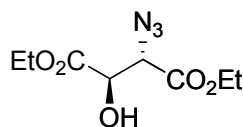
**(2R,3R)-2,3-O-Sulfinil-tartrato de dietilo (47)**



A una disolución de L-tartrato de dietilo (**17**) (3 g, 14.54 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (30 mL) enfriada a 0°C, se añadió trietilamina destilada (4.7 mL, 30 mmol). A continuación se adicionó gota a gota cloruro de tionilo (2.12 mL, 29.08 mmol) y se dejó agitando durante 15 min a 0°C y 2 h a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se añadió CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) a la reacción y se lavó con brine (3× 40 mL) y agua (3× 40 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentró a sequedad. Se obtuvo **47** cuantitativamente en forma de sólido amarillo pálido. No se pudo purificar el producto dada su inestabilidad.

$[\alpha]_D^{25} + 20.2^\circ$  (c 0.82, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) {lit.<sup>178</sup>  $[\alpha]_D^{25} + 18.5^\circ$  (c 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)}; <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 5.72 (d, 1H, J= 4.9 Hz, CH), 5.25 (d, 1H, J= 4.9 Hz, CH), 4.38-4.28 (m, 4H, 2× CH<sub>2</sub>), 1.34 (m, 6H, 2× CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 166.5 (éster), 166.5 (éster), 79.9 (CH), 79.3 (CH), 63.2 (CH<sub>2</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>), 14.0 (CH<sub>3</sub>).

**(2R,3S)-3-Azido-3-desoxi-tartrato de dietilo (48)**

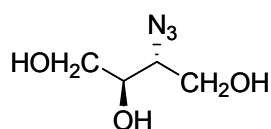


A una disolución enfriada a 0°C de **47** (3.2 g, 14.54 mmol) en DMF (50 mL), se añadió NaN<sub>3</sub> (1.4 g, 21.81 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. A continuación se evaporó el disolvente y el residuo resultante se disolvió en AcOEt (30 mL) y se lavó con NaCl saturado (3×30 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró a sequedad. El residuo se cromatógrafió en columna (hexano/AcOEt 3:1). Se obtuvo **48** (2,3 g, 70%) en forma de un aceite amarillento.

$[\alpha]_D^{25} + 30.2$  (c 0.68, EtOH) {lit.<sup>178</sup>  $[\alpha]_D + 32.8^\circ$  (c 1.64, EtOH)}; <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 4.62 (d, 1H, J= 5.4 Hz, H-2), 4.1-4.3 (m, 4H, 2× CH<sub>2</sub>), 3.31 (d, 1H, J= 5.4 Hz, H-3), 1.30-1.28 (m, 6H, 2× CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 170.7 (éster), 166.9 (éster), 71.5 (CH), 64.3 (CH), 62.6 (CH<sub>2</sub>), 62.2 (CH<sub>2</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>). EM (IE): m/z 232.6 (M+1). Anal. Calcd. (%) para C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: C, 41.56 H, 5.67; N 18.17. Encontrado: C 41.80; H 5.58; N 17.98.

<sup>178</sup> H.-S. Byun, L. He, R. Bittman, *Tetrahedron*, **2000**, 56, 7051.

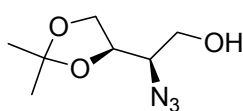
**3-Azido-3-desoxi-D-eritritol (49)**



A una disolución de **48** (2.46 g, 6.36 mmol) en EtOH (21mL) enfriada a 0°C se añadió sucesivamente NaBH<sub>4</sub> (1.23 g) y LiCl (1.37 g). A continuación la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Después de este tiempo la mezcla se enfrió a 0°C y se añadió una disolución HCl (1M) hasta pH 4. A continuación se evaporó el disolvente y el residuo se cromatografió (AcOEt/MeOH, 8:1). Se obtuvo **49** acompañado de sales que se usó sin purificación adicional en la siguiente reacción. No obstante, se consiguió una fracción para su caracterización.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> - 27.1 (c 1, MeOH); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K):  $\delta$  3.8-3.7 (m, 1H), 3.6-3.4 (m, 5H); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K):  $\delta$  70.9 (CH), 64.7 (CH), 62.5 (CH<sub>2</sub>), 61.1 (CH<sub>2</sub>); EM (IE): *m/z* 148.6 (M+1); Anal. Calcd. (%) para C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: C, 32.54; H, 6.49; N 28.46. Encontrado: C 32.54; H 6.24; N 28.64.

**3-Azido-1,2-O-isopropiliden-3-desoxi-D-eritritol (50)**



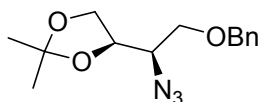
A una disolución de **49** (589 mg, 4.0 mmol) en 2,2-dimetoxipropano (0.6 mL), se añadió *p*-TsOH (5.76 mg, 0.03 mmol) y se agitó durante 24 horas. Pasado este tiempo, se evaporó el disolvente y el crudo se purificó en columna cromatográfica (hexano/AcOEt 5:1). Se obtuvieron **50** (374 mg, 50%), y **51** (405 mg, 39%), ambos en forma de aceite incoloro. El compuesto **51** (405 mg) se disolvió en DMF (3.5 mL) y se añadió *p*-toluensulfonato de piridinio (20% mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo se purificó en columna cromatográfica (hexano/AcOEt 3:1), obteniéndose **50** (292 mg, 100% desde **51**).

Compuesto **50**: [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> + 10.2° (c 0.48, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  4.1-4.0 (m, 2H, CH-O, CH<sub>A</sub>-CH<sub>B</sub>-CO), 3.9-3.8 (m, 2H, CH<sub>A</sub>-CH<sub>B</sub>-CO, CH<sub>A</sub>-CH<sub>B</sub>-OH), 3.7-3.5 (m, 2H, CH<sub>A</sub>-CH<sub>B</sub>-OH, CH-N), 2.04 (s, 1H, OH), 1.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  109.9 (Ac), 75.6 (CH-O), 66.7 (CH<sub>2</sub>-O), 64.8 (CH<sub>2</sub>OH), 62.8 (C-N), 26.6 (CH<sub>3</sub>), 25.3 (CH<sub>3</sub>). EM (IES-EM): *m/z* 210.0 (M+23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: C, 44.91 H, 7.00; N 22.45. Encontrado: C 45.12; H 6.94; N 22.36.

Compuesto **51**: <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  4.1-4.0 (m, 2H), 4.0-3.9 (m, 2H), 3.7-3.5 (m, 1H), 3.5-3.4 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.4-1.3 (m, 9H); <sup>13</sup>C RMN(75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  109.9 (C), 100.4 (C), 75.6 (CH), 66.8 (CH<sub>2</sub>), 63.8 (CH<sub>2</sub>), 61.7 (CH), 48.9 (CH<sub>3</sub>), 26.6 (CH<sub>3</sub>), 25.3 (CH<sub>3</sub>), 24.1 (CH<sub>3</sub>), 24.0 (CH<sub>3</sub>). EM (IES-

EM):  $m/z$  282.2 [M+23]; Anal. Calcd. (%) para  $C_{11}H_{21}N_3O_4$ : C, 50.95 H, 8.16; N 16.21. Encontrado: C 51.12; H 8.32; N 16.39.

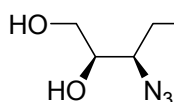
**2-Azido-1-O-bencil-2-desoxi-3,4-O-isopropiliden-L-eritritol (52)**



A una disolución, enfriada a  $-20^{\circ}\text{C}$ , de BnBr (0.35 mL, 2.92 mmol) y **50** (460 mg, 2.43 mmol) en DMF (30 mL) se adicionó lentamente NaH (87.4 mg, 3.64 mmol) y se dejó agitando a esta temperatura durante 2 h y a temperatura ambiente durante 1 h. Se evaporó el disolvente y el residuo se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se filtró sobre celita, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó en columna cromatográfica (hexano/AcOEt 4:1). Se obtuvo **52** (440 mg, 70%) en forma de aceite amarillo.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -16.8^{\circ}$  (c 0.47,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );  $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  7.6-7.3 (m, 5H, Ar), 4.42 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OBn}$ ), 4.1-4.0 (m, 2H, CH-O,  $\text{CH}_A\text{-CH}_B$ ), 3.9-3.8 (m, 2H,  $\text{CH}_A\text{-CH}_B$ ,  $\text{CH}_A\text{-CH}_B$ ), 3.7-3.5 (m, 2H,  $\text{CH}_A\text{-CH}_B$ , CH-N), 1.46 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.34 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  137.8 (Ar), 128.6 (Ar), 128.0 (Ar), 127.8 (Ar), 109.9 (Ac), 75.1 (CH-O), 73.7 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 70.2 ( $\text{CH}_2\text{-OPh}$ ), 66.7 ( $\text{CH}_2\text{OBn}$ ), 63.1 (C-N), 26.6 ( $\text{CH}_3$ ), 25.4 ( $\text{CH}_3$ ). EM (IES-EM):  $m/z$  300 (M+23); Anal. Calcd. (%) para  $C_{14}H_{19}N_3O_3$ : C, 60.63 H, 6.91; N 15.15. Encontrado: C 63.85; H 6.63; N 13.10.

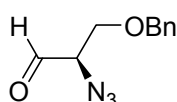
**2-Azido-1-O-bencil-2-desoxi-L-eritritol (53)**



Se disolvió el compuesto **52** (440 mg) en MeOH (11 mL) y a continuación se añadió una disolución acuosa de HCl (1M) (0.44 mL). La mezcla se dejó agitando durante 2 h a temperatura ambiente. Una vez terminada la reacción se evaporó el disolvente y el crudo se purificó en columna cromatográfica (hexano/AcOEt 1:1) obteniéndose **53** (310 mg, 82%) en forma de aceite incoloro.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -29.3^{\circ}$  (c 0.74, MeOH);  $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  7.5-7.4 (m, 5H, Ar), 4.59 (s, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.1-4.0 (m, 2H, CH-O,  $\text{CH}_A\text{-CH}_B\text{-CO}$ ), 3.7-3.6 (m, 6H);  $^{13}\text{C}$  RMN (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  137.5 (Ar), 128.8 (Ar), 128.2 (Ar), 127.9 (Ar), 73.9 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 71.8 (CH-OH), 70.1 ( $\text{CH}_2\text{-OBn}$ ), 63.6 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 62.1 (CH-N). EM (IES-EM):  $m/z$  260.0 (M+23); Anal. Calcd. (%) para  $C_{11}H_{15}N_3O_3$ : C, 55.69; H, 6.37; N 17.71. Encontrado: C 55.54; H 6.17; N 17.45.

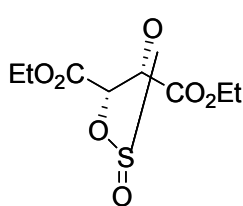
**2-Azido-2-desoxi-D-gliceraldehído (16)**



A una disolución del diol **53** (70 mg, 0.3 mmol) en MeOH (2 mL) enfriada a 0°C, se adicionó gota a gota una disolución de NaIO<sub>4</sub> (75.24 mg, 0.35 mmol) en agua (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 75 min y a continuación se añadió éter etílico (2mL). La fase orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró a sequedad para dar lugar a un residuo que se purificó en columna cromatográfica (hexano/AcOEt 3:1), obteniéndose **16** (50 mg, 83%) en forma de aceite incoloro.

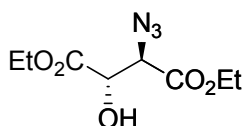
$[\alpha]_D^{25}$  -10.0° (c 0.04, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 9.59 (s, 1H, CHO), 7.3-7.2 (m, 5H, Ar), 3.9-3.4 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>CHN); <sup>13</sup>C RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 196.8 (CHO), 136.9 (Ar), 128.5 (Ar), 128.0 (Ar), 127.6 (Ar), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 68.2 (CH<sub>2</sub>OBn), 67.1 (CH-N). Anal. Calcd. (%) para C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: C, 58.53; H, 5.40; N 20.48. Encontrado: C 58.42; H 5.33; N 20.39.

**(2S,3S)-2,3-O-Sulfinil-tartrato de dietilo (ent-47)**



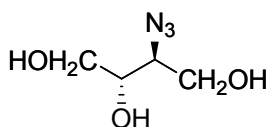
$[\alpha]_D^{25}$  - 19.3° (c 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**(2S,3R)-3-Azido-3-desoxi-tartrato de dietilo (ent-48)**



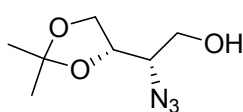
$[\alpha]_D^{25}$  - 32.2° (c 0.84, EtOH). EM (IE): *m/z* 232.6 (M+1). Anal. Calcd. (%) para C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: C, 41.56 H, 5.67; N 18.17. Encontrado: C 41.80; H 5.58; N 17.98.

**3-Azido-3-desoxi-L-eritritol (ent-49)**



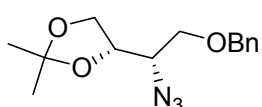
$[\alpha]_D^{25}$  + 28.2° (c 0.34, MeOH); EM (IES-EM): *m/z* 148.6 (M+1); Anal. Calcd. (%) para C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: C, 32.54 H, 6.49; N 28.46. Encontrado: C 32.67; H 6.64; N 28.27.

**3-Azido-1,2-O-isopropiliden-3-desoxi-L-eritritol (ent-50)**



$[\alpha]_D^{25}$  - 8.0° (c 0.25, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); EM (IES-EM): *m/z* 210.0 (M+23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: C, 44.91 H, 7.00; N 22.45. Encontrado: C 45.12; H 6.94; N 22.36.

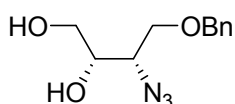
**2-Azido-1-O-bencil-2-desoxi-3,4-O-isopropiliden-D-eritritol (ent-52)**



$[\alpha]_D^{25} + 15.7^\circ$  (c 0.58, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

EM (IES-EM):  $m/z$  300 (M+23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: C, 60.63; H, 6.91; N 15.15. Encontrado: C 63.85; H 6.63; N 13.10.

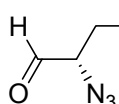
**2-Azido-1-O-bencil-2-desoxi-D-eritritol (ent-53)**



$[\alpha]_D^{25} + 40.5^\circ$  (c 0.18, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); EM (IES-EM):  $m/z$  260.0 (M+23);

Anal. Calcd. (%) para C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: C, 55.69; H, 6.37; N 17.71. Encontrado: C 50.19; H 6.51; N 13.45.

**2-Azido-2-desoxi-L-gliceraldehído (ent-16)**

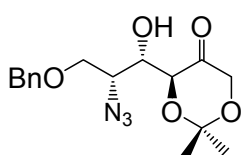


$[\alpha]_D^{25} + 7.0^\circ$  (c 0.16, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); Anal. Calcd. (%) para C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: C, 58.53; H, 5.40; N 20.48. Encontrado: C 58.71; H 5.21; N 20.35.

**Procedimiento general para la reacción aldólica catalizada por prolina entre el aldehído 16 (ent-16) y dioxanona (1)**

Una disolución de prolina (5.5 mg, 0.048 mmol) en DMF (0.2 ml) se agitó durante 24 h, tras lo cual se añadió la dioxanona **1** (0.13 g, 1 mmol) y el aldehído **16** (0.10 g, 0.48 mmol, en tres adiciones de 0.16 mmol disueltas en 33  $\mu$ l de DMF cada una durante 48 horas). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 96 h tras la última adición. Pasado este tiempo se añadió NH<sub>4</sub>Cl (sat) (1 mL) y se extrajo con AcOEt (3  $\times$  2 mL). Se juntaron las fases orgánicas y la disolución resultante se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó por columna cromatográfica (hexano/AcOEt 4:1). Rendimientos y relación *anti/sin* se muestran en el esquema 2.6.

**(3S,4S,5R)-5-Azido-6-O-bencil-1,3,4-trihidroxi-1,3-O-isopropiliden-hexan-2-ona (anti-15a)**



Columna cromatográfica (hexano/AcOEt 4:1).

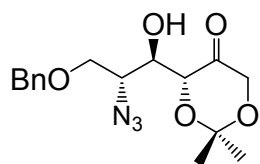
$[\alpha]_D^{25} -22.1^\circ$  (c 0.14, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  7.4-7.3 (m, 5H, Ph), 4.7-4.5 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.38 (dd, 1H,  $J = 8.7, 1.5$  Hz, H-4), 4.28 (Sist. AB, 1H,  $J = 17.7$  Hz,

CH<sub>2A</sub>-1), 4.07 (Sist. AB, 1H,  $J = 17.7$  Hz, CH<sub>2B</sub>-1), 4.0-3.9 (m, 1H, H-3), 3.9-3.8 (m, 2H, H-5, H-6<sub>A</sub>), 3.76 (d, 1H,  $J = 3.9$  Hz, H-6<sub>B</sub>), 1.51 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  212.5 (cetona), 138.1 (Ar), 128.9 (Ar), 128.3 (Ar), 127.4 (Ar),



101.9 (Ac), 74.1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$ ), 72.5 (C4), 70.3-70.2 (C-3,6), 66.9 (C-1), 60.8 (C-5), 23.9 (CH<sub>3</sub>), 23.8 (CH<sub>3</sub>). EM (IES-EM):  $m/z$  358.0 (M+23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: C, 57.30; H, 6.31; N 12.53. Encontrado: C 57.28; H 6.21; N 12.86.

**(3R,4R,5R)-5-Azido-6-O-bencil-1,3,4-trihidroxi-1,3-O-isopropiliden-hexan-2-ona**  
**(anti-15b)**



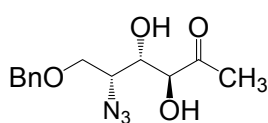
Columna cromatográfica (hexano/AcOEt 4:1).

$[\alpha]_D^{25} +25.1^\circ$  (c 0.7, MeOH); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  (isómero mayoritario) 7.4-7.3 (m, 5H, Ph), 4.7-4.5 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.39 (dt, 1H,  $J = 8.7, 1.5$  Hz, H-4), 4.28 (Sist. AB, 1H,  $J = 17.7$  Hz, CH<sub>2A</sub>-1), 4.09 (Sist. AB, 1H,  $J = 17.7$ , CH<sub>2B</sub>-1), 4.0-3.9 (m, 1H, H-3), 3.9-3.8 (m, 2H, H-6), 3.77 (dd, 1H,  $J = 3.9, 1.5$  Hz, H-5), 1.51 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  (isómero mayoritario) 212.5 (cetona), 137.8 (Ar), 128.8 (Ar), 128.1 (Ar), 127.2 (Ar), 101.8 (Ac), 73.8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$ ), 72.3 (C-4), 70.1-70.0 (C-3,6), 66.7 (C-1), 60.7 (C-5), 23.8 (CH<sub>3</sub>), 23.7 (CH<sub>3</sub>). EM (IES-EM):  $m/z$  358.0 (M+23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: C, 57.30; H, 6.31; N 12.53. Encontrado: C 57.25; H 6.27; N 12.72.

**Procedimiento general para la reacción aldólica catalizada por prolina entre el aldehído 16 (ent-16) e hidroxiacetona (21)**

Una disolución de prolina (5.5 mg, 0.048 mmol) en DMF (0.2 ml) se agitó durante 24 h, tras lo cual se añadió la hidroxiacetona **21** (1.87 g, 14.4 mmol) y el aldehído **16** (0.10 g, 0.48 mmol, en tres adiciones de 0.16 mmol disueltas en 33  $\mu$ l de DMF cada una durante 48 horas). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 96 h tras la última adición. Pasado este tiempo se añadió NH<sub>4</sub>Cl (sat) (1 mL) y se extrajo con AcOEt (3  $\times$  2 mL). Se juntaron las fases orgánicas y la disolución resultante se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó por columna cromatográfica (hexano/AcOEt 2:1). Rendimientos y relación *anti/sin* se muestran en el esquema 2.6.

**(3S,4S,5R)-5-Azido-6-O-bencil-3,4-dihidroxihexan-2-ona (anti-20a) (obtenido como una mezcla de anti-20a y sin-20a)**



Columna cromatográfica (hexano/AcOEt 2:1).

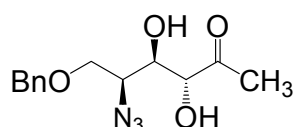
<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  (isómero mayoritario) 7.4-7.2 (m, 5H, Ph), 4.57 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.3-4.1 (m, 2H, H-3, H-4), 3.8-3.6 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.7 (s, 1H, H-5), 2.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298

K):  $\delta$  (isómero mayoritario) 207.5 (cetona), 136.64 (Ar), 128.2 (Ar), 128.0 (Ar), 127.8 (Ar), 77.1 (C-3), 75.3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$ ), 73.1 (C-6), 67.6 (C-4), 57.2 (C-5), 28.1 ( $\text{CH}_3$ ).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  (isómero minoritario) 7.4-7.2 (m, 5H, Ar), 4.57 (s, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.3-4.1 (m, H3, H4), 3.8-3.6 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.7 (s, 1H, H-5), 2.15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  (isómero minoritario) 211.4, 136.6, 129.2, 128.5, 127.9, 76.7, 76.2, 74.2, 71.3, 61.4, 28.1.

EM (IE): 280.2 (M+1), 302.0 (M+23); Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ : C 55.91, H 6.14, N 15.05. Encontrado: C 55.92, H 6.34, N 14.89.

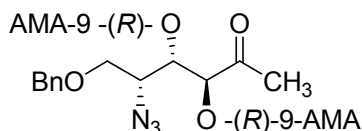
**(3R,4R,5S)-5-Azido-6-O-bencil-3,4-dihidroxihexan-2-ona (anti-ent-20a) (obtenido como una mezcla de anti-ent-20a y sin-ent-20a)**



Columna cromatográfica (hexano/AcOEt 2:1).

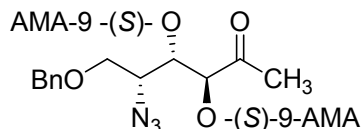
EM (IE): 261.0 (M-18); Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ : C 55.91, H 6.14, N 15.05. Encontrado: C 56.20, H 5.99, N 15.31.

**Bis-(R)-9-AMA éster de (3S,4S,5R)-5-Azido-6-O-bencil-3,4-dihidroxihexan-2-ona ((R,R)-9-AMA-20a)**



$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  8.4-7.2 (m, 18H, Ar), 6.4 (s, 1H, H-9-AMA), 5.86 (s, 1H, H-9-AMA), 4.97 (dd, 1H,  $J= 1.8, 9.0$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 4.82 (d, 1H,  $J= 1.8$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 2.19 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**Bis-(S)-9-AMA éster de (3S,4S,5R)-5-Azido-6-O-bencil-3,4-dihidroxihexan-2-ona ((S,S)-9-AMA-20a)**



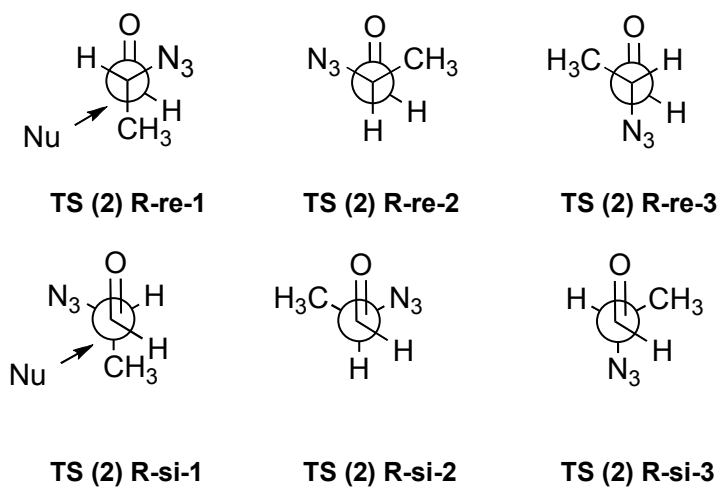
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  8.6-7.2 (m, 18H, Ar), 6.4 (s, 1H, H-9-AMA), 5.86 (s, 1H, H-9-AMA), 5.09 (dd, 1H,  $J= 1.8, 9.0$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 4.49 (d, 1H,  $J= 1.8$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 2.08 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

Cálculos teóricos

El análisis conformacional de los compuestos se llevó a cabo con el programa MACROMODEL y los cálculos *ab initio* con Gaussian 03 (revisión c02).

**Matriz Z y valores termodinámicos de los modelos mostrados en las figuras 2.11 y 2.12:**

**Coordenadas para los estados de transición de la reacción aldólica de 54 con 55b: primera fila ataque *anti-re*, segunda fila ataque *anti-si***



TS (2) R-re-1

Not found

TS (2) R-re-2

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000012	0.000450	YES
RMS Force	0.000001	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.000798	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000101	0.001200	YES

## Parte experimental

Predicted change in Energy=-6.221714D-10

Optimization completed.

-- Stationary point found.

-----  
! Optimized Parameters !

! (Angstroms and Degrees) !  
-----

Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	0.003697	-0.004825	-0.012689
2	6	0	-0.005279	0.008909	1.515205
3	6	0	1.475654	0.002034	1.885636
4	6	0	1.161855	-0.956859	-0.337869
5	6	0	3.401426	-0.937487	0.659462
6	6	0	4.220410	-0.952848	1.818780
7	6	0	3.660475	-2.527172	2.696353
8	6	0	4.494680	-3.672831	2.122845
9	8	0	2.396650	-2.629545	2.661836
10	6	0	0.651931	-2.409694	-0.396413
11	8	0	0.034860	-2.714060	-1.368284
12	8	0	0.841344	-3.208942	0.605993
13	1	0	-0.920933	-0.339922	-0.459081
14	1	0	0.232894	0.982824	-0.400361
15	1	0	-0.484690	-0.884049	1.898842
16	1	0	-0.516498	0.868920	1.928810
17	1	0	1.877590	1.009302	1.939539
18	1	0	1.673309	-0.529978	2.795810
19	1	0	1.584217	-0.744048	-1.307392

*Parte experimental*

---

20	1	0	3.948476	-0.237584	2.575786
21	1	0	4.105315	-2.222830	3.648219
22	1	0	1.471376	-2.948370	1.315510
23	7	0	2.124742	-0.682124	0.736011
24	6	0	6.096419	-0.715315	0.351987
25	8	0	5.601305	-0.964308	1.636460
26	8	0	5.389657	-1.496083	-0.573259
27	6	0	6.016602	0.775131	0.020154
28	1	0	6.660880	1.327157	0.693026
29	1	0	6.342330	0.947815	-0.998997
30	1	0	5.014293	1.173365	0.129775
31	6	0	7.525261	-1.218098	0.325125
32	1	0	7.536953	-2.282690	0.517186
33	1	0	7.968825	-1.033573	-0.645547
34	1	0	8.109050	-0.715440	1.086043
35	6	0	4.024596	-1.263129	-0.677403
36	1	0	3.826710	-0.423383	-1.340242
37	1	0	3.581474	-2.146875	-1.107184
38	6	0	4.317780	-4.898819	3.020850
39	1	0	4.664941	-4.687435	4.027652
40	1	0	3.272993	-5.175887	3.062739
41	1	0	4.892061	-5.739753	2.643304
42	1	0	5.537723	-3.381971	2.097631
43	7	0	4.017922	-3.948992	0.754474
44	7	0	4.795682	-4.630230	0.096850
45	7	0	5.444594	-5.237834	-0.555124

---

Zero-point correction= 0.399373  
(Hartree/Particle)

Thermal correction to Energy= 0.420135

Thermal correction to Enthalpy= 0.421079

*Parte experimental*

---

Thermal correction to Gibbs Free Energy= 0.349486  
Sum of electronic and zero-point Energies= -1134.509960  
Sum of electronic and thermal Energies= -1134.489198  
Sum of electronic and thermal Enthalpies= -1134.492254  
Sum of electronic and thermal Free Energies= -1134.559847

**TS (2) R-re-3**

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000001	0.000450	YES
RMS Force	0.000000	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.000270	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000041	0.001200	YES

Predicted change in Energy=-1.782887D-10

Optimization completed.

-- Stationary point found.

-----  
! Optimized Parameters !  
! (Angstroms and Degrees) !  
-----

-----

Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	0.017786	-0.020113	-0.027678
2	6	0	-0.009313	0.019217	1.498840
3	6	0	1.465289	-0.010524	1.880244
4	6	0	1.156988	-1.003159	-0.329904
5	6	0	3.318658	-1.228298	0.801363

-----

*Parte experimental*

---

6	6	0	4.083443	-1.278126	2.005308
7	6	0	3.223300	-2.636438	3.023461
8	6	0	3.988784	-3.966628	2.948575
9	8	0	1.984874	-2.698286	2.715547
10	6	0	0.625129	-2.441854	-0.467764
11	8	0	0.839757	-3.306949	0.475552
12	8	0	0.023947	-2.695069	-1.462614
13	1	0	-0.907942	-0.341383	-0.481969
14	1	0	0.271288	0.956455	-0.426974
15	1	0	-0.504375	-0.859637	1.896018
16	1	0	-0.508612	0.895608	1.891805
17	1	0	1.903545	0.982797	1.865326
18	1	0	1.633543	-0.483847	2.826946
19	1	0	1.626717	-0.773246	-1.274326
20	1	0	3.900618	-0.447957	2.667801
21	1	0	3.461990	-2.162582	3.975266
22	1	0	1.296484	-3.017760	1.306233
23	7	0	2.091164	-0.797813	0.787370
24	6	0	6.015904	-1.326479	0.595941
25	6	0	7.389066	-1.962704	0.653300
26	1	0	7.868831	-1.907933	-0.316407
27	1	0	8.000666	-1.450520	1.385242
28	1	0	7.289789	-2.998288	0.947091
29	6	0	6.088415	0.146170	0.189077
30	1	0	6.729732	0.677953	0.880733
31	1	0	6.497876	0.235324	-0.810320
32	1	0	5.119726	0.633915	0.202155
33	8	0	5.451629	-1.478811	1.859644
34	8	0	5.273087	-2.078269	-0.333163
35	6	0	3.931689	-1.756702	-0.475502

*Parte experimental*

---

36	1	0	3.799779	-1.000411	-1.244646
37	1	0	3.419726	-2.653034	-0.800464
38	6	0	4.068639	-4.632656	1.582143
39	1	0	4.723734	-4.087955	0.917695
40	1	0	4.458496	-5.641269	1.681159
41	1	0	3.080827	-4.707472	1.144159
42	7	0	5.320529	-3.812648	3.571801
43	7	0	5.707145	-4.822790	4.143827
44	7	0	6.128081	-5.690359	4.681321
45	1	0	3.374668	-4.594274	3.591395

---

Zero-point correction= (Hartree/Particle)	0.398984
Thermal correction to Energy=	0.419884
Thermal correction to Enthalpy=	0.420828
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.348478
Sum of electronic and zero-point Energies=	-1134.499391
Sum of electronic and thermal Energies=	-1134.478490
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-1134.477546
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-1134.549896

**TS(2) R-si-1**

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000019	0.000450	YES
RMS Force	0.000001	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.000289	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000055	0.001200	YES



## Parte experimental

Predicted change in Energy=-7.054265D-09

Optimization completed.

-- Stationary point found.

-----  
! Optimized Parameters !

! (Angstroms and Degrees) !  
-----

Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	-0.002428	0.003396	0.004236
2	6	0	0.000943	-0.003357	1.527630
3	6	0	1.488945	-0.001738	1.873131
4	6	0	2.089024	0.954878	0.831808
5	6	0	1.500973	1.170197	-1.547707
6	6	0	0.540308	1.184664	-2.579009
7	6	0	-0.404931	2.771956	-2.029768
8	6	0	-1.765801	2.663396	-2.743147
9	8	0	-0.502974	2.854001	-0.768155
10	6	0	2.171717	2.390821	1.383947
11	8	0	2.975404	2.583284	2.240247
12	8	0	1.403391	3.322219	0.908710
13	1	0	0.093078	-0.999569	-0.401380
14	1	0	-0.867372	0.480317	-0.414338
15	1	0	-0.479423	0.895318	1.898372
16	1	0	-0.527041	-0.858804	1.929145
17	1	0	1.713876	0.322344	2.878273
18	1	0	1.908411	-0.992676	1.733538
19	1	0	3.107721	0.679255	0.599699

*Parte experimental*

---

20	1	0	0.696873	3.080962	0.259411
21	1	0	-2.211397	3.635520	-2.536047
22	1	0	-0.228013	0.434020	-2.554285
23	1	0	0.269499	3.450015	-2.556580
24	7	0	1.220422	0.761937	-0.338576
25	6	0	2.361142	1.454749	-4.113491
26	8	0	0.985124	1.397061	-3.879939
27	8	0	2.958837	2.250787	-3.127116
28	6	0	2.961350	0.049468	-4.154249
29	1	0	2.738255	-0.523292	-3.261283
30	1	0	2.550190	-0.491292	-4.997386
31	1	0	4.038113	0.106483	-4.264612
32	6	0	2.554541	2.189543	-5.423800
33	1	0	3.608541	2.256271	-5.664296
34	1	0	2.038793	1.668141	-6.220445
35	1	0	2.149429	3.188816	-5.335166
36	6	0	2.844978	1.804419	-1.818145
37	1	0	3.624393	1.086207	-1.577165
38	1	0	2.979635	2.670634	-1.184896
39	7	0	-2.588289	1.608955	-2.130898
40	7	0	-3.136248	1.948739	-1.080582
41	7	0	-3.691197	2.157216	-0.154427
42	6	0	-1.776529	2.449859	-4.249252
43	1	0	-2.782235	2.603907	-4.623166
44	1	0	-1.113308	3.151416	-4.741326
45	1	0	-1.467852	1.449204	-4.516751

---

Zero-point correction= 0.399002  
(Hartree/Particle)  
Thermal correction to Energy= 0.419848  
Thermal correction to Enthalpy= 0.420792

*Parte experimental*

---

```
Thermal correction to Gibbs Free Energy=      0.349340
Sum of electronic and zero-point Energies=     -1134.515749
Sum of electronic and thermal Energies=       -1134.494903
Sum of electronic and thermal Enthalpies=     -1134.493959
Sum of electronic and thermal Free Energies=   -1134.565411
```

**TS (3) R-si-2**

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000008	0.000450	YES
RMS Force	0.000001	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.000130	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000023	0.001200	YES

Predicted change in Energy=-7.189206D-10

Optimization completed.

-- Stationary point found.

```
-----
!   Optimized Parameters   !
! (Angstroms and Degrees) !
-----
```

```
-----
Center   Atomic   Atomic           Coordinates (Angstroms)
Number   Number   Type             X             Y             Z
-----
1         6         0         0.000405    -0.000513     0.000569
2         6         0         0.000401    -0.001025     1.526244
3         6         0         1.485623     0.000117     1.883843
```

### *Parte experimental*

---

4	6	0	2.092443	0.943325	0.837148
5	6	0	1.577776	1.060323	-1.561350
6	6	0	0.636891	1.075566	-2.614374
7	6	0	-0.178562	2.722718	-2.155918
8	6	0	-1.356979	2.783904	-3.142453
9	8	0	-0.477712	2.786009	-0.919543
10	6	0	2.124941	2.396438	1.350237
11	8	0	1.353901	3.295224	0.822743
12	8	0	2.895739	2.628283	2.226957
13	1	0	0.053606	-1.007181	-0.402834
14	1	0	-0.844074	0.519395	-0.410711
15	1	0	-0.479310	0.899813	1.892363
16	1	0	-0.532739	-0.852945	1.928360
17	1	0	1.701391	0.336631	2.886845
18	1	0	1.905352	-0.992696	1.758673
19	1	0	3.121520	0.684564	0.634625
20	1	0	0.662897	3.030941	0.159248
21	1	0	-1.019863	2.511165	-4.129889
22	1	0	-0.152952	0.349576	-2.568504
23	1	0	0.632840	3.351383	-2.525972
24	7	0	1.254952	0.706826	-0.347058
25	6	0	2.484006	1.245565	-4.129108
26	8	0	1.101078	1.204493	-3.916802
27	8	0	3.075208	2.057126	-3.151127
28	6	0	3.065252	-0.167708	-4.124560
29	1	0	4.144413	-0.128351	-4.217351
30	1	0	2.818397	-0.714136	-3.221053
31	1	0	2.661093	-0.724074	-4.960792
32	6	0	2.705443	1.947951	-5.452196
33	1	0	3.763942	2.000153	-5.675815

*Parte experimental*

---

34	1	0	2.199152	1.411490	-6.244908
35	1	0	2.306017	2.951578	-5.393928
36	6	0	2.942231	1.647423	-1.832190
37	1	0	3.096802	2.525879	-1.220241
38	1	0	3.698184	0.913253	-1.565703
39	7	0	-1.723338	4.208949	-3.290412
40	7	0	-2.227599	4.718674	-2.285617
41	7	0	-2.697609	5.270710	-1.458747
42	6	0	-2.552332	1.928241	-2.736179
43	1	0	-3.372321	2.095267	-3.425418
44	1	0	-2.310885	0.870759	-2.763560
45	1	0	-2.880624	2.170941	-1.733390

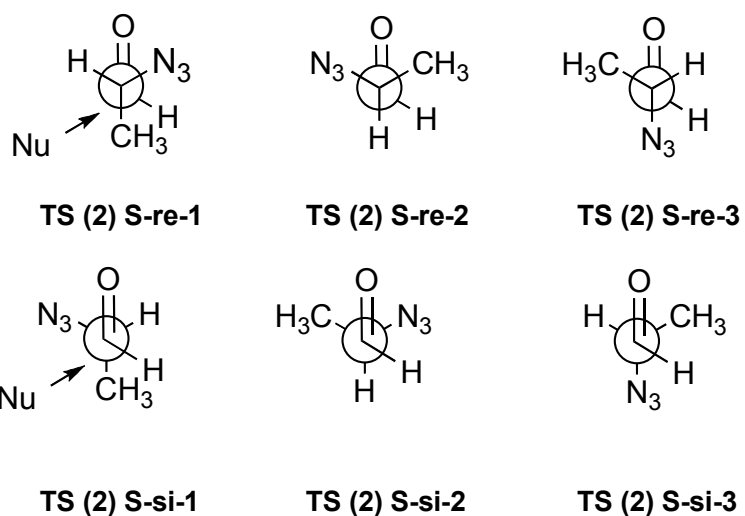
---

Zero-point correction= (Hartree/Particle)	0.398998
Thermal correction to Energy=	0.419963
Thermal correction to Enthalpy=	0.420907
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.348889
Sum of electronic and zero-point Energies=	-1134.514211
Sum of electronic and thermal Energies=	-1134.493246
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-1134.492301
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-1134.564320

**TS(2) R-si-3**

**Not found**

Coordenadas para los estados de transición de la reacción aldólica de 54 con 55a: primera fila ataque *anti-re*, segunda fila ataque *anti-si*



**TS (2) S-re-1**

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000031	0.000450	YES
RMS Force	0.000003	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.001048	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000157	0.001200	YES

Predicted change in Energy= 7.874576D-09

Optimization completed.

-- Stationary point found.

```

-----
!   Optimized Parameters   !
! (Angstroms and Degrees) !
-----
-----

```

## *Parte experimental*

---

Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	-0.049225	0.004643	-0.070648
2	6	0	0.037270	-0.170746	2.363684
3	6	0	1.430326	0.113919	1.812190
4	6	0	1.149649	0.792898	0.473107
5	6	0	-1.913122	-3.660573	3.622517
6	6	0	-1.787824	-3.090646	2.195578
7	8	0	-0.585028	-3.005552	1.791517
8	6	0	-2.019675	-0.784877	1.168355
9	6	0	-2.604355	-1.354291	2.322667
10	6	0	0.411693	-1.167800	-0.959248
11	8	0	0.915298	-0.875086	-1.996891
12	8	0	0.224562	-2.393153	-0.578731
13	1	0	-0.659938	0.625724	-0.709754
14	1	0	-0.359077	0.676505	2.915176
15	1	0	0.008786	-1.054641	2.972328
16	1	0	2.013029	0.728307	2.486492
17	1	0	1.961346	-0.819443	1.661863
18	1	0	0.859321	1.826966	0.627728
19	1	0	1.978005	0.772218	-0.218930
20	1	0	-0.105284	-2.574457	0.338196
21	1	0	-2.265875	-0.974715	3.270981
22	1	0	-2.544150	-3.497891	1.523368
23	1	0	-1.273762	-3.060511	4.266568
24	7	0	-0.785477	-0.362934	1.148220
25	6	0	-2.806478	-0.831407	-0.120218
26	6	0	-4.728412	-1.039438	1.253395

*Parte experimental*

---

27	8	0	-4.071936	-1.369517	0.060556
28	8	0	-3.984445	-1.525388	2.332503
29	6	0	-6.036052	-1.803355	1.242082
30	6	0	-4.947714	0.467506	1.386319
31	1	0	-2.859539	0.172132	-0.534068
32	1	0	-2.301148	-1.464644	-0.836683
33	1	0	-6.558215	-1.657790	2.179436
34	1	0	-6.662521	-1.461363	0.427363
35	1	0	-5.831307	-2.857542	1.111892
36	1	0	-5.462206	0.848660	0.511805
37	1	0	-5.551721	0.665693	2.262796
38	1	0	-4.018367	1.013957	1.502064
39	6	0	-3.308530	-3.764048	4.220688
40	1	0	-3.250020	-4.301295	5.159631
41	1	0	-3.744749	-2.792387	4.402055
42	1	0	-3.967765	-4.314298	3.559366
43	7	0	-1.405522	-5.044996	3.568851
44	7	0	-0.182540	-5.139422	3.445743
45	7	0	0.895392	-5.339182	3.368029

---

Zero-point correction= (Hartree/Particle)	0.398671
Thermal correction to Energy=	0.419618
Thermal correction to Enthalpy=	0.420562
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.348555
Sum of electronic and zero-point Energies=	-1134.511966
Sum of electronic and thermal Energies=	-1134.491019
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-1134.490074
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-1134.562082



*Parte experimental*

---

**TS (2) S-re-2**

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000032	0.000450	YES
RMS Force	0.000003	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.001545	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000269	0.001200	YES

Predicted change in Energy=-1.080083D-08

Optimization completed.

-- Stationary point found.

-----  
! Optimized Parameters !  
! (Angstroms and Degrees) !  
-----

-----  
-----

Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	-0.042405	0.002843	-0.089695
2	6	0	0.085452	0.052821	2.349794
3	6	0	1.489395	0.024932	1.756965
4	6	0	1.294171	0.610666	0.359491
5	6	0	-2.583789	-2.983374	3.820809
6	6	0	-2.200272	-2.553999	2.397090
7	8	0	-0.981028	-2.723744	2.083216
8	6	0	-2.077651	-0.335002	1.246902
9	6	0	-2.698180	-0.724257	2.449411
10	6	0	0.179356	-1.306707	-0.870397
11	8	0	0.649352	-1.201502	-1.958788

*Parte experimental*

---

12	8	0	-0.152102	-2.446383	-0.346520
13	1	0	-0.554676	0.662903	-0.774824
14	1	0	-0.141185	1.013357	2.802627
15	1	0	-0.084069	-0.733334	3.060153
16	1	0	2.192335	0.587023	2.358322
17	1	0	1.840504	-0.999159	1.696395
18	1	0	1.196830	1.690037	0.413540
19	1	0	2.085529	0.376273	-0.336871
20	1	0	-0.459228	-2.481669	0.595449
21	1	0	-2.263593	-0.389725	3.372286
22	1	0	-2.973428	-2.852151	1.684593
23	1	0	-3.529282	-2.544845	4.099855
24	7	0	-0.790426	-0.122592	1.168590
25	6	0	-2.910974	-0.344127	-0.012186
26	6	0	-4.795612	-0.194272	1.426735
27	8	0	-4.085436	-0.698485	2.520746
28	8	0	-4.230549	-0.691379	0.243860
29	6	0	-6.192930	-0.773352	1.503417
30	6	0	-4.807532	1.333592	1.455269
31	1	0	-2.841764	0.632433	-0.484561
32	1	0	-2.529669	-1.080136	-0.706841
33	1	0	-6.657855	-0.494640	2.440779
34	1	0	-6.796544	-0.406552	0.682305
35	1	0	-6.135609	-1.852160	1.444624
36	1	0	-3.809726	1.754294	1.507019
37	1	0	-5.297565	1.720137	0.569089
38	1	0	-5.347438	1.671243	2.330868
39	6	0	-2.710783	-4.508459	3.866991
40	1	0	-2.954435	-4.834076	4.872510
41	1	0	-3.502633	-4.838178	3.202726

*Parte experimental*

---

42	1	0	-1.791584	-4.989025	3.552905
43	7	0	-1.629458	-2.450205	4.804525
44	7	0	-0.530845	-3.010830	4.821406
45	7	0	0.471369	-3.445282	4.948424

---

Zero-point correction= 0.399149  
(Hartree/Particle)  
Thermal correction to Energy= 0.420045  
Thermal correction to Enthalpy= 0.420989  
Thermal correction to Gibbs Free Energy= 0.349359  
Sum of electronic and zero-point Energies= -1134.519484  
Sum of electronic and thermal Energies= -1134.498588  
Sum of electronic and thermal Enthalpies= -1134.497644  
Sum of electronic and thermal Free Energies= -1134.569275

**TS (2) S-re-3**

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000014	0.000450	YES
RMS Force	0.000002	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.000197	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000051	0.001200	YES

Predicted change in Energy=-1.639471D-09

Optimization completed.

-- Stationary point found.

-----  
! Optimized Parameters !  
! (Angstroms and Degrees) !

*Parte experimental*

Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	0.000463	-0.001259	0.000113
2	6	0	0.000355	-0.001943	2.440603
3	6	0	1.434034	0.001665	1.920663
4	6	0	1.303637	0.613384	0.527396
5	6	0	-2.575018	-3.011555	3.885549
6	6	0	-2.319873	-2.551183	2.432482
7	8	0	-1.134250	-2.755874	2.028294
8	6	0	-2.106349	-0.336452	1.224773
9	6	0	-2.811707	-0.698558	2.396367
10	6	0	0.275194	-1.299359	-0.784625
11	8	0	0.860929	-1.179559	-1.813476
12	8	0	-0.143135	-2.441397	-0.333779
13	1	0	-0.479154	0.662670	-0.704150
14	1	0	-0.257477	0.938521	2.917923
15	1	0	-0.194142	-0.817511	3.109883
16	1	0	2.097061	0.559178	2.569719
17	1	0	1.802554	-1.016205	1.855917
18	1	0	1.189871	1.690232	0.597486
19	1	0	2.131508	0.400974	-0.132073
20	1	0	-0.536652	-2.492773	0.573052
21	1	0	-2.453051	-0.302092	3.328738
22	1	0	-3.149460	-2.836235	1.781063
23	1	0	-2.607886	-4.097039	3.793036
24	7	0	-0.815350	-0.143709	1.215455
25	6	0	-2.853133	-0.334181	-0.089168

*Parte experimental*

---

26	6	0	-4.808234	-0.075971	1.225792
27	8	0	-4.205777	-0.591506	0.068782
28	8	0	-4.201645	-0.651989	2.343774
29	6	0	-6.244106	-0.556586	1.204318
30	6	0	-4.721867	1.449456	1.282523
31	1	0	-2.691145	0.623767	-0.576372
32	1	0	-2.461569	-1.109325	-0.734278
33	1	0	-6.747726	-0.259377	2.115479
34	1	0	-6.765509	-0.134727	0.353736
35	1	0	-6.260636	-1.635139	1.130387
36	1	0	-5.138640	1.879703	0.379235
37	1	0	-5.285623	1.807595	2.134658
38	1	0	-3.704419	1.807407	1.392923
39	6	0	-1.453652	-2.658975	4.847884
40	1	0	-0.505017	-2.985960	4.447619
41	1	0	-1.418111	-1.589963	5.032100
42	1	0	-1.625581	-3.145082	5.800952
43	7	0	-3.824395	-2.532779	4.496831
44	7	0	-4.846840	-3.002844	4.011308
45	7	0	-5.814678	-3.384954	3.648364

---

Zero-point correction= (Hartree/Particle)	0.398799
Thermal correction to Energy=	0.419661
Thermal correction to Enthalpy=	0.420605
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.349245
Sum of electronic and zero-point Energies=	-1134.510498
Sum of electronic and thermal Energies=	-1134.489636
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-1134.488692
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-1134.560052

Parte experimental

TS (2) S-si-1

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000005	0.000450	YES
RMS Force	0.000001	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.001145	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000180	0.001200	YES

Predicted change in Energy=-4.470802D-09

Optimization completed.

-- Stationary point found.

-----  
! Optimized Parameters !  
! (Angstroms and Degrees) !  
-----

-----  
! Name Definition Value Derivative Info.  
!  
-----

Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	0.009883	0.020361	-0.024525
2	6	0	-0.028397	-0.006742	1.507543
3	6	0	1.454877	-0.021036	1.878650
4	6	0	2.097727	-0.913482	0.815087
5	6	0	3.446207	-0.486294	-2.406296
6	8	0	3.383295	0.362109	-1.460834
7	6	0	2.992996	0.026304	-3.784296

*Parte experimental*

---

8	6	0	1.283875	-1.528820	-1.438196
9	6	0	2.545701	-2.038258	-1.841447
10	6	0	0.157083	1.469848	-0.519986
11	8	0	1.321454	1.905130	-0.899461
12	8	0	-0.811174	2.159130	-0.466256
13	1	0	-0.902289	-0.361080	-0.454648
14	1	0	-0.575124	0.834513	1.907687
15	1	0	-0.514077	-0.920343	1.835721
16	1	0	1.866382	0.979587	1.821142
17	1	0	1.637032	-0.398746	2.876713
18	1	0	3.073652	-0.578622	0.520474
19	1	0	2.138713	-1.949272	1.135793
20	1	0	2.034134	1.250792	-1.089691
21	1	0	3.700705	0.835614	-3.950322
22	1	0	3.220557	-2.269348	-1.036395
23	1	0	4.386309	-1.030628	-2.528134
24	7	0	1.154892	-0.838684	-0.336515
25	6	0	0.087057	-1.785726	-2.326980
26	6	0	1.329177	-3.675822	-3.066264
27	8	0	0.384526	-2.680614	-3.351001
28	8	0	2.553651	-3.061864	-2.784583
29	6	0	1.511200	-4.480773	-4.337443
30	6	0	0.883200	-4.575121	-1.910190
31	1	0	-0.709313	-2.178907	-1.700175
32	1	0	-0.250065	-0.873135	-2.791054
33	1	0	0.587019	-4.984181	-4.593628
34	1	0	1.790843	-3.828534	-5.152055
35	1	0	2.290779	-5.218987	-4.196135
36	1	0	-0.090463	-4.998697	-2.127140
37	1	0	1.596477	-5.380667	-1.787902

*Parte experimental*

---

38	1	0	0.819775	-4.050675	-0.963880
39	6	0	3.079031	-0.934766	-4.962973
40	1	0	2.252828	-1.626203	-4.955613
41	1	0	3.043082	-0.374524	-5.891650
42	1	0	4.006522	-1.497259	-4.941541
43	7	0	1.630581	0.586201	-3.698914
44	7	0	1.571761	1.793567	-3.928641
45	7	0	1.437540	2.864767	-4.137821

---

Zero-point correction= 0.399719  
(Hartree/Particle)

Thermal correction to Energy= 0.420358

Thermal correction to Enthalpy= 0.421302

Thermal correction to Gibbs Free Energy= 0.350608

Sum of electronic and zero-point Energies= -1134.503371

Sum of electronic and thermal Energies= -1134.482732

Sum of electronic and thermal Enthalpies= -1134.481788

Sum of electronic and thermal Free Energies= -1134.552483

**TS(2) S-si-2**

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000103	0.000450	YES
RMS Force	0.000011	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.001726	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000326	0.001200	YES

Predicted change in Energy=-3.972263D-08

Optimization completed.

-- Stationary point found.



## Parte experimental

-----  
! Optimized Parameters !

! (Angstroms and Degrees) !  
-----  
-----

Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	0.001736	0.004210	-0.002126
2	6	0	-0.001142	0.005796	1.532545
3	6	0	1.485773	0.002359	1.881642
4	6	0	2.090387	-0.937649	0.846400
5	6	0	3.827488	-0.110786	-1.873077
6	8	0	3.336840	0.783620	-1.100460
7	6	0	4.076471	0.280702	-3.339174
8	6	0	1.479550	-1.220456	-1.524286
9	6	0	2.785153	-1.681855	-1.868656
10	6	0	-0.035343	1.439902	-0.559516
11	8	0	1.024526	1.954178	-1.102383
12	8	0	-1.069597	2.019676	-0.463747
13	1	0	-0.879135	-0.483960	-0.391618
14	1	0	-0.548243	0.851751	1.921656
15	1	0	-0.476511	-0.901014	1.891855
16	1	0	1.910070	0.992763	1.762782
17	1	0	1.683521	-0.331909	2.891977
18	1	0	3.103957	-0.684265	0.606067
19	1	0	2.018404	-1.975930	1.155766
20	1	0	1.876012	1.448313	-1.086022
21	1	0	4.345698	-0.594116	-3.907256
22	1	0	3.275010	-2.225473	-1.077513

*Parte experimental*

---

23	1	0	4.724120	-0.610160	-1.504770
24	7	0	1.215541	-0.755764	-0.339915
25	6	0	0.406635	-1.197164	-2.587484
26	6	0	1.740713	-2.834919	-3.691174
27	8	0	0.823799	-1.773852	-3.778291
28	8	0	2.905515	-2.378369	-3.071072
29	6	0	2.112409	-3.187906	-5.116297
30	6	0	1.148521	-4.030818	-2.945493
31	1	0	2.499144	-2.308893	-5.614140
32	1	0	-0.463639	-1.715109	-2.192771
33	1	0	0.114780	-0.179891	-2.811718
34	1	0	1.241676	-3.543168	-5.653498
35	1	0	2.873059	-3.958449	-5.119334
36	1	0	0.223718	-4.340999	-3.417416
37	1	0	1.850734	-4.854592	-2.973069
38	1	0	0.941141	-3.814085	-1.903426
39	7	0	5.321494	1.082966	-3.344624
40	7	0	5.222728	2.196138	-2.822545
41	7	0	5.249169	3.210572	-2.397854
42	6	0	2.926365	1.009096	-4.022840
43	1	0	3.245647	1.351794	-5.000987
44	1	0	2.083023	0.346930	-4.168153
45	1	0	2.599176	1.867212	-3.448981

-----

Zero-point correction=	0.399413
(Hartree/Particle)	
Thermal correction to Energy=	0.420172
Thermal correction to Enthalpy=	0.421116
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.349893
Sum of electronic and zero-point Energies=	-1134.505685
Sum of electronic and thermal Energies=	-1134.484925

*Parte experimental*

---

Sum of electronic and thermal Enthalpies= -1134.483981  
Sum of electronic and thermal Free Energies= -1134.555204

**TS(2) S-si-3**

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000003	0.000450	YES
RMS Force	0.000000	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.000314	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000064	0.001200	YES

Predicted change in Energy=-1.041400D-10

Optimization completed.

-- Stationary point found.

-----  
! Optimized Parameters !  
! (Angstroms and Degrees) !  
-----

-----  
! Name Definition Value Derivative Info.  
!

-----  
-----  
-----  
Center Atomic Atomic Coordinates (Angstroms)  
Number Number Type X Y Z  
-----  
1 6 0 -0.060259 -0.006484 -0.050753  
2 6 0 -0.116575 0.043281 1.482079

*Parte experimental*

---

3	6	0	1.356938	0.042542	1.883661
4	6	0	1.991676	-0.932268	0.899939
5	6	0	3.733865	-0.114830	-1.902494
6	8	0	3.267943	0.732522	-1.065936
7	6	0	3.740254	0.273286	-3.395707
8	6	0	3.959977	1.777374	-3.556451
9	6	0	1.470427	-1.275564	-1.483449
10	6	0	2.785394	-1.741658	-1.779590
11	6	0	-0.082225	1.409741	-0.657913
12	8	0	-1.115451	1.996668	-0.597736
13	8	0	0.986054	1.894974	-1.210305
14	1	0	-0.927900	-0.507996	-0.453091
15	1	0	-0.671800	0.903750	1.825008
16	1	0	-0.609851	-0.849279	1.852703
17	1	0	1.791182	1.026783	1.749419
18	1	0	1.516700	-0.260881	2.910381
19	1	0	3.014926	-0.692432	0.688195
20	1	0	1.901670	-1.960130	1.237857
21	1	0	1.846271	1.397710	-1.131917
22	1	0	4.019124	2.031989	-4.610644
23	1	0	3.146047	2.333820	-3.112763
24	1	0	4.883334	2.079955	-3.077888
25	1	0	3.294600	-2.208949	-0.954087
26	1	0	4.695160	-0.557580	-1.649534
27	7	0	1.162164	-0.779979	-0.322181
28	8	0	0.903366	-1.878625	-3.746732
29	6	0	1.767695	-2.970971	-3.558597
30	8	0	2.926957	-2.516722	-2.928770
31	6	0	2.164172	-3.443955	-4.941424
32	6	0	1.101066	-4.091308	-2.757780

### Parte experimental

33	6	0	0.452393	-1.240899	-2.599636
34	1	0	-0.466243	-1.696460	-2.241099
35	1	0	0.233143	-0.215898	-2.870652
36	1	0	2.584411	-2.622439	-5.503345
37	1	0	1.296755	-3.821785	-5.468744
38	1	0	2.904392	-4.230123	-4.862920
39	1	0	0.174294	-4.387070	-3.235275
40	1	0	1.764667	-4.946086	-2.720753
41	1	0	0.879741	-3.807894	-1.734974
42	7	0	4.861668	-0.467461	-4.015585
43	7	0	4.736742	-0.654241	-5.214333
44	7	0	4.694352	-0.864185	-6.298435
45	1	0	2.809183	-0.005566	-3.876487

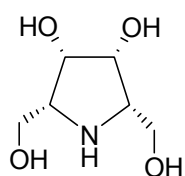
-----

Zero-point correction=	0.398918
(Hartree/Particle)	
Thermal correction to Energy=	0.419747
Thermal correction to Enthalpy=	0.420691
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.348829
Sum of electronic and zero-point Energies=	-1134.505375
Sum of electronic and thermal Energies=	-1134.484545
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-1134.483601
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-1134.555463

#### **Procedimiento general para la hidrogenación**

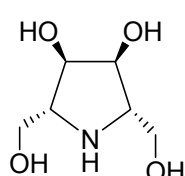
A una disolución del aldol correspondiente (0.055 mmol) en MeOH (2.5 mL), se añadió Pd/C (10 %) (20 mg), y para el caso de **15a** y **15b** se añadió HCl concentrado (0.3 mL). La suspensión se agitó bajo presión de H<sub>2</sub> (45 psi) durante 18 h a temperatura ambiente. A continuación la mezcla de reacción se filtró sobre celita, y se evaporó el disolvente obteniéndose el iminoazúcar final (en forma de hidrocloreto en el caso de **13** y **14a,b**).

**(2R,3S,4R,5S)-3,4-dihidroxi-2,5-bis(hidroximetil)pirrolidina hidrocloreuro [2,5-didesoxi-2,5-imino-D-galactitol (13)·HCl]**



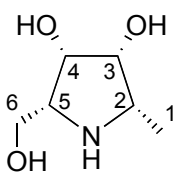
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4.50-4.45 (m, 2H, H-3,4), 4.0-3.90 (m, 2H, H-1a,6a), 3.90-3.80 (m, 2H, H-1b,6b), 3.80-3.70 (m, 2H, H-2,5);  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  72.8 (C-3,4), 64.3 (C-2,5), 60.7 (C-1,6). Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>73</sup> EM (IES-EM):  $m/z$  164.1 ( $\text{M}-\text{Cl}^-$ ), 217.3 ( $\text{M}+23$ ); Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{ClNO}_4$ : C, 36.10; H, 7.07; N, 7.02. Encontrado: C, 37.41; H, 7.60; N, 7.72.

**(2R,3R,4S,5S)-3,4-dihidroxi-2,5-bis(hidroximetil)pirrolidina hidrocloreuro [2,5-didesoxi-2,5-imino-D-alitol (14a)·HCl] (obtenido como mezcla de diastereoisómeros 14a y 14b)**



$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  (isómero mayoritario) 4.4-4.3 (m, 2H, H-3,4), 4.0-3.9 (m, 2H, H-1a,6a), 3.9-3.8 (m, 2H, H-1b,6b), 3.7-3.6 (m, 2H, H-2,5);  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  (isómero mayoritario) 72.2 (C-3,4), 64.7 (C-2,5), 59.0 (C-1,6).  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{MeOH}-d_4$ ):  $\delta$  (isómero mayoritario) 4.3-4.1 (m, 2H, H-3,4), 3.9-3.8 (m, 2H, H-1a,6a), 3.8-3.7 (m, 2H, H-1b,6b), 3.6-3.5 (m, 2H, H-2,5). Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>74</sup> EM (IES-EM):  $m/z$  164.0 ( $\text{M}-\text{Cl}^-$ ); Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{ClNO}_5$ : C, 36.10; H, 7.02; N, 6.10. Encontrado: C, 37.05; H, 7.45; N, 6.22.

**(2R,3S,4R,5S)-3,4-dihidroxi-2-hidroximetil-5-metilpirrolidina [1,2,5-tridesoxi-2,5-imino-D-galactitol (18a)] (obtenido como mezcla de diastereoisómeros 18a y 18b).**



$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  (isómero mayoritario) 4.36 (dd, 1H,  $J=6.9$ , 4.8 Hz, H-4), 4.14 (t, 1H,  $J=4.8$  Hz, H-3), 3.86-3.80 (m, 2H, H-6), 3.68-3.65 (m, 1H, H-5), 3.55-3.51 (m, 1H, H-2), 1.22 (d, 3H,  $J=6.9$  Hz, H-1);  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  (isómero mayoritario) 71.4 (C-3), 70.5 (C-4), 61.4 (C-5), 58.3 (C-6), 56.8 (C-2), 11.6 (C-1). Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>75</sup> EM (IES-EM):  $m/z$  148.0 ( $\text{M}+1$ ), 170.0 ( $\text{M}+23$ ); Anal.

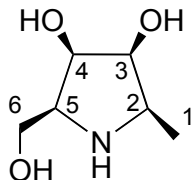
<sup>73</sup> Singh, S.; Han, H. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6349-6352.

<sup>74</sup> Izquierdo, I.; Plaza, M. T.; Rodríguez, M.; Franco, F.; Martos, A. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11697-11704.

<sup>75</sup> Espelt, L.; Bujons, J.; Parella, T.; Calveras, J.; Joglar, J.; Delgado, A.; Clapés, P. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1392-1401.

Calcd. (%) para  $C_6H_{13}NO_3$ : C, 49.3; H, 8.28; N, 9.58. Encontrado: C, 48.96; H, 8.51; N, 9.37.

**(2S,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-2-hidroximetil-5-metilpirrolidina [1,2,5-tridesoxi-2,5-imino-L-galactitol (ent-18a)] (obtenido como mezcla de diastereoisómeros ent-18a y ent-18b).**

  $^1H$  RMN (300 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  (isómero mayoritario) 4.36 (dd, 1H,  $J= 6.9$ , 4.8 Hz, H-4), 4.14 (t, 1H,  $J= 4.8$  Hz, H-3), 3.86-3.80 (m, 2H, H-6), 3.68-3.65 (m, 1H, H-5), 3.55-3.51 (m, 1H, H-2), 1.22 (d, 3H,  $J= 6.9$  Hz, H-1); EM (IES-EM):  $m/z$  148.0 (M+1), 170.0 (M+23); Anal. Calcd. (%) para  $C_6H_{13}NO_3$ : C, 49.3; H, 8.28; N, 9.58. Encontrado: C, 48.88; H, 8.30; N, 9.62.

**Ensayos de inhibición enzimática:**

Se realizaron midiendo la actividad hidrolítica de las glicosidasas frente al correspondiente *o*- o *p*-nitrofenil  $\alpha$ - o  $\beta$ - D- o L-glicopiranosido en presencia del inhibidor. Las incubaciones se llevaron a cabo al pH óptimo de cada enzima. Las reacciones se iniciaron por adición de una disolución de concentración definida de la enzima a disoluciones de concentraciones definidas del sustrato en presencia o en ausencia del inhibidor a diferentes concentraciones. Las incubaciones se calentaron a 37 °C durante 20 min y se detuvieron por adición de  $Na_2CO_3$  (1 M). Se determinó la absorbancia de la mezcla resultante a 405 nm.

Los valores de  $IC_{50}$  se establecen a partir de las representaciones de actividad (en tanto por ciento) frente a concentración de inhibidor usando el programa Sigma Plot.

En todos los casos se ha seguido el siguiente protocolo para la determinación del grado de hidrólisis: 1) adición del sustrato; 2) adición de la disolución tampón; 3) adición del inhibidor (excepto en los casos de los ensayos en ausencia de éste); 4) adición de la enzima; 5) incubación de la mezcla durante un tiempo prefijado; 6) alcalinización de la mezcla con  $Na_2CO_3$  1 M para detener la reacción y provocar la reacción coloreada; 7) medida de la absorción con un lector de ELISA MultiskanPlus de Menerini en placas de microvaloración de 96 pocillos.

Para estos ensayos de inhibición se han empleado las siguientes enzimas y condiciones generales:

**$\alpha$ -Glucosidasa (levadura panadera):**

- Disolución tampón de fosfato 25 mM a pH 6.8.

- Sustrato: *p*-nitrofenil  $\alpha$ -D-glucopiranosido, en concentración 0.1 mM.
- El margen de concentraciones empleadas para los inhibidores oscila entre 10  $\mu$ M y 1 mM.
- La cantidad de enzima empleada por ensayo fue de 0.02 U.

**$\beta$ -Galactosidasa (*E. coli*):**

- Disolución tampón de fosfato 25 mM a pH 7.3.
- Sustrato: *o*-nitrofenil  $\beta$ -D-galactopiranosido, en concentración 0.1 mM.
- El margen de concentraciones empleadas para los inhibidores oscila entre 10  $\mu$ M y 1 mM.
- La cantidad de enzima empleada por ensayo fue de 0.5 U.

**$\alpha$ -Galactosidasa (granos de café verde):**

- Disolución tampón de fosfato 25mM a pH 6.5.
- Sustrato: *p*-nitrofenil  $\alpha$ -D-galactopiranosido, en concentración 0.1 mM.
- El margen de concentraciones empleadas para los inhibidores oscila entre 3 nM y 300  $\mu$ M.
- La cantidad de enzima empleada por ensayo fue de 0.0084 U.

**$\alpha$ -Fucosidasa (riñón de buey):**

- Disolución tampón de acetato 25mM a pH 5.5.
- Sustrato: *p*-nitrofenil  $\alpha$ -L-fucopiranosido, en concentración 0.6 mM
- El margen de concentraciones empleadas para los inhibidores oscila entre 15 nM y 500  $\mu$ M.
- La cantidad de enzima empleada por ensayo fue de 0.013 U.

**$\alpha$ -Manosidasa (judías Jack):**

- Disolución tampón de fosfato 25mM a pH 6.8.
- Sustrato: *p*-nitrofenil  $\alpha$ -D-manopiranosido, en concentración 0.1 mM.
- El margen de concentraciones empleadas para los inhibidores oscila entre 10  $\mu$ M y 1 mM.
- La cantidad de enzima empleada por ensayo fue de 0.5 U.

Los datos de inhibición obtenidos aparecen representados en la tabla 2.2.



**Estudios de docking molecular:**

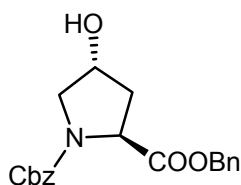
Todos los cálculos fueron llevados a cabo en un Dell Inspiron 9300 y un Mac OS Version 10.4.8. ChemOffice 2006 (Chem3D), junto con el programa Autodock3 se empleó para analizar las interacciones entre el ligando y la enzima. La estructura cristalina de la  $\alpha$ -D-galactosidasa (*Coffea arabica*) se obtuvo de PDB con el correspondiente código de entrada Q42656. Se preparó la proteína eliminando los heteroátomos y las moléculas de agua y añadiendo los átomos de hidrógeno (sólo los polares). Se definió el centro activo de la enzima (Asp145 y Asp200). Se optimizaron las estructuras de todos los compuestos (aza-azúcares) usando mecánica molecular (MM2) y después cálculos semiempíricos PM3, añadiendo todos los átomos de hidrógeno, y se usaron las cargas de Gagsteir-Huckel<sup>179</sup> para parametrizar los compuestos. Se llevó a cabo el docking de los compuestos con la  $\alpha$ -D-galactosidasa (*Coffea arabica*) usando Autodock. Los datos de  $K_i$  teóricas y energías de docking obtenidos aparecen representados en la tabla 2.3.

---

<sup>179</sup> Gagsteir, J.; Marsili, M. *Tetrahedron* **1980**, 36, 3219.

CAPÍTULO 3

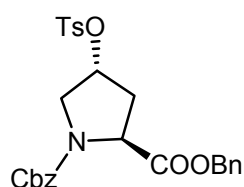
**(2S,4R)-1,2-Dibenciloxicarbonil-4-hidroxi-pirrolidina (62)**



Sobre una disolución de (2S,4R)-1-Benciloxicarbonil-4-hidroxi-pirrolina (**61**) (4 g, 15 mmol) en THF (22 mL) y trietilamina (2.1 mL, 15 mmol) a 0 °C, se añadió lentamente, bajo agitación magnética, cloroformiato de etilo (1.43 mL, 15 mmol). La mezcla se agitó a esta temperatura durante 30 min y a continuación, se adicionó alcohol bencílico (2.5 mL, 20 mmol). Terminada la adición se mantuvo la agitación durante 24 h a reflujo. Tras este tiempo el sólido se filtró y se lavó con acetato de etilo. El filtrado y las aguas de lavado se juntaron y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (20 mL) y se lavó sucesivamente con agua (3 × 40 mL), bicarbonato sódico (3 × 40 mL) y cloruro sódico (3 × 40 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto obtenido se purificó en columna cromatográfica (hexano/AcOEt 2:1), obteniéndose (**62**) (3,9 g, 70%) como un aceite amarillo pálido.

$[\alpha]_D^{25} +60.0^\circ$  (c 2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 353 K): δ 7.4-7.1 (m, 10H, Ar), 5.3-4.9 (m, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>Ph), 4.6-4.4 (m, 2H, H-2,4), 3.7-3.4 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-5), 2.4-2.0 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO, 353 K): δ 173.7 (éster), 152.5 (carbamato), 136.2 (Ar), 135.7 (Ar), 135.4 (Ar), 135.0 (Ar), 134.7 (Ar), 134.4 (Ar), 128.5 (Ar), 128.0 (Ar), 65.6 (NCOO-CH<sub>2</sub>), 60.4 (CH<sub>2</sub>-Ph), 59.2 (C-4), 58.9 (C-5), 52.5 (C-2), 35.2 (C-3); EM (IE): m/z 356.3 (M+1), 378.3 (M+23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>: C 67.59, H 5.96, N 3.94. Encontrado: C 67.93, H 6.23, N 4.20.

**(2S,4R)-1,2-Dibenciloxicarbonil-4-(p-toluensulfonilo)pirrolidina(63)**

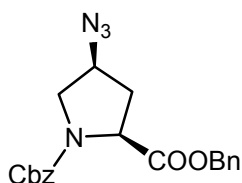


A una disolución enfriada a 0 °C de **62** (3.9 g, 10.9 mmol) en piridina seca (10 mL), se añadió lentamente cloruro de p-toluensulfonilo (2,58 g, 13,6 mmol). La disolución se agitó a 0 °C durante 1 h y a continuación a temperatura ambiente durante 48 h. Terminada la reacción, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó en columna cromatográfica (Hex/AcOEt 4:1), obteniéndose **63** (4,46 g, 80%) como un aceite amarillo oscuro.

$[\alpha]_D^{25} -25.3^\circ$  (c 1, EtOH). <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.8-7.6 (m, 4H, Ar<sub>Ts</sub>), 7.4-7.2 (m, 10H, Ar), 5.2-5.0 (m, 5H, 2× CH<sub>2</sub>Ph, H-4), 4.5-4.4 (m, 1H, H-2), 3.7-3.6 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-5), 2.6-2.5 (m, 1H, CH<sub>B</sub>-CH<sub>A</sub>-3), 2.48 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (Ts)), 2.3 (m, 1H, CH<sub>B</sub>-CH<sub>A</sub>-

3); EM (IE):  $m/z$  510.3 (M+1), 532.3 (M+23); Anal. Calcd. (%) para  $C_{27}H_{27}NO_7S$ : C 63.69, H 5.34, N 2.75, S 6.29. Encontrado: C 63.23, H 5.66, N 2.64, S 6.81.

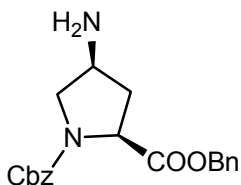
**(2S,4S)-4-Azido-1,2-dibenciloxicarbonilpirrolidina (64)**



Sobre una disolución de **63** (4.46 g, 8.8 mmol) en DMF:agua (40:6 mL) se añadió  $NaN_3$  (1.14 g). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 48 h. Terminada la reacción se evaporó el disolvente, el residuo se disolvió en éter etílico (20 mL) y se lavó con NaCl saturado (3×30 mL); la fase etérea se secó ( $Na_2SO_4$ ) y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se cromatografió (hexano/AcOEt 1:1) obteniéndose **64** (3.34 g, 80%) en forma de aceite blanquecino.

$[\alpha]_D^{25}$  -33.5° (c 1, EtOH).  $^1H$  RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ , 353 K):  $\delta$  7.4-7.3 (m, 5H, Ar), 5.3-4.9 (m, 4H, 2×  $CH_2Ph$ ), 4.4-4.3 (m, 1H, H-4), 4.1-3.9 (m, 1H, H-2), 3.7-3.6 (m, 1H,  $CH_B-CH_A-5$ ), 3.5-3.3 (m, 1H,  $CH_B-CH_A-5$ ), 2.4-2.3 (m, 1H,  $CH_B-CH_A-3$ ), 2.2-2.1 (m, 1H,  $CH_B-CH_A-3$ );  $^{13}C$  RMN (75 MHz, DMSO, 353 K):  $\delta$  171.0 (  $CH-COOCH_2Ph$ ), 154.2 (N- $C=O$ ), 136.2 (Ar), 135.4 (Ar), 135.4 (Ar), 135.0 (Ar), 135.4 (Ar), 134.7 (Ar), 128.5 (Ar), 128.0 (Ar), 67.2 y 67.1 (2×  $OCH_2Ph$ ), 59.2 (C-4), 58.0 (C-2), 52.3 (C-5), 35.5 (C-3); EM (IE):  $m/z$  381.2 (M+1), 403.3 (M+23); Anal. Calcd. (%) para  $C_{20}H_{20}N_4O_4$ : C 63.15, H 5.30, N 14.73. Encontrado: C 63.04, H 5.39, N 15.12.

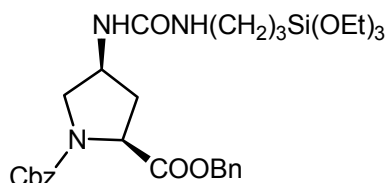
**(2S,4S)-4-Amino-1,2-dibenciloxicarbonilpirrolidina (65)**



Sobre una disolución de **64** (2.46 g, 6.36 mmol) en AcOEt (21 mL) se añadió Pd/C (5%) (90 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h en atmósfera de hidrógeno. Al cabo de este tiempo la mezcla se filtró y el sólido se lavó con AcOEt. Se evaporó el disolvente a vacío y el residuo se purificó en columna cromatográfica ( $CH_2Cl_2/MeOH$  20:1). Se obtuvo **65** (2.32 g, 89%) en forma de aceite amarillo.

$[\alpha]_D^{25}$  +8.87° (c 1,  $CHCl_3$ );  $^1H$  RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ , 353 K):  $\delta$  7.3-7.1 (m, 10H, Ar), 5.2-4.9 (m, 4H, 2×  $CH_2Ph$ ), 4.4-4.3 (m, 1H, H-4), 3.7-3.6 (m, 1H, H-2), 3.5-3.2 (m, 1H,  $CH_B-CH_A-5$ ), 3.3-3.2 (m, 1H,  $CH_B-CH_A-5$ ), 2.4-2.3 (m, 1H,  $CH_B-CH_A-3$ ), 1.8-1 (m, 1H,  $CH_B-CH_A-3$ );  $^{13}C$  RMN (75 MHz, DMSO, 353 K):  $\delta$  173.1 ( $CH-COOCH_2Ph$ ), 155.1 (N- $C=O$ ), 136.6 (Ar), 135.6 (Ar), 128.8 (Ar), 128.6 (Ar), 128.4 (Ar), 128.26 (Ar), 128.21 (Ar), 128.06 (Ar), 67.34 y 67.13 (2×  $OCH_2Ph$ ), 58.3 (C-4), 55.8 (C-2), 50.4 (C-5), 35.5 (C-3). EM (IE):  $m/z$  355.2 (M+1), 377.2 (M+23); Anal. Calcd. (%) para  $C_{20}H_{20}N_2O_4$ : C 67.78, H 6.26, N 7.90. Encontrado: C 67.74, H 6.57, N 8.22.

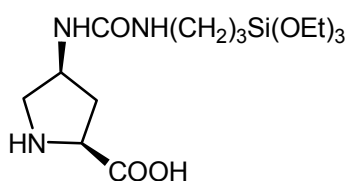
**(2S,4S)-1,2-Dibenciloxicarbonil-4-(3- trietoxisililpropil amino carbonilamino) pirrolidina (66)**



A una disolución de **65** (2.20 g, 6.21 mmol), en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (32 mL) se añadió trietoxisililpropilisocianato (1.53 g, 6.21 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte de Argon. Pasado este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniéndose **66** (3.69 g, 100%).

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -16.5° (c 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 353 K):  $\delta$  7.3-7.2 (m, 10H, Ar), 5.2-4.8 (m, 4H, 2× CH<sub>2</sub>Ph), 4.4-4.3 (m, 1H, H-4), 4.0-4.0 (m, 1H, H2), 3.8 (dt, 6H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OSi), 3.6-3.5 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-5), 3.1 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NHCONH), 2.4-1.9 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3), 1.5 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCONH), 1.2 (t, 9H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OSi); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO, 353 K):  $\delta$  174.0 (CH-COOCH<sub>2</sub>Ph), 157.3 (N-COOCH<sub>2</sub>Ph), 136.0 (NHCONH), 129.2(Ar), 128.1 (Ar), 127.4 (Ar), 127.1 (Ar), 67.0 (2× OCH<sub>2</sub>Ph), 58.3 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OSi), 57.9 (C-4), 54.2 (C-5), 49.4 (C-2), 44.7 (CH<sub>2</sub>NHCONH), 37.2 (C-3), 23.4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCONH), 18.3 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OSi), 8 (CH<sub>2</sub>Si). EM (IE): *m/z* 624.5 (M+23).

**(2S,4S)-2-Carboxi-4-(3-trietoxisililpropilaminocarbonilamino)pirrolidina (67)**



A una disolución de **66** (1.4 g, 3.0 mmol) y ciclohexeno (0.54 mL, 17.3 mmol) en etanol (30 mL), se añadió Pd/C (10%) (850 mg). Se calentó a reflujo durante 15 minutos.

A continuación se enfrió y se filtró el paladio. El disolvente se eliminó a presión reducida, obteniéndose **67** como un aceite amarillo. Éste fue usado sin purificar debido a su baja estabilidad.

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  4.7-4.3 (m, 1H), 3.9-3.7 (m, 1H), 3.7-3.5 (m, 6H), 3.4-3.2 (m, 2H), 3.1-2.9 (m, 2H), 2.5-2.1 (m, 2H), 1.4-1.3 (m, 2H), 1.13 (t, 9H), 0.6-0.5 (m, 2H); EM (IE): *m/z* 378.3 (M+1), 406.2 (M<sup>+</sup>+2×23-18).

**Procedimiento general para el anclaje al material mesoporoso**

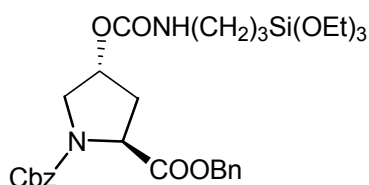
A una disolución del derivado de prolina **67** (100 mg) en tolueno (10 mL) se añadió el sólido inorgánico (1 g) en una mezcla de tolueno/agua 20 mL/ 20  $\mu$ L). La mezcla se agitó a reflujo durante 48 h. Pasado este tiempo el sólido se filtró y lavó con distintos disolventes de diferente polaridad (MeOH, AcOEt, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, hexano y éter) abundantemente. El sólido blanco se secó a vacío.

**MCM-41-Pro:** <sup>13</sup>C RMN (sólido) CPMAS (100.63 MHz, 298 K):  $\delta$  173.8 (COOH), 159.2 (NHCONH), 60.6 (C-2 prolina), 50.0 (C-4 y C-5 prolina), 42.7 (CH<sub>2</sub>-NHCONH), 34.4 (C-

3 prolina), 22.7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}_2\text{Si}$ ), 8.9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Si}$ ); IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3428.9 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ), 1636.8 ( $\nu_{\text{NHCONH}}$ ), 1562.2 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), 1079.0 ( $\nu_{\text{C-O}}$ ); Carga del catalizador 0.7 mmol/g. Anal. Encontrado: C 13.87, H 2.53, N 2.95 %.

**(2S,4R)-1,2-Dibenciloxicarbonil-4-(3-trietoxisililpropilaminocarboxi)pirrolidina**

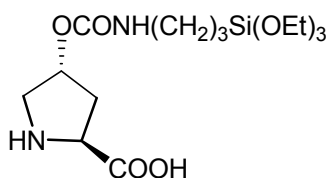
**(70)**



A una disolución de **62** (1.21 g, 3.41 mmol), en 1,2-dicloroetano (18 mL) se añadió trietilamina (0.94 mL, 6.82 mmol) y trietoxisililpropilisocianato (1.261 g, 5.10 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 24 h a 80 °C bajo atmósfera de Argon. Pasado este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida, y el residuo se purificó por columna cromatográfica (hexano/AcOEt 3:1) obteniéndose **70** como un aceite marrón (1.76 g, 86%).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -31.7° (c 7.6,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 353 K):  $\delta$  7.3-7.2 (m, 10H, Ar), 5.2-4.8 (m, 4H, 2x  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.5-4.4 (dd, 1H,  $J$ = 7.6, 15.4 Hz, H-2), 4.4-4.3 (m, 1H, H-4), 3.7 (c, 6H,  $J$ = 7.0 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 3.6-3.5 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-5}$ ), 3.1 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ), 2.3-2.1 (m, 1H,  $\text{CH}_{2\text{A}}\text{-3}$ ), 2.0-1.9 (m, 1H,  $\text{CH}_{2\text{B}}\text{-3}$ ), 1.6-1.4 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ), 1.1 (t, 9H,  $J$ = 7.0 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 0.5-0.4 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Si}$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 353 K):  $\delta$  172.0 ( $\text{CH-COOCH}_2\text{Ph}$ ), 157.6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ) 154.1 (Ar) 153.6 (Ar) 134.6 ( $\text{N-COOCH}_2\text{Ph}$ ), 127.4(Ar), 127.1 (Ar), 126.9 (Ar), 68.7 (C4), 65.8 (2x  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 57.1 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 56.9 (C-2), 53.6 (C-5), 42.1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ), 37.7 (C-3), 22.5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ), 17.3 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 6.5 ( $\text{CH}_2\text{Si}$ ).EM (IES-EM):  $m/z$  625.3 (M+23).

**(2S,4R)-2-Carboxi-4-(3-trietoxisililpropilaminocarboxi)pirrolidina (71)**



A una disolución de **70** (0.624 g, 1.04 mmol) y ciclohexeno (0.18 mL, 5.6 mmol) en etanol (10 mL), se añadió Pd/C (10%) (271 mg). Se calentó a reflujo durante 15 minutos. A continuación se enfrió y se filtró el catalizador. El disolvente se eliminó a presión reducida, obteniéndose **71** como un sólido amarillento.

Éste fue usado sin purificar debido a su poca estabilidad.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -4.0° (c 0.25, MeOH); p.f.: 58- 61°C;  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 298 K):  $\delta$  5.3-5.2 (m, 1H, CH-4), 4.2-4.1 (m, 1H, CH-2), 3.7-3.5 (c, 6H,  $J$ = 6.9 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 3.4-3.2 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-5}$ ), 3.1-2.9 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ), 2.6-2.4 (m, 1H,  $\text{CH}_{2\text{A}}\text{-3}$ ), 2.3-2.1 (m, 1H,  $\text{CH}_{2\text{B}}\text{-3}$ ), 1.6-1.5 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ), 1.21 (t, 9H,  $J$ = 6.9 Hz,

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 0.6-0.5 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Si}$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 298 K):  $\delta$  173.2 ( $\text{CH}_2\text{COOH}$ ), 157.4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ) 75.1 (C-4), 61.7 (C-2) 59.5 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 52.3 (C-5), 44.4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ), 36.8 (C-3), 24.3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOO}$ ), 18.6 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 8.4 ( $\text{CH}_2\text{Si}$ ). EM (IES-EM):  $m/z$  379.0 (M+1).

### **Procedimiento general para el anclaje al material mesoporoso**

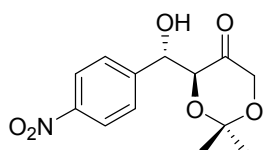
A una disolución del derivado de prolina **71** (100 mg) en tolueno (10 mL) se añadió el sólido inorgánico (1 g) en una mezcla de tolueno/agua 20 mL/ 20  $\mu\text{L}$ ). La mezcla resultante se agitó a reflujo durante 48 h. Pasado este tiempo el sólido se filtró y lavó con distintos disolventes de diferente polaridad (MeOH, AcOEt,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , hexano y éter) abundantemente. El sólido blanco se secó a vacío.

**MCM41-Pro(C)**:  $^{13}\text{C}$  RMN (sólido) CPMAS (100.63 MHz, 298 K):  $\delta$  172.6 (COOH), 156.7 (NHCOO), 73.9 (C-4 prolina), 60.5 (C-2 prolina), 51.9 (C-5 prolina), 42.7 ( $\text{CH}_2\text{-NHCOO}$ ), 35.9 (C-3 prolina), 23.2 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{Si}$ ), 9.1 ( $\text{CH}_2\text{-Si}$ ); IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3435.5 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ), 1708.8 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), 1634.2 ( $\delta_{\text{NHCONH}}$ ), 1078.6 ( $\nu_{\text{C-O}}$ ), 800.0 ( $\nu_{\text{Si-C}}$ ); Carga del catalizador 0.919 mmol/g. Anal. Encontrado: C 12.93, H 2.18, N 2.57 %.

### **Procedimiento general para la reacción aldólica catalizada por MCM41-Pro o MCM41-Pro(C), entre *p*-nitrobenzaldehído (68) y dioxanona (1)**

A una disolución/suspensión de dioxanona (**1**) (16.9 mg, 0.13 mmol) y el catalizador (30% mol) en el disolvente elegido (0.21 mL), se añadió el aldehído **68** (10 mg, 0.065 mmol). La mezcla se agitó a t.a durante el tiempo indicado en las tablas 3.1, 3.2 y 3.3. A continuación el catalizador se separó por centrifugación y el sobrenadante se lavó con disolución saturada de cloruro amónico y se extrajo con AcOEt (3 $\times$ 1 mL). La fases orgánicas combinadas se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y el disolvente se evaporó a presión reducida. Rendimientos y diastereoselectividades se muestran en las tablas 3.1, 3.2 y 3.3.

### **(3*S*,4*S*)-4-*p*-Nitrofenil-1,3,4-trihidroxi-1,3-*O*-isopropiliden-butan-2-ona (*anti*-69) (obtenido como una mezcla de *anti*-69 y *sin*-69)**



Columna cromatográfica (hexano/AcOEt 3:1).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  (isómero mayoritario) 8.21 (d,  $J= 8.1$  Hz, 2H, ArH), 7.60 (d,  $J= 8.1$  Hz, 2H, ArH), 5.01 (d,  $J= 7.5$  Hz, 1H, CHOH), 4.5-4.1 (m, 3H), 3.8-3.7 (m, 1H), 1.39 (s, 3H, Me), 1.21 (s, 3H, Me);  $^{13}\text{C}$  RMN (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  210.6 (CHO), 146.5 (Ar), 138.3 (Ar), 127.9 (Ar), 123.2 (Ar), 101.4 (Ac), 75.8 (C-4), 71.7 (-C3), 66.6 (C-1),

23.4 (CH<sub>3</sub>), 23.3 (CH<sub>3</sub>); EM (IE): *m/z* 585.3 (2M+23); Anal. Calcd (%) para C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub>: C, 55.51; H, 5.38; N, 4.98. Encontrado: C, 55.33; H, 5.22; N, 5.18. Tiempo de retención (HPLC, Daicel Chiralpak OD-H, hexano/*i*-PrOH = 90:10, flujo 1 mL/min, λ = 254 nm) : *t<sub>R</sub>* = 11.17 (*anti*, mayoritario), *t<sub>R</sub>* = 12.79 (*anti*, minoritario), *t<sub>R</sub>* = 16.62 (*sin*).

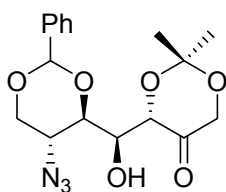
**Procedimiento general para la reacción aldólica del aldehído 16 y la cetona 1 catalizada por MCM41-Pro o MCM41-Pro(C)**

A una disolución de dioxanona (**1**) (37.96 mg, 0.292 mmol) en el disolvente elegido (0.5 mL), se añadió el catalizador (30% mol), seguido por el aldehído **16** (0.146 mmol) en tres adiciones de 0.05 mmol durante 48 h. Después de 48-96 horas de reacción a t.a., se añadió AcOEt (3 mL) y se centrifugó. Se decantó el sobrenadante y se concentró a sequedad, el residuo se disolvió en AcOEt (4 mL) y se lavó con una disolución saturada de cloruro amónico (3×5 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y el disolvente se evaporó. Una purificación posterior en columna cromatográfica (mezclas hexano/AcOEt) fue necesaria en todos los casos. Los rendimientos y la relación *anti/sin* se muestran en la tabla 3.4.

**Procedimiento general para la reacción aldólica del aldehído 46 y la cetona 1 catalizada por MCM41-Pro o MCM41-Pro(C)**

A una disolución de **46** (0.5 mmol) en el disolvente elegido (1.6 mL), se añadió la cetona **1** (260 mg, 2 mmol) y el catalizador (30% mol 214.2 mg para MCM41-Pro y 163.2 mg para MCM41-Pro(C)). La mezcla se agitó durante 24-72 horas a t.a. A continuación se añadió AcOEt (3 mL) y se centrifugó. Se decantó el sobrenadante y se concentró a sequedad, el residuo se disolvió en AcOEt (4 mL) y se lavó con disolución saturada de cloruro amónico (3×5 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y el disolvente se evaporó. Una purificación posterior en columna cromatográfica (mezclas hexano/AcOEt) fue necesaria en todos los casos. Rendimientos y relación *anti/sin* se muestran en la tabla 3.4.

**6-Azido-5,7-O-benciliden-6-desoxi-1,3-isopropiliden-D-mano-hept-2-ulososa (7a)**



[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -92.3° (c 0.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.5-7.3 (m, 5H, Ar), 5.45 (s, 1H, Ac), 4.58 (d, *J*= 9 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 4.45 (dd, *J*= 5.1, 10.8 Hz, 1H, H<sub>7ec</sub>), 4.30 (d, *J*= 15.7 Hz, 1H, H<sub>1ec</sub>), 4.2-4.1 (ddd, 1H, H<sub>4</sub>), 4.1-4.0 (m, 2H, H<sub>6</sub>, H<sub>1ax</sub>), 3.83 (dd, *J*= 12.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.68 (dd, 1H, H<sub>7ax</sub>), 3.38 (s, 1H, OH), 1.43 (s, 3H, Me), 1.38 (s,

3H, Me); <sup>13</sup>C RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 212.6 (cetona), 137.3 (Ar), 129.3 (Ar), 128.5 (Ar), 126.2 (Ar), 101.7 (Ac<sub>Ph</sub>), 101.6 (Ac<sub>Me</sub>), 78.1 (C<sub>5</sub>), 70.7 (C<sub>3</sub>), 69.2 (C<sub>4</sub>), 68.2

### *Parte experimental*

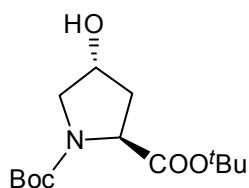
---

(C7), 66.7 (C1), 52.2 (C6), 23.9 (Me), 23.6 (Me); EM (IE):  $m/z$  364.1 (M+1); Anal. Calcd. (%) para  $C_{17}H_{21}N_3O_6$ : C, 56.19; H, 5.83; N, 11.56. Encontrado: C, 56.05; H, 6.23; N, 11.29.



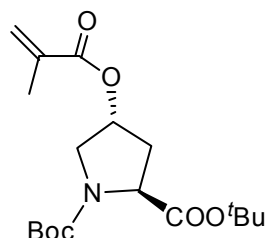
CAPÍTULO 4

**(2S,4R)-N-Boc-4-hidroxirolinato de terc-butilo (85)**



(2S,4R)-N-Boc-4-hidroxirolina (8.09 g, 35.0 mmol) se disolvió en MeCONMe<sub>2</sub> (175 mL) y se añadió cloruro de benciltriethylamonio (7.97 g, 35.0 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (126 g, 910 mmol) y bromuro de *terc*-butilo (163 mL, 1.40 mol). La mezcla se agitó a 55 °C durante 21 horas. Una vez finalizada la reacción se añadió agua hasta que se obtiene una disolución clara. Se extrajo la mezcla con Et<sub>2</sub>O (X3) y se secaron las fases orgánicas (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se purificó por columna cromatográfica EtOAc/hexano 1:1, obteniéndose **85** como un aceite incoloro. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -60.0° (c 0.5, CDCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  =1.46, 1.50 (s, 18H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.94–2.10 (m, 1H, H-3), 2.18–2.40 (m, 1H, H-3), 3.40–3.74 (m, 2H, H-5), 4.11–4.25 (m, 1H, H-4), 4.25–4.36 (m, 1H, H-2); <sup>13</sup>C RMN (50.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, rotámeros):  $\delta$  =27.8, 27.9, 28.3 [C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 37.7, 38.7 (C-3), 55.7, 56.1 (C-5), 58.8 (C-4), 70.4, 71.4(C-2), 80.2, 80.3, 82.4, 82.5 [C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 153.8, 154.5 (NCO<sub>2</sub>), 174.4, 174.5 (C-1); Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>23b</sup> Anal. Calcd. (%) para C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>: C 58.52, H 8.77, N 4.87; Encontrado: C 58.35, H 8.77, N 4.87.

**(2S,4R)-N-Boc-4-(metacrililoiloxi)prolinato de terc-butilo (86)**

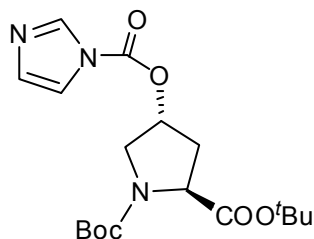


A una disolución de **85** (540 mg, 1.88 mmol) en piridina (2.17 ml) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.17 mL), se añadió cloruro de metacrililoilo (348  $\mu$ l, 3.76 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4.5 horas. Después de este tiempo, el disolvente fue evaporado bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante columna cromatográfica (hexano/AcOEt 1:1) dando lugar a un aceite incoloro que aún contiene trazas de cloruro de metacrililoilo. El aceite se disolvió en diclorometano (50mL) y se lavó con una disolución acuosa de NaOH 5% (75 mL x 3), para eliminar el exceso de cloruro de metacrililoilo. La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se concentró a vacío, obteniéndose **86** en forma de aceite incoloro (514 mg, 77 %). [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> - 39.8° (c 1.63, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  5.99 (s, 1H, CH=C), 5.43 (s, 1H, CH=C), 5.1-5.0 (m, 1H, CH-4), 4.1-4.0 (m, 1H, CH-2), 3.7-3.4 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-5), 2.4-2.3 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub>), 2.2-2.0 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>), 1.80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.4-1.2 (m, 18H, 6 x CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  171.7 (COOtBu), 166.7 (C=O acrylate), 153.9

<sup>23b</sup> Font, D., Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2006**, 8, 4653-4655.

(NCOO $t$ Bu), 136.1(CH=C), 126.3 (CH=C), 81.4 (COOCMe<sub>3</sub>), 80.3, 80.2 (NCOOCMe<sub>3</sub>), 73.1, 72.2 (C-4), 58.6 (C-2), 52.3, 52.0 (C-5), 36.7, 35.6 (C-3), 28.4-28.1 (CH<sub>3</sub> Boc), 18.2 (CH<sub>3</sub> acrilato). EM (ES):  $m/z$  378.3 (M+23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>6</sub>: C 60.83, H 8.22, N 3.94; Encontrado: C 60.75, H 8.41, N 3.86.

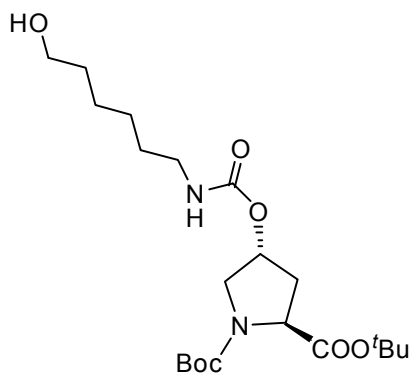
**(2S,4R)-N-Boc-4-(1H-imidazol-1-carboxiloiloxi)prolinato de terc-butilo (87)**



N,N'-Carbonildiimidazol (2.24 g, 13.81 mmol) se añadió a una disolución de **85** (3.31 g, 11.52 mmol) en dioxano anhidro (13 mL). La mezcla se agitó a ta bajo atmósfera de Ar durante 15 h. A continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo fue purificado por columna cromatográfica (AcOEt/hexano 1:2, 1% de Et<sub>3</sub>N) obteniéndose **87** como un sólido blanco (4.04 g, 92%).

$[\alpha]_D^{20}$  -54.0° (c 0.47, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.20 (s, 1H, NCHN), 7.40 (s, 1H, NCH=CHN), 7.12 (s, 1H, NCH=CHN), 5.55 (s, 1H, H-4), 4.5–4.2 (m, 1H, H-2), 4.0–3.4 (m, 2H, H-5), 2.7–2.5 (m, 1H, H-3<sub>A</sub>), 2.4–2.2 (m, 1H, H-3<sub>B</sub>), 1.6–1.1 (m, 18H,  $t$ Bu). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ =171.2 (COO $t$ Bu), 153.9 (NCOO $t$ Bu), 153.7 (NCOO), 134.0 (N=CH-N), 130.2 (C=CH-N), 105.3 (C=CH-N), 81.9 (COOCMe<sub>3</sub>), 80.8 (NCOOCMe<sub>3</sub>), 69.5 (C-4), 58.2 (C-2), 51.7 (C-5), 36.5 (C-3), 28.3 (Me C- $t$ Bu), 28.0 (Me N $t$ Bu); EM (ES):  $m/z$  (%):382.3 (M+ 1); Anal. Calcd. (%) para C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>: C 56.68, H 7.13, N 11.02; Encontrado: C 56.57, H 7.24, N 10.95.

**(2S,4R)-N-Boc-4-[(6-hidroxihexil)carbamoil]prolinato de terc-butilo (88)**

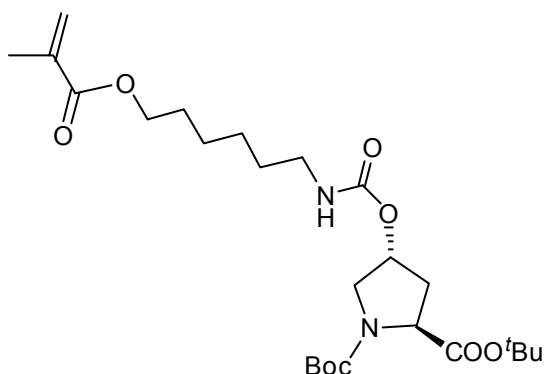


El compuesto **87** (1.6 g, 13.65 mmol) se disolvió en THF anhidro (53 mL) y se añadió 6-amino-1-hexanol (4.04 g, 10.59 mmol) y Et<sub>3</sub>N (17 mL). La mezcla se agitó a 50 °C bajo atmósfera de Ar durante 1.5 h. A continuación, se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo se purificó por columna cromatográfica (AcOEt/hexano 1:1) obteniéndose **88** como un aceite incoloro (3.65 g, 80%).

$[\alpha]_D^{25}$  -48.70° (c 0.78, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.2-5.1 (m, 1H, H-4), 4.9-4.8 (m, 1H, NH), 4.3-4.1 (m, 1H, H-2), 3.7-3.5 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-5, CH<sub>2</sub>OH), 3.2-3.1 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 2.4-2.3 (m, 1H, H-3<sub>A</sub>), 2.2-2.0 (m, 1H, H-3<sub>B</sub>), 1.6-1.4 (m, 4H, HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 1.5–1.4 (m, 18H,  $t$ Bu); 1.4-1.2 (m, 4H, HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ =171.65 (COO $t$ Bu), 155.63 (NHCOO), 153.84 (NCOO $t$ Bu), 81.29 (COOCMe<sub>3</sub>), 80.21 (NCOOCMe<sub>3</sub>), 72.94,

72.05 (C-4), 62.47 (CH<sub>2</sub>OH), 58.47 (C-2), 52.12 (C-5), 40.74 (CH<sub>2</sub>NH), 36.89 (C-3), 29.74 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 28.29, (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 28.24 (Me C-*t*Bu), 27.92 (Me N-*t*Bu), 26.30, 25.23 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH); MS(ES): m/z (%):453.5 (M+ 23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C 58.58, H 8.90, N 6.51; Encontrado: C 58.39, H 9.15, N 6.73.

**terc-Butil (2S,4R)-N-Boc-4-[6-(metacrililoiloxi)hexilcarbamoil]prolinato (89)**

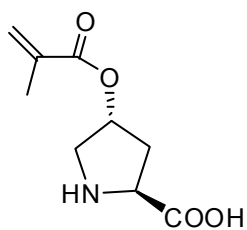


A una disolución de **88** (250 mg, 0.58 mmol) en piridina (0.7 mL) y diclorometano anhidro (0.7 mL), se añadió anhídrido metacrílico (173  $\mu$ L, 1.16 mmol). La mezcla se agitó a t.a. bajo atmósfera de Ar durante 2 h. A continuación se evaporó el disolvente presión reducida y el residuo se eluyó a través de una columna

cromatográfica (AcOEt/hexano 1:2) obteniéndose un aceite incoloro que contiene trazas de anhídrido metacrílico. El aceite se disolvió en diclorometano (50 mL) y se lavó con una disolución acuosa de NaOH 5% (75 mL x 3) La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y concentró, obteniéndose **89** en forma de aceite incoloro (214 mg, 74%).

$[\alpha]_D^{25}$  -45.70° (c 3.66, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  =6.18 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 5.53 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 5.2-5.1 (m, 1H, H-4), 4.8-4.7 (m, 1H, NH), 4.3-4.2 (m, 1H, H-2), 4.13 (t, 2H, *J*= 1.6 Hz, CH<sub>2</sub>OCOC=CH<sub>2</sub>), 3.7-3.5 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-5), 3.2-3.1 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 2.5-2.3 (m, 1H, H-3<sub>A</sub>), 2.2-2.1 (m, 1H, H-3<sub>B</sub>), 1.93 (s, 3H, Me), 1.67 (q, 2H, *J*= 1.7 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 1.6-1.5 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH) 1.5-1.4 (m, 18H, *t*Bu); 1.4-1.3 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  =171.68 (COO*t*Bu), 167.49 (COC=CH<sub>2</sub>), 155.65 (NHCOO), 154.18, 153.86 (NCOO*t*Bu), 136.44 (C=CH<sub>2</sub>), 125.23 (C=CH<sub>2</sub>), 81.29 (COOCMe<sub>3</sub>), 80.20, 79.99 (NCOOCMe<sub>3</sub>), 73.04, 72.14 (C-4), 64.5 (OCH<sub>2</sub>), 58.46 (C-2), 52.53 (C-5), 40.85 (CH<sub>2</sub>NH), 36.98, 35.79 (C-3), 29.78 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 28.49, (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 27.97 (Me C-*t*Bu), 27.89 (Me N-*t*Bu), 26.33, 25.55 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 18.29 (Me acrilato); EM (ES): m/z (%):521.5 (M+ 23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C 60.22, H 8.49, N 5.62; Encontrado: C 59.88, H 8.42, N 5.72.

**(2S,4R)- 4-(metacrililoiloxi)pirrolidina-2-ácido carboxílico (91)**



A una disolución de **86** (350 mg, 0.99 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (27 mL), se añadió TFA (5.38 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. A continuación, se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo purificado por columna cromatográfica (hexano/AcOEt 1:1→AcOEt:MeOH 1:1 →MeOH) obteniéndose **91** como un sólido blanco (145 mg,

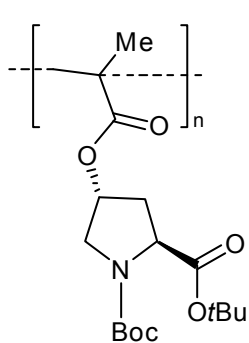
74 %).

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> - 20.8° (c 0.48, MeOH); p. f.: 102-105 °C; <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 298 K):  $\delta$  6.17 (s, 1H, CH=C), 5.70 (s, 1H, CH=C), 5.5-5.4 (m, 1H, CH-4), 4.20 (dd, 1H, J= 12 Hz, 6 Hz, CH-2), 3.68 (dd, 1H, J= 12 Hz, 6 Hz, CH<sub>2</sub>-5<sub>A</sub>), 3.33 (d, 1H, J= 12 Hz, CH<sub>2</sub>-5<sub>B</sub>), 2.6-2.5(m, 1H, CH-3<sub>A</sub>), 2.4-2.2 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>), 1.95 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  171.9 (COOH), 166.5 (C=O acrilato), 136.0 (CH=C), 126.1 (CH=C), 74.0 (C-4), 60.5 (C-2), 50.8 (C-5), 35.5 (C-3), 17.1 (CH<sub>3</sub> acrilato). EM (ES): *m/z* 200.0 (M+1); Anal. Calcd. (%) para C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>: C 54.26, H 6.58, N 7.03; Encontrado: C 54.33, H 6.41, N 6.89.

**Procedimiento general para la polimerización y desprotección de los homopolímeros**

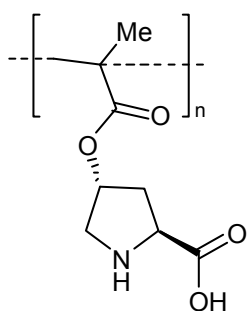
Los polímeros **90** y **92** se prepararon mediante polimerización radical en *N,N*-dimetilformamida (DMF), a 60°C, durante 24 horas y usando AIBN como iniciador. El polímero **A'** se preparó en las mismas condiciones pero usando agua destilada con NaCl 0.1M como disolvente. Las reacciones se llevaron a cabo en ausencia de oxígeno mediante burbujeo de nitrógeno durante 40 min antes de cerrar el sistema. Las concentraciones de monómero e iniciador fueron respectivamente 1 y 0.015 mol/L. Tras la polimerización en DMF, los sistemas disueltos en DMF fueron sumergidos en diclorometano (DCM)/ácido trifluoroacético (TFA) 1:2 y se dejó agitando toda la noche a temperatura ambiente para llevar a cabo la desprotección, obteniéndose los polímeros **A** y **B**. La relación de volumen DCM-TFA/DCM fue 5:1. Tras este tratamiento, los polímeros se precipitaron en éter y se secaron a vacío toda la noche. El polímero **A'** se aisló mediante precipitación y lavado en acetona, seguido de secado a vacío. Los polímeros usados en turbidimetría se purificaron mediante diálisis secuencial en etanol y agua (48 horas cada uno), y se liofilizaron. Los polímeros usados como catalizadores de las reacciones aldólicas se trataron previamente con trietilamina en agua hasta pH neutro y posterior liofilización.

**Polímero 90**



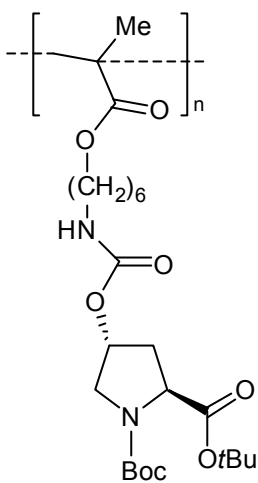
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  5.2-5.0 (m, 1H, H-4), 4.4-4.2 (m, 1H, H-2), 3.8-3.4 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -5), 2.4-2.2 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub>), 2.2-2.0 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>), 2.0-1.6 (m, 2H, ( $\text{CH}_2$ CMe), 1.6-1.4 (m, 18H, 6 x  $\text{CH}_3$ ), 1.2-0.8 (m, 3H, Me (metacrilo));  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  =178.5-177.0 ( $\text{OCOCMe}$ ), 171.5-171.4 ( $\text{COOtBu}$ ), 153.55, 153.33 ( $\text{NCOOtBu}$ ), 81.20 ( $\text{COOCMe}_3$ ), 79.85 ( $\text{NCOOCMe}_3$ ), 73.13, 72.92 (C-4), 58.36 (C-2,  $\text{CH}_2$ CMe), 54.5-51.5 ( $\text{CH}_2$ CMe), 50.76 (C-5), 47.0-45.0 ( $\text{CMeCOO}$ ), 36.45 (C-3), 30.73, 28.27 (Me C-tBu), 27.93 (Me NtBu), 25.41, 21.0-18.0 (Me acrilato); IR (KBr):  $\nu$  = 2979, 2934 (C-H), 1739 (C=O), 1706 (C=O), 1479, 1457 (tBu), 1399(tBu), 1367, 1257, 1222 (COO), 1153 (OCC), 1063, 993, 939, 842, 770, 554  $\text{cm}^{-1}$ ; Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_6$ : C 60.83, H 8.22, N 3.94; Encontrado: C 60.59, H 7.98, N 3.92.

**Polímeros A y A'**



$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K):  $\delta$  5.2-5.0 (m, 1H, H-4), 4.4-4.2 (m, 1H, H-2), 3.8-3.4 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -5), 2.4-2.2 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -3), 2.0-1.7 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ CMe), 1.0-0.8 (m, 3H, Me (metacrilo));  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  =178.5-177.0 ( $\text{OCOCMe}$ ), 173.52 ( $\text{COOH}$ ), 75.16 (C-4), 60.48 (C-2), 54.0-51.5 ( $\text{CH}_2$ CMe), 50.44 (C-5), 47.0-45.0 ( $\text{CMeCOO}$ ), 35.03 (C-3), 21.0-18.0 (Me acrilato); IR (KBr):  $\nu$  =3431 (br, N-H, COOH), 2997 (C-H), 1736 (C=O), 1667 (C=O), 1177 (COO, OCC)  $\text{cm}^{-1}$ ; Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{NO}_6$ : C 42.18, H 4.51, N 4.47; Encontrado (A): C 42.75, H 4.24, N 4.83.

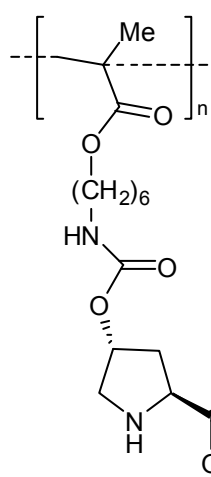
**Polímero 92**



$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  5.6-5.4 (m, 1H, NH), 5.2-5.1 (m, 1H, H-4), 4.3-4.1 (m, 1H, H-2), 4.0-3.8 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ OCO), 3.7-3.4 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -5), 3.2-3.0 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ NH), 2.5-2.3 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub>), 2.2-2.0 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>), 1.7-1.6 (m, 4H,  $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2$ CMe), 1.6-1.5 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ NH), 1.5-1.4 (m, 18H, 6 x  $\text{CH}_3$ ), 1.4-1.3 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 1.2-0.8 (m, 3H, Me (metacrilo));  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  =178.5-176.5 ( $\text{OCOCMe}$ ) 171.94 ( $\text{COOtBu}$ ), 156.06 ( $\text{NHCOO}$ ), 154.40, 154.06 ( $\text{NCOOtBu}$ ), 81.55 ( $\text{COOCMe}_3$ ), 80.41, 80.22 ( $\text{NCOOCMe}_3$ ), 73.08, 72.16 (C-4), 66.0-65.0 ( $\text{OCH}_2$ ), 58.71 (C-2), 55.5-53.5 ( $\text{CH}_2$ CMe), 52.36 (C-5), 46.0-45.0 ( $\text{CMeCOO}$ ), 41.16 ( $\text{CH}_2$ NH), 37.12, 36.71 (C-3),

35.98 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 30.05, (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 28.55, 28.24 (Me C-*t*Bu), 28.15 (Me N-*t*Bu), 26.68 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 21.0-16.0 (Me acrilato); IR:  $\nu$  = 3504 (br, N-H), 2974, 2932, 2869 (C-H), 1956, 1727 (C=O), 1678 (C=O), 1454 (*t*Bu), 1368(*t*Bu), 1350, 1253 (COO), 1125 (OCC), 995, 950, 864, 771, 748, 659 cm<sup>-1</sup>; Anal. Calcd. (%) para C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C 60.22, H 8.49, N 5.62; Encontrado: C 59.84, H 8.70, N 5.39.

### Polímero B



<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K):  $\delta$  5.3-5.1 (m, 1H, H-4), 4.2-4.1 (m, 1H, H-2), 4.0-3.8 (m, 2H, CH<sub>2</sub>OCO), 3.6-3.4 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-5), 3.1-2.9 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 2.5-2.3 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub>), 2.3-2.1 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>), 1.7-1.1 (m, 10H, OCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, CH<sub>2</sub>CMe), 1.0-0.6 (m, 3H, Me (metacrilato)); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 180.0-177.0 (COO acrilato) 172.07 (COOH), 156.63 (NCOO), 73.54 (C-4), 68.0-65.0 (OCH<sub>2</sub>), 59.13 (C-2), 55.5-53.5 (CH<sub>2</sub>CMe), 51.31 (C-5), 46.5-44.0 (CMeCOO), 40.62 (CH<sub>2</sub>NH), 35.21 (C-3), 34.97 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 34.61 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 31.27, 29.20 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 22.0-15.0 (Me acrilato); IR (KBr):  $\nu$  = 3435 (br, N-H, COOH), 2929, 2851 (C-H), 1724 (C=O), 1631 (C=O), 1059 cm<sup>-1</sup>; Anal. Calcd. (%) para C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C 47.37, H 5.96, N 6.14; Encontrado: C 46.98, H 5.82, N 6.31

### Ensayos de turbidimetría

El cambio de turbidez de las disoluciones acuosas de los polímeros **A** y **B** (2 mg/mL) en función del pH se llevó a cabo midiendo la absorbancia a 400 nm en un espectrofotómetro UV-vis Lambda 35 (Perkin Elmer Instruments). La disolución inicial se preparó disolviendo el polímero en una disolución acuosa de 0.15 M (o 1 M) de NaCl y 0.1 M de HCl. Una disolución acuosa estándar 0.1 M de NaOH se fue añadiendo poco a poco. El pH se monitorizó con un pH-metro Beckman 40 (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA).

### Análisis de la tacticidad de los polímeros

Se llevó a cabo mediante una secuencia desacoplada de <sup>13</sup>C RMN estándar empleando un tiempo de relajación de 10s. Las distribuciones tácticas se determinaron por comparación de las intensidades relativas de los carbonos implicados. Un experimento de <sup>13</sup>C RMN adicional se llevó a cabo con el polímero **A** para comprobar

el carácter cuantitativo de los datos obtenidos, empleando una secuencia de desacoplamiento inverso interrumpido con un tiempo de relajación de 5 s (el desacoplamiento fue interrumpido únicamente durante la adquisición para suprimir cualquier enriquecimiento nuclear Overhauser y obtener así datos cuantitativos o semicuantitativos). Los resultados fueron idénticos a los obtenidos por los métodos estándar de  $^{13}\text{C}$  RMN. Asumimos por tanto que no hay diferencias en los tiempos de relajación de la red de spin para las diferentes secuencias estereoisoméricas (como tríadas mm, mr y rr). Así, las áreas relativas de los picos son proporcionales al número de átomos de carbono implicados. Asumiendo la estadística Bernoulliana, que es común en polimetacrilatos obtenidos por polimerización radical, usamos los carbonos cuaternarios de cadena (alrededor de 45 ppm) y las señales de los  $\alpha\text{-CH}_3$  (entre 15 y 22 ppm) para analizar la tacticidad según las asignaciones clásicas de tacticidad de estos dos átomos en polimetacrilatos (a medida que aumenta el campo, isotácticos mm, heterotácticos mr+rm y sindiotácticos rr). El parámetro isotáctico  $\sigma$  se determinó según la ecuación siguiente:

$$\sigma = 1 - \sqrt{f_{rr}}$$

donde  $f_{rr}$  es la fracción molar de las tríadas sindiotácticas

$$f_{rr} = \frac{A_{rr}}{A_{total}}$$

siendo  $A_{rr}$  la integración de la señal sindiotáctica y  $A_{total}$  la integración del patrón completo de los átomos de carbono seleccionados. Se usó una media de las señales de ambos átomos de carbono.

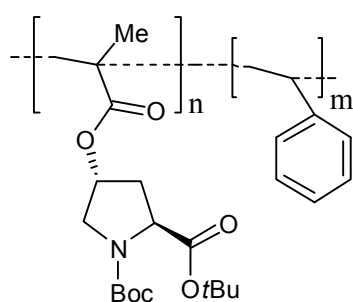
#### **Procedimiento general para la reacción aldólica asimétrica entre *p*-nitrobenzaldehído (68) y dioxanona (1), catalizada por los polímeros A y B**

A una suspensión/disolución de la cetona **1** (8.6 mg, 0.066 mmol) y el catalizador (30% mol) en el disolvente correspondiente (0.10 mL), se le añadió el aldehído **68** (5 mg, 0.033 mmol). La mezcla se agitó a  $t_a$  durante el tiempo indicado en la tabla 4.1. Tras esto, se adicionó agua (1 mL), y la mezcla se extrajo con diclorometano ( $3 \times 1$  mL). Las fases orgánicas se juntaron y se concentraron a presión reducida. Conversiones y estereoselectividades aparecen en la tabla 4.1.

**Procedimiento general para la polimerización y desprotección de los copolímeros**

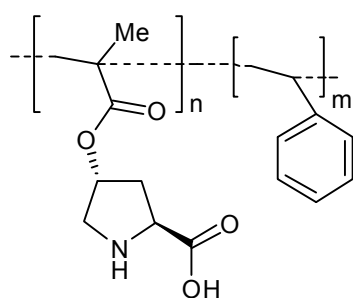
Los polímeros **93** y **94** se prepararon mediante polimerización radical en *N,N*-dimetilformamida (DMF), a 60°C, durante 24 horas y usando AIBN como iniciador. Las reacciones se llevaron a cabo en ausencia de oxígeno mediante burbujeo de nitrógeno (empleando un flujo no demasiado alto para evitar el arrastre de estireno) durante 20-30 min antes de cerrar el sistema. Las concentraciones totales de comonómeros (en la relación apropiada) e iniciador fueron respectivamente 1 y 0.015 mol/L. Tras la polimerización en DMF, los sistemas se precipitaron en un exceso de agua, y el precipitado se secó a vacío durante toda la noche. Los polímeros secos **93** y **94** se disolvieron en una mezcla de diclorometano (DCM)/ácido trifluoroacético (TFA) 1:2 (2 mL por cada 100 mg de polímero) y se dejó agitando durante 24 h a temperatura ambiente para llevar a cabo la desprotección, obteniéndose los polímeros **C** y **D**. Tras este tratamiento, los polímeros se precipitaron en éter y se secaron a vacío toda la noche. Para su purificación se suspendieron los polímeros en agua destilada (7 mL por cada 100 mg de polímero aproximadamente), y se añadió gota a gota NaOH 1M hasta su total disolución, monitorizando el pH con papel indicador (pH 7-8). Una vez disueltos se añadió gota a gota HCl 0,5M hasta la precipitación de los polímeros. El precipitado se filtró y se secó a vacío.

**Polímero 93**



$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  7.4-6.6 (s ancho, aromáticos) 5.2-4.8 (m, H-4), 4.4-3.8 (m, H-2), 3.8-3.0 (m,  $\text{CH}_2$ -5), 3.0-0.8 (m,  $\text{CH}_2$ -3,  $\underline{\text{CH}_2\text{CMe}}$ ,  $\underline{\text{CH-Ar}}$ ,  $\underline{\text{CH}_2\text{CHAr}}$ , 6 x  $\text{CH}_3$  (*t*Bu), Me (metacrilo). Los espectros fueron bastante similares para **93**<sub>2:1</sub>, **93**<sub>1:1</sub> y **93**<sub>4:1</sub>; cambiando principalmente el valor de las integrales dependiendo de la relación entre los monómeros.

**Polímero C**



$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K):  $\delta$  7.4-6.6 (s ancho, aromáticos) 5.2-5.0 (m, H-4), 4.0-2.2 (m, H-2,  $\text{CH}_2$ -5,  $\text{CH}_2$ -3,  $\underline{\text{CH-Ar}}$ , 2.0-0.8 (m,  $\underline{\text{CH}_2\text{CMe}}$ ,  $\underline{\text{CH}_2\text{CHAr}}$ , Me (metacrilo)); Los espectros fueron similares para **C**<sub>2:1</sub> y **C**<sub>4:1</sub>, pero cambiando el valor de las integrales según la relación entre los monómeros. Para el caso de **C**<sub>1:1</sub> se obtuvo un espectro de  $^1\text{H}$  RMN que prácticamente constaba de una señal ancha



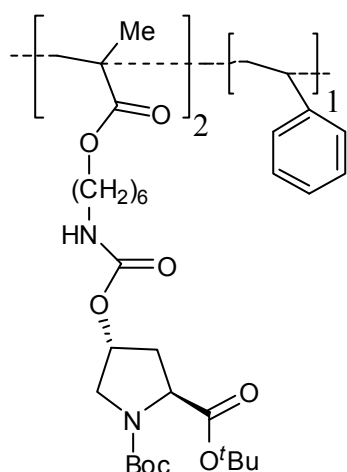
desde 5.2 a 0.8 ppm, además de un singlete ancho en la zona de los aromáticos (ver capítulo 5). Este espectro es típico de un polímero rico en estireno.

**C<sub>4:1</sub>**: IR (KBr):  $\nu = 3436$  (br, N-H, COOH), 2982 (C-H), 1727 (C=O), 1630 (C=O), 1388, 1146, 705 (C=C  $\delta$ )  $\text{cm}^{-1}$ ; Anal. Encontrado (%): C 58.02, H 7.30, N 5.81.

**C<sub>2:1</sub>**: IR (KBr):  $\nu = 3435$  (br, N-H, COOH), 2978, 2943 (C-H), 1728 (C=O), 1635 (C=O), 1453, 1387, 1134, 763 (C-H  $\delta$  oop), 704 (C=C  $\delta$ )  $\text{cm}^{-1}$ ; Anal. Encontrado (%): C 58.31, H 7.64, N 5.50.

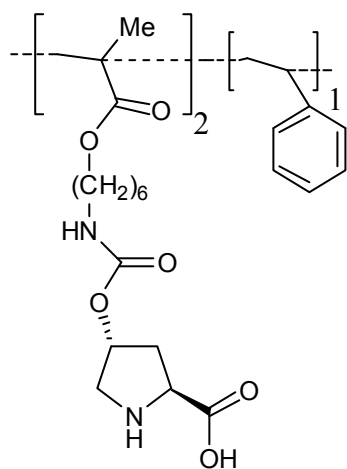
**C<sub>1:1</sub>**: IR (KBr):  $\nu = 3436$  (br, N-H, COOH), 3022, 2978, 2942 (C-H), 1728 (C=O), 1635 (C=O), 1494, 1454, 1388, 1179, 1132, 763 (C-H  $\delta$  oop), 703 (C=C  $\delta$ )  $\text{cm}^{-1}$ ; Anal. Encontrado (%): C 57.58, H 7.45, N 4.53.

### Polímero 94



<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  7.4-6-7 (s ancho, aromáticos), 5.3-5.1 (m, H-4), 4.2-4.1 (m, H-2, CH<sub>2</sub>OCO), 3.7-3.4 (m, CH<sub>2</sub>-5), 3.3-3.0 (m, CH<sub>2</sub>NH, CH<sub>2</sub>OCO, CH-Ar), 2.5-2.3 (m, CH-3<sub>A</sub>), 2.3-2.1 (m, CH-3<sub>B</sub>), 1.8-0.6 (m, OCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, CH<sub>2</sub>CHAr, 6 x CH<sub>3</sub> (tBu), CH<sub>2</sub>CMe, Me (metacrilo)).

### Polímero D

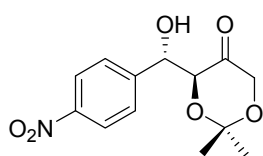


<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K):  $\delta$  7.4-6-6 (s ancho, aromáticos), 5.3-5.1 (m, H-4), 4.1-4.0 (m, H-2), 3.7-3.4 (m, CH<sub>2</sub>-5), 3.3-2.5 (m, CH<sub>2</sub>OCO, CH<sub>2</sub>NH, CH-Ar, CH-3<sub>A</sub>), 2.3-0.6 (m, CH-3<sub>B</sub>, OCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, CH<sub>2</sub>CHAr, CH<sub>2</sub>CMe, Me (metacrilo)).

**Procedimiento general para la reacción aldólica asimétrica entre *p*-nitrobenzaldehído (68) y dioxanona (1), ciclohexanona (95) ó acetona (96) catalizada por los polímeros C y D en condiciones homogéneas**

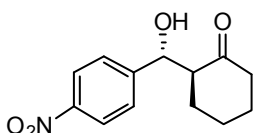
A una suspensión del polímero (10-30% mol) en agua se le añadió gota a gota una disolución de NaOH 0.1M hasta la completa disolución del polímero (pH≈8), tras lo cual se añadió disolución tampón fosfato 100mM en agua hasta 100  $\mu$ L (volumen disolución básica:buffer 1:10). Para el caso de **C**<sub>4:1</sub> no fue necesaria esta etapa de solubilización previa. Sobre esta disolución se añadió el aldehído **68** (5 mg, 0.033 mmol) y la cetona correspondiente: **1** (0.066 mmol), **95** (0.165 mmol) ó **96** (0.825 mmol). La mezcla se agitó a t.a. durante el tiempo indicado en las tablas 4.2-4.4. Tras esto, se adicionó agua (1 mL), y la mezcla se extrajo con diclorometano (3  $\times$  1 mL). Las fases orgánicas se juntaron y se concentraron a presión reducida. Conversiones y estereoselectividades aparecen en las tablas 4.2-4.4.

**(3*S*,4*S*)-4-*p*-Nitrofenil-1,3,4-trihidroxi-1,3-*O*-isopropiliden-butan-2-ona (*anti*-69) (obtenido como una mezcla de *anti*-69 y *sin*-69)**



Tiempo de retención (HPLC, Daicel Chiralpak AD-H, hexano/*i*-PrOH = 96:4, flujo 1 mL/min,  $\lambda$  = 254 nm) :  $t_R$  = 25.88 min (*anti*, mayoritario),  $t_R$  = 27.98 min (*anti*, minoritario),  $t_R$  = 44.49 min (*sin*, minoritario),  $t_R$  = 60.62 min (*sin*, mayoritario).

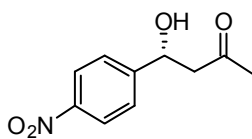
**(2*S*,1'*R*)-2-(Hidroxi(4-nitrofenil)metil)ciclohexan-1-ona (*anti*-97) (obtenido como una mezcla de *anti*-97y *sin*-97)**



<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  (isómero mayoritario) 8.19 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H, ArH), 7.49 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H, ArH), 4.88 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H, CHOH), 4.02 (s ancho, 1H), 2.63-2.54 (m, 1H), 2.50-2.33 (m, 1H), 2.31-2.21 (m, 1H), 2.14-2.06 (m, 1H), 1.83-1.79 (m, 1H), 1.73-1.52 (m, 3H), 1.49-1.28 (m, 1H); Tiempo de retención (HPLC, Daicel Chiralpak AD-H, hexano/*i*-PrOH = 80:20, flujo 0.5 mL/min,  $\lambda$  = 254 nm) :  $t_R$  = 23.79 (*sin*, minoritario),  $t_R$  = 25.40 (*sin*, mayoritario),  $t_R$  = 27.30 (*anti*, minoritario) , 34.60 (*anti*, mayoritario). Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>23a,57a</sup>

<sup>23a</sup> Font, D.; Sayalero, S.; Bastero, A.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 337-340.  
<sup>57a</sup> Guillena, G., Hita, M. C.; Nájera, C.; Vióquez, S. F. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5933-5943.

**4-Hidroxi-4-(4'-nitrofenil)butan-2-ona (R-98) (obtenido como una mezcla de R-98 y S-98)**



$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  (isómero mayoritario) 8.21 (d,  $J= 8.8$  Hz, 2H, ArH), 7.54 (d,  $J= 8.8$  Hz, 2H, ArH), 5.27 (dd,  $J= 2.9, 3.3$  Hz, 1H, CHOH), 3.59 (d,  $J= 3.3$  Hz, 1H), 2.85 (d,  $J= 2.9$  Hz, 2H), 2.22 (s, 3H); Tiempo de retención (HPLC, Daicel Chiralpak AD-H, hexano/*i*-PrOH = 96:4, flujo 1 mL/min,  $\lambda = 254$  nm) :  $t_R = 37.50$  (S, minoritario),  $t_R = 38.50$  (R, mayoritario). Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>57a</sup>

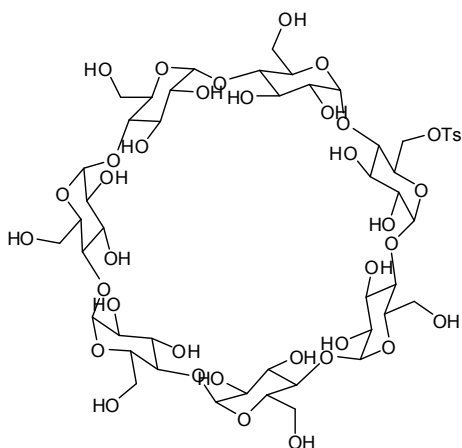
**Procedimiento general para la reacción aldólica asimétrica entre *p*-nitrobenzaldehído (68) y ciclohexanona (95) catalizada por el polímero C en presencia de sales**

Sobre una disolución de concentración determinada de la sal correspondiente en agua (0.1 mL) se añadió el polímero (10% mol) y se dejó agitando hasta su completa disolución (10 min-2h, dependiendo del caso fue necesario el empleo del sonicador). Tras esto se añadió el aldehído **68** (5 mg, 0.033 mmol) y la cetona **95** (0.165 mmol). La mezcla se agitó a *ta* durante el tiempo indicado en las tablas 4.5 y 4.6. Pasado este tiempo se adicionó agua (1 mL), y la mezcla se extrajo con diclorometano (3 × 1 mL). Las fases orgánicas se juntaron y se concentraron a presión reducida. Conversiones y estereoselectividades aparecen en las tablas 4.5 y 4.6.

<sup>57a</sup> Guillena, G., Hita, M. C.; Nájera, C.; Viózquez, S. F. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5933-5943.

CAPÍTULO 5

**6<sup>1</sup>-Desoxi-6<sup>1</sup>-p-toluensulfonil- β-ciclodextrina (118)**

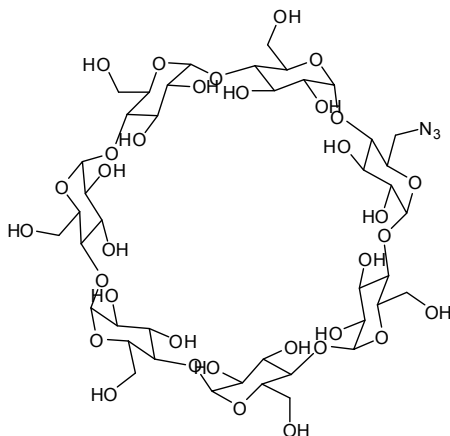


A una disolución de β-ciclodextrina (**117**) (3 g, 2.64 mmol) en agua (132 mL) se añadió una disolución de CuSO<sub>4</sub> (2 g, 7.92 mmol) en agua (198 mL) y una disolución de NaOH (2.64 g, 66 mmol) en agua (132 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min y se añadió gota a gota una disolución de cloruro de tosilo (3,96 g, 20.8 mmol) en acetonitrilo (26.4 mL) durante una hora y se continuó la agitación durante 4.5 h. La suspensión azul se neutralizó

por adición de HCl 1 N (16 mL; importante ajustar a pH 7 usando un pHmetro) formándose un precipitado azul que se eliminó por filtración sobre celita. El filtrado se concentró hasta 2/3 de su volumen inicial y se guardó en nevera, obteniéndose **118** como un sólido cristalino (1.8 g, 54 %).

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +50.7 ° (c 0.3, DMSO); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K): δ 7.74 (d, 2H, *J*= 8.07 Hz, CH-Ar), 7.42 (d, 2H, *J*= 8.02 Hz, CH-Ar), 5.9-5.6 (m, 14H, CH y CH<sub>2</sub>-CD), 4.82 (br s, 4H), 4.76 (br s, 3H), 4.5-4.1 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-CD), 3.7-3.4 (m, 28H, CH y CH<sub>2</sub>-CD), 3.4-3.2 (m, se superpone con HOD), 2.42 (s, 3H, Me); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 144.9, 132.8, 129.8, 127.8, 102.1, 81.8, 73.3-71.4, 70.0, 68.7, 59.5, 21. Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>180</sup> EM (ES): *m/z* 1311.2 (M+23).

**6<sup>1</sup>-Azido-6<sup>1</sup>-desoxi-β-ciclodextrina (119)**

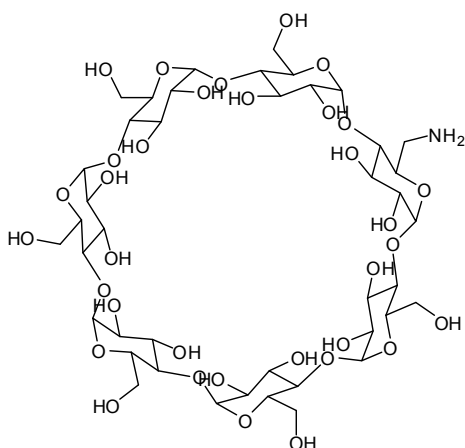


A una disolución de **118** (1 g, 0.8 mmol) en DMF (3 mL) se añadió NaN<sub>3</sub> (0.05 g, 0.86 mmol) y se agitó a 100 °C durante 4h. Pasado este tiempo se añadió acetona (45 mL), se filtró el precipitado formado y se lavó con acetona y éter, obteniéndose **119** como un sólido blanco (0.86 g, 93%).

<sup>180</sup> Petter, R. C.; Salek, J. S.; Sikorski, C. T.; Kumaravel, G.; Lin, F. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3860-3868.

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ , 298 K):  $\delta$  5.9-5.6 (m, 14H, CH y CH<sub>2</sub>-CD), 4.87 (hombro, 1H), 4.81 (br s, 6H), 4.6-4.4 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-CD), 3.8-3.4 (m, 28H, CH y CH<sub>2</sub>-CD), 3.4-3.2 (br s, se superpone con HOD);  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  102.1, 101.9, 82.3, 73.3, 73.1, 72.1, 70.8, 60.3, 51. Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>3</sup> EM (ES):  $m/z$  1182.3 (M+23); Anal. Calcd. (%) para C<sub>42</sub>H<sub>69</sub>N<sub>3</sub>O<sub>34</sub>: C, 43.49; H, 6.00; N, 3.62. Encontrado: C, 43.35; H, 5.89; N, 3.54.

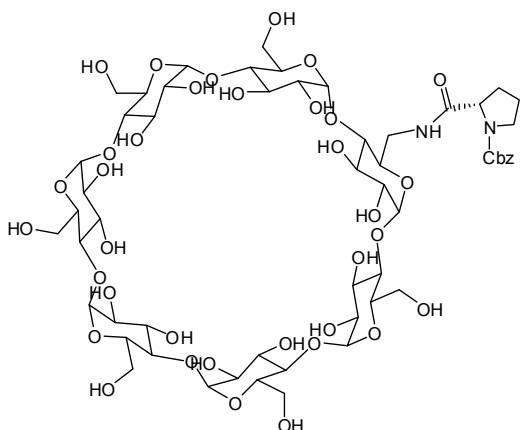
### **6<sup>1</sup>-Amino-6<sup>1</sup>-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (120)**



A una disolución de **119** (0.75 g, 0.64 mmol) en H<sub>2</sub>O (56 mL) se añadió Pd/C al 10% (0,14 g) y se dejó agitando a ta bajo atmosfera de H<sub>2</sub> durante 8h. Se filtró el Pd sobre celita, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (MeCN: H<sub>2</sub>O 3:1). Se obtuvieron 0.63 g de **120** en forma de espuma blanca (86%).

$[\alpha]_D^{25}$  +86.5 ° (c 0.4, H<sub>2</sub>O);  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ , 298 K):  $\delta$  4.85 (br s, 7H), 3.9-3.6 (m, 28H, CH y CH<sub>2</sub>-CD), 3.5-3.4 (m, 14H, CH y CH<sub>2</sub>-CD);  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  103.5 (C-1<sup>II-VII</sup>), 103.3 (C-1<sup>I</sup>), 84.3 (C-4<sup>I</sup>), 82.6-82.4 (C-4<sup>II-VII</sup>), 74.8 (C-3<sup>I-VII</sup>), 73.7-73.5 (C-2<sup>I-VII</sup>, C-5<sup>I-VII</sup>), 61.7 (C-6<sup>II-VII</sup>), 42.6 (C-6<sup>I</sup>). EM (ES):  $m/z$  1134.3 (M+1);

### **6<sup>1</sup>-[(2S)-1-benciloxicarbonilpirrolidin-2-il]-carbonilamino-6<sup>1</sup>-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (122)**



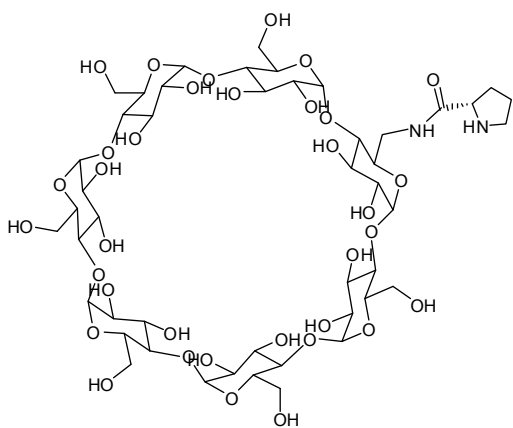
A una disolución de N-carboxybenzyl-prolina (**121**) (200mg, 0,489 mmol) en DMF anhidra (18 ml) se le añadió sucesivamente DIC (0,246 ml, 1.956 mmol) y HOBT (246 mg, 1.956 mmol) disuelto en DMF anhidra (3 ml). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante 1 hora a ta y a continuación se añadió **120** (370 mg, 0.326 mmol) disuelta en 18 ml de DMF anhidra. La mezcla de

reacción se agitó durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida, y sobre el residuo obtenido se añadió acetona, dando lugar a un precipitado blanco que se filtró y se lavó con

acetona. El precipitado se purificó por columna (MeCN/Agua 7:1). Se obtuvo **122** (0.342 g, 77%) en forma de sólido blanco.

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ , 298 K):  $\delta$  7.4-7.2 (m, 5H, Ar), 5.8-5.6 (m, 14H, OH), 5.2-5.0 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.9-4.8 (m, 7H, CH anom), 4.6-4.4 (m, 6H, OH), 4.3-4.2 (m, 1H, CH-2 pro), 3.7-3.4 (m, 28H, CH y  $\text{CH}_2$  CD), 3.4-3.2 (m, se superpone con HOD, CH y  $\text{CH}_2$  CD,  $\text{CH}_2$ -5 pro), 2.1-2.0 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -3), 1.9-1.7 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -4); EM (ES):  $m/z$  1364.9 (M+1).

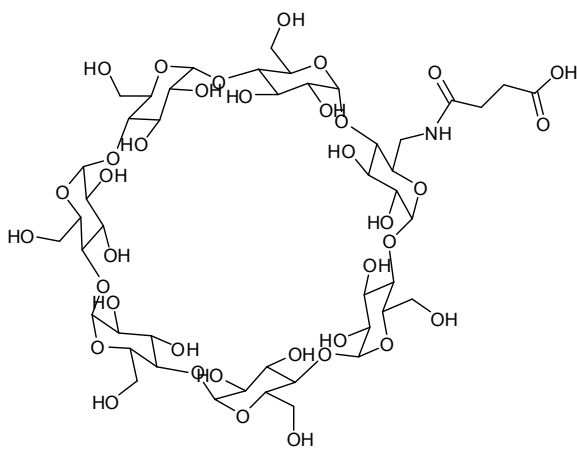
### **6<sup>1</sup>-[(2S)-pirrolidin-2-il]-carbonilamino-6<sup>1</sup>-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (111)**



A una suspensión de **122** (50 mg, 0.036 mmol) en agua (2.5 mL) se le añadió Pd/C (10%) (11.44 mg) y se sometió a hidrogenación a 45 psi durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd sobre celita, se liofilizó el agua. Se obtuvo **111** (0.044 g, 100%) en forma de sólido blanco.

$[\alpha]_D^{25} + 76.9^\circ$  (c 0.13,  $\text{H}_2\text{O}$ );  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K):  $\delta$  4.9-4.8 (m, 6H, CH anom), 4.8-4.7 (m, 1H, CH anom), 4.4-4.2 (m, 1H, CH-2), 3.8-3.6 (m, 28H, CH y  $\text{CH}_2$  CD), 3.5-3.3 (m, 14H, CH y  $\text{CH}_2$  CD), 3.3-3.2 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -5), 2.4-2.2 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -3), 1.8-1.7 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -4);  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  168.4 (C=O), 102.3-101.7 (CH anom), 81.6-81.2 (CH CD), 73.1-71.9 (CH y  $\text{CH}_2$  CD), 59.9 ( $\text{CH}_2$  CD), 58.9 (CH-2), 45.7 ( $\text{CH}_2$ -5), 30.6 ( $\text{CH}_2$ -3), 23.3 ( $\text{CH}_2$ -4). EM (ES):  $m/z$  1231.8 (M+1).

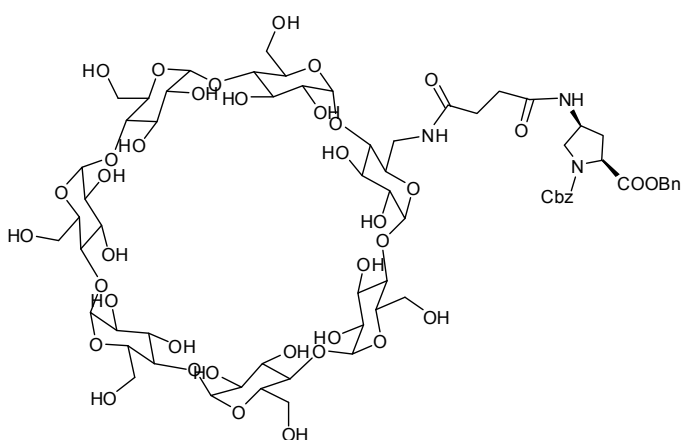
### **6<sup>1</sup>-succinilamido-6<sup>1</sup>-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (123)**



Una disolución de anhídrido succínico (78 mg, 0.78 mmol) en DMF seca (2.6 mL), se añadió sobre una disolución de **120** liofilizado (700 mg, 0.617 mmol) en DMF seca (21 mL). La mezcla de reacción se agitó a ta bajo atmósfera de Argon durante 3 horas. Pasado este tiempo el disolvente se eliminó a presión reducida. El sirope residual se añadió sobre acetona (150 mL), obteniendo 760 mg de **123** en forma de sólido blanco (100%).

$[\alpha]_D^{25} - 3.0^\circ$  ( $c$  0.3,  $H_2O$ );  $^1H$  RMN (400 MHz,  $D_2O$ , 298 K):  $\delta$  4.9-4.8 (m, 7H, CH anom), 3.9-3.6 (m, 26H, CH y  $CH_2$  CD), 3.6-3.4 (m, 14H, CH CD), 3.26 (t, 1H,  $J = 9.3$  Hz,  $CH_{2-A}NH$ ), 3.10 (dd, 1H,  $J = 8$  Hz, 14.4 Hz,  $CH_{2-B}NH$ ), 2.5-2.4 (m, 2H,  $CH_2$  succ), 2.4-2.3 (m, 2H,  $CH_2$  succ);  $^{13}C$  RMN (100 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  176.8 (C=O ácido), 174.8 (C=O amida), 102.1, 101.6 (CH anom), 83.2, 81.3, 81.4 (CH-4), 73.1 (CH-3), 72.2 (CH-2), 71.8 (CH-5), 60.4, 60.1 ( $CH_2$ -6), 30.4, 29.4 ( $CH_2$  succ). EM (ES):  $m/z$  1234.9 (M+1); 1256.9 (M+23).

**6'-[N'-(2S,4S)-1,2-dibenciloxycarbonilpirrolidin-4-il]aminocarboniletilcarbonilamino-6'-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (124)**

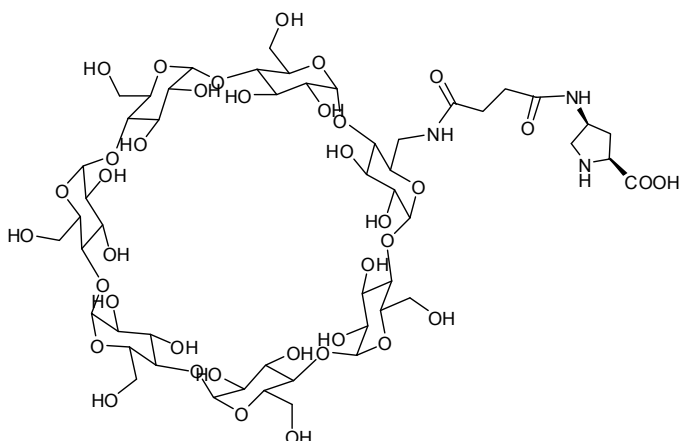


A una disolución de **123** (164 mg, 0.133 mmol) en DMF anhidra (6 ml) se le añadió sucesivamente DIC (0.08 ml, 0.516 mmol) y HOBt (80 mg, 0.516 mmol) disuelto en DMF anhidra (1.2 ml). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante 1 hora a  $ta$  y a continuación se añadió (2S,4S)-

4-Amino-1,2-dibenciloxycarbonilpirrolidina (**65**) (58 mg, 0.162 mmol) disuelta en 6 ml de DMF anhidra. La mezcla de reacción se agitó durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida, y sobre el residuo obtenido se añadió acetona, dando lugar a un precipitado blanco que se filtró y se lavó con acetona. El precipitado se purificó por columna (MeCN/Agua 5:1). Se obtuvo **124** (0.177 g, 85%) en forma de espuma blanca.

$[\alpha]_D^{25} + 58.6^\circ$  ( $c$  0.5,  $DMSO-d_6$ );  $^1H$  RMN (400 MHz,  $DMSO-d_6$ , 298 K):  $\delta$  7.4-7.2 (m, 10H, Ar), 5.8-5.6 (m, 14H, OH), 5.2-5.0 (m, 4H,  $2 \times CH_2Ph$ ), 4.9-4.8 (m, 7H, CH anom), 4.6-4.4 (m, 6H, OH), 4.3-4.2 (m, 1H, CH-4), 4.2-4.1 (m, 1H, CH-2), 3.8-3.4 (m, 28H, CH y  $CH_2$  CD), 3.4-3.2 (m, se superpone con HOD, CH y  $CH_2$  CD), 3.2-3.1 (m, 2H,  $CH_2$ -5), 2.6-2.5 (m, 1H,  $CH-3_A$ ), 2.4-2.2 (m, 4H,  $CH_2$  succ), 1.9-1.8 (m, 1H,  $CH-3_B$ );  $^{13}C$  RMN (100 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  172.2 (C=O éster), 171.7 (C=O succ), 171.5 (C=O succ), 153.5 (C=O carbamato), 136.6-135.9 (C Ar), 128.4-128.3 (CH Ar), 101.9 (CH anom), 83.4, 81.6, 81.4 (CH y  $CH_2$  CD), 66.2 ( $CH_2Ph$ ), 59.9 ( $CH_2$  CD), 59.8 (CH-4), 57.2 ( $CH_2$ -5), 47.0 (CH-2), 40.0 ( $CH_2$ -3), 30.4 ( $CH_2$  succ). EM (ES):  $m/z$  1570.9 (M+1).

**6'-[N'-(2S,4S)-2-carboxipirrolidin-4-il]aminocarboniletilcarbonilamino-6'-desoxi-β-ciclodextrina (112)**

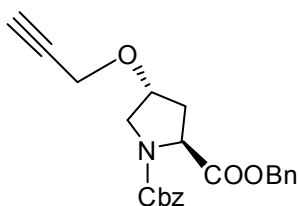


A una suspensión de **124** (128 mg, 0.081 mmol) en agua (10 ml) se le añadió Pd/C (10%) (25.8 mg) y se sometió a hidrogenación a 45 psi durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd sobre celita, y se liofilizó, obteniendo **112** (0.108 g, 100%) en forma

de sólido blanco.

$[\alpha]_D^{25} + 31.2^\circ$  (c 0.1, H<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K): δ 4.9-4.8 (m, 7H, CH anom), 4.26 (q, 1H, J= 9.0 Hz, CH-4) 3.98 (t, 1H, J= 9.0 Hz, CH-2), 3.8-3.6 (m, 28H, CH y CH<sub>2</sub> CD), 3.5-3.3 (m, 14H, CH y CH<sub>2</sub> CD), 3.3-3.1 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-5), 2.6-2.5 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub>), 2.4-2.2 (m, 4H, CH<sub>2</sub> succ), 1.8-1.7 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 174.5 (C=O ácido), 173.8 (C=O succ), 173.5 (C=O succ), 101.8 (CH anom), 81.1 (CH CD), 73.0, 71.9, 71.6 (CH y CH<sub>2</sub> CD), 60.3 (CH<sub>2</sub> CD), 57.1 (CH-2), 49.9 (CH<sub>2</sub>-5), 48.9 (CH-4), 40.1 (CH<sub>2</sub>-3), 34.2 (CH<sub>2</sub> succ), 30.6 (CH<sub>2</sub> succ). EM (ES): m/z 1346.9 (M+1), 1347.9 (M+2) Anal. Calcd. (%) para C<sub>51</sub>H<sub>83</sub>N<sub>3</sub>O<sub>38</sub>: C, 45.50; H, 6.21; N, 3.12. Encontrado: C, 45.80; H, 6.03; N, 3.40.

**(2S,4R)-1,2-dibenciloxicarbonil-4-(prop-2-iniloxi)pirrolidina (125)**



Una disolución de (2S,4R)-1,2-dibenciloxicarbonil-4-hidroxipirrolidina (**62**) (440 mg, 0.985 mmol) en DMF (3.5 mL), se añadió sobre una suspensión de hidruro sódico (48 mg, 1.63 mmol), en DMF (3.5 mL) a -20 °C bajo atmosfera de argon. La mezcla se agitó durante 20 min y transcurrido este

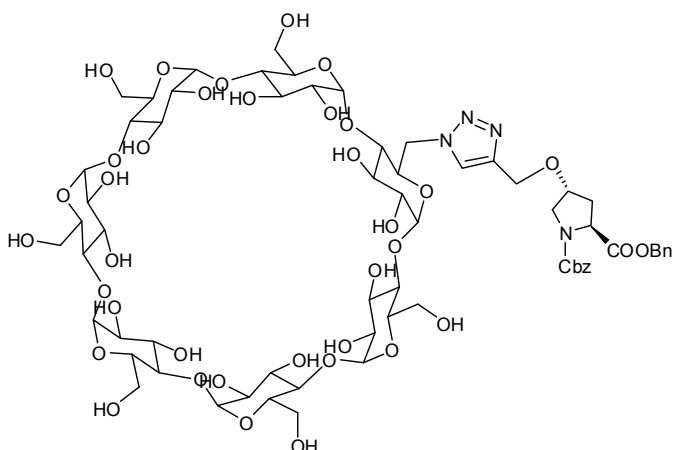
tiempo se añadió bromuro de propargilo (0.205 mL, 1.63 mmol). La mezcla se agito a -20 °C durante 1 h, se llevó a ta y se agitó durante 16 h. Transcurrido este tiempo se añadió MeOH (2.5 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (x·3) y se lavo con brine. Las fases orgánicas se juntaron y se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se elimino el disolvente a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por columna (hexano/AcOEt 4:1). Se obtuvo **125** (0.300 g, 75%) en forma de aceite incoloro.

$[\alpha]_D^{25} - 32.4^\circ$  (c 0.83, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.4-7.2 (m, 10H, Ar), 5.3-5.0 (m, 4H, 2× CH<sub>2</sub>Ph), 4.6-4.4 (m, 1H, CH-2), 4.4-4.3 (m, 1H, CH-4), 4.2-4.1



(m, 2H,  $\underline{\text{CH}_2\text{CCH}}$ ), 3.8-3.6 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-5}$ ), 2.5-2.3 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CCH}$ ,  $\text{CH-3}_A$ ), 2.2-2.0 (m, 1H,  $\text{CH-3}_B$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.2 (C=O éster), 162.5 (C=O carbamato), 128.5-127.8 (Ar), 79.1 ( $\underline{\text{CCH}}$ ), 76.2 ( $\text{CCH}$ ), 75.5 (CH-4), 77.1 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 66.9 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 58.0 (CH-2), 56.3 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CCH}}$ ), 51.6 ( $\text{CH}_2\text{-5}$ ), 35.2 ( $\text{CH}_2\text{-3}$ ). EM (ES):  $m/z$  394.2 (M+1), 416.2 (M+23). Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ : C, 70.21; H, 5.89; N, 3.56. Encontrado: C, 69.82; H, 6.15; N, 3.58.

**6<sup>l</sup>-[[(2S,4R)-1,2-dibenciloxycarbonilpirrolidin-4-il]4-oximetil]-1H-1,2,3-triazol-1-il-6<sup>l</sup>-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (126)**

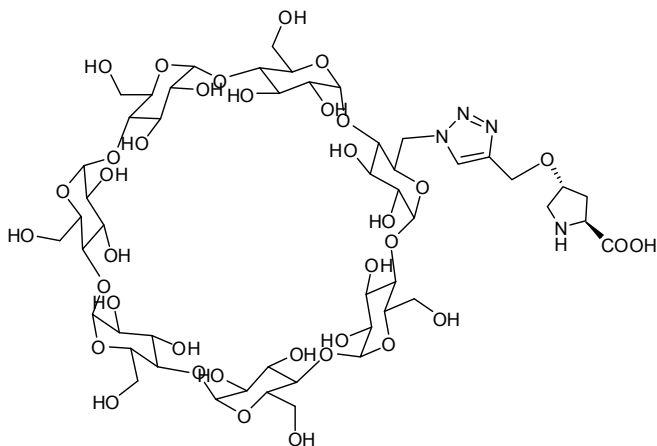


A una disolución de **119** (500 mg, 0.427 mmol) en DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  (1/1 (v/v), 20 mL), se añadió sucesivamente **125** (168 mg, 0.427 mmol),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (80.9 mg, 0.324 mmol) y ascorbato sódico (57.8 mg, 0.324 mmol). La mezcla se calentó en microondas durante 5 horas a 80 °C. Una vez transcurrido este tiempo se

eliminó el disolvente a presión reducida, y el residuo obtenido se purificó por columna (MeCN/Agua 6:1). Se obtuvo **126** (0.500 g, 75%) en forma de sólido blanco espumoso.

$[\alpha]_D^{25} + 57.6^\circ$  (c 0.5,  $\text{DMSO-}d_6$ );  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , 298 K):  $\delta$  8.1-7.9 (m, 1H, triazol), 7.4-7.2 (m, 10H, Ar), 5.8-5.6 (m, 14H, OH), 5.2-5.0 (m, 4H,  $2 \times \text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.9-4.8 (m, 7H, CH anom), 4.6-4.4 (m, 8H, OH,  $\text{CH}_2$  triazol), 4.3-4.2 (m, 1H, CH-4), 4.0-3.9 (m, 1H, CH-2), 3.7-3.4 (m, 28H, CH y  $\text{CH}_2$  CD), 3.4-3.2 (m, se superpone con HOD, CH y  $\text{CH}_2$  CD), 3.1-3.0 (m, 1H,  $\text{CH-5}_B$ ), 2.9-2.8 (m, 1H,  $\text{CH-5}_A$ ), 2.4-2.2 (m, 1H,  $\text{CH-3}_A$ ), 2.0-1.9 (m, 1H,  $\text{CH-3}_B$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  172.2 (C=O éster), 153.6 (C=O carbamato), 144.1 (C triazol), 136.5-136.0 (C Ar), 129.5-126.3 (CH Ar), 125.9 (CH triazol), 102.2 (CH anom), 81.4, 79.8, 73.9-72.0 (CH y  $\text{CH}_2$  CD), 75.1 (CH-4), 66.2 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 61.2 ( $\text{CH}_2\text{-triazol}$ ), 60.1 ( $\text{CH}_2$  CD), 57.6 ( $\text{CH}_2\text{-5}$ ), 50.2 (CH-2), 30.7 ( $\text{CH}_2\text{-3}$ ). EM (ES):  $m/z$  1554.2 (M+1); 1576.2 (M+23).

**6<sup>I</sup>-[[[(2S,4R)-2-carboxipirrolidin-4-il]4-oximetil]-1H-1,2,3-triazol-1-il-6<sup>I</sup>-desoxi-β-ciclodextrina (113)**

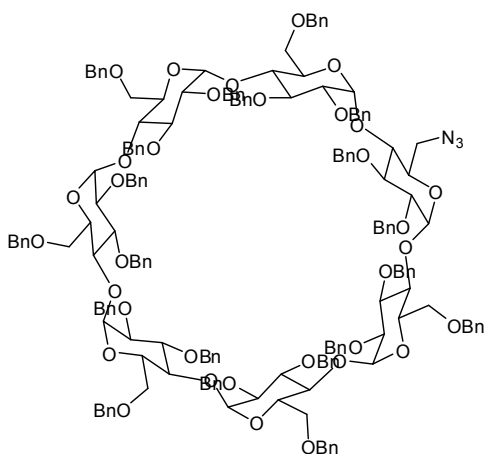


A una suspensión de **126** (250 mg, 0.161 mmol) en agua (6 ml) se le añadió Pd/C (10%) (51.2 mg) y se sometió a hidrogenación a 45 psi durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd sobre celita, y las aguas de filtrado se liofilizaron, obteniendo **113** (0.190 g, 89%) en forma de

sólido blanco.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> + 44.8° (c 0.52, H<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K): δ 7.91 (s, 1H, triazol), 5.01 (d, 1H, *J* = 3.4 Hz, CH anom) 4.9-4.8 (m, 6H, CH anom), 4.4-4.3 (m, 1H, CH-4 prolina), 4.2-4.0 (m, 1H, CH-2 prolina), 3.9-3.6 (m, 24H, CH y CH<sub>2</sub> CD) , 3.6-3.3 (m, 20H, CH y CH<sub>2</sub> CD) 3.1-2.9 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz, CH-5<sub>A</sub> prolina), 2.7-2.6 (m, 1H, CH-5<sub>B</sub> prolina), 2.5-2.4 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub> prolina), 2.1-1.9 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub> prolina); <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 174.2 (C=O ácido), 143.9 (C=CCH<sub>2</sub>), 126.9 (C=CCH<sub>2</sub>), 102.2, 102.1, 102.0, 101.6 (CH anom), 83.3, 81.5, 81.3, 80.9 (CH y CH<sub>2</sub> CD), 78.0 (CH-4 prolina), 73.3-72.0, 71.9, 71.7, 70.7, 61.4, 60.5 (CH y CH<sub>2</sub> CD), 60.1 (CH-2 prolina), 59.4 (CH<sub>2</sub>-5 prolina), 50.6 (CH<sub>2</sub>), 35.1 (CH<sub>2</sub>-3 prolina). EM (ES): *m/z* 1329.9 (M+1); Masas exactas: 1329.4563. Anal. Calcd. (%) para C<sub>50</sub>H<sub>80</sub>N<sub>4</sub>O<sub>37</sub>: C, 45.18; H, 6.07; N, 4.22. Encontrado: C, 44.89; H, 6.21; N, 4.18.

**6<sup>I</sup>-Azido-6<sup>I</sup>-desoxi-2<sup>I-VII</sup>, 3<sup>I-VII</sup>, 6<sup>II-VII</sup>-eicosakis-O-bencil-β-ciclodextrina (127)**



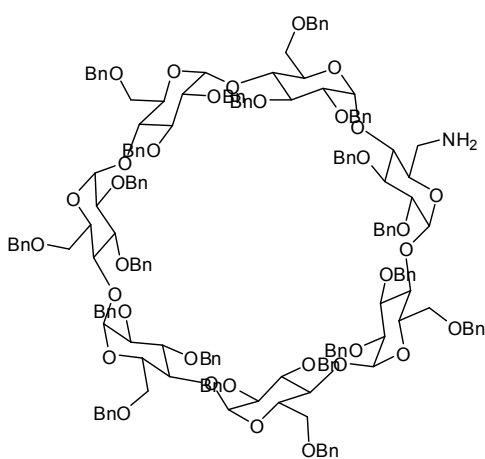
A una disolución de **119** (600 mg, 0.517 mmol) en DMSO anhidro (12.6 ml) se le añadió NaH (0.856 g, 18.6mmol) y se agitó a ta durante 30 min bajo atmósfera de Ar. Una vez transcurrido este tiempo se enfrió a 0 °C y se añadió cloruro de bencilo (2.14 mL, 18.6 mmol) y se dejó agitando durante 30 min a 0 °C. Se llevó a ta y se dejó agitando toda la noche. Pasado este tiempo, se añadieron 10 mL de agua para parar la reacción, se extrajo con éter (4 X 10 mL) y se

lavó con brine. Las fases orgánicas se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a

presión reducida. El residuo se cromatografió en columna (Hexano:AcOEt 5:1). Se obtuvo **127** (1.16 g, 76%) en forma de aceite amarillento.

$[\alpha]_D^{25} + 57.0^\circ$  (c 8.2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.4-7.05. (m, 100H, CH Ar), 5.4-5.3 (m, 1H, CH-1), 5.3-5.0 (m, 12H, CH-1, CH<sub>2</sub>Ph), 4.9-4.7 (m, 10H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.8-4.3 (m, 24H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.2-3.8 (m, 24H, CH-3, CH-5, CH-6<sub>A</sub>), 3.7-3.4 (m, 18H, CH-2, CH-4, CH-6<sub>B</sub>); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 140.8, 139.3-139.2, 139.0, 138.3-137.9, 128.5, 128.4-126.9, 98.7-98.1, 97.8, 80.8-80.6, 79.5-78.7, 76.7-75.1, 73.3-73.2, 72.8-72.5, 71.7-70.7, 69.4-68.9, 65.3. . EM (ES): *m/z* 2962.9 (M+1). Anal. Calcd. (%) para C<sub>182</sub>H<sub>189</sub>N<sub>3</sub>O<sub>34</sub>: C, 73.79; H, 6.43; N, 1.42. Encontrado: C, 73.57; H, 6.75; N, 1.17.

**6<sup>I</sup>-Amino-6<sup>I</sup>-desoxi-2<sup>I-VII</sup>, 3<sup>I-VII</sup>, 6<sup>II-VII</sup>-eicosakis-O-bencil-β-ciclodextrina (128)**

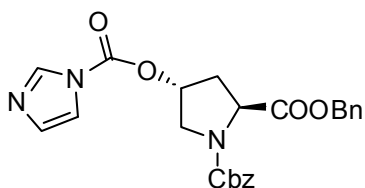


A una disolución de **127** (970 mg, 0.327 mmol) en THF (9.34 mL) se le añadió PMe<sub>3</sub> (disolución 1 M en THF; 3.93 mL, 3.93 mmol) y H<sub>2</sub>O (2.33 mL). La mezcla se dejó agitando a 50 °C durante 24 h. Pasado este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida y se extrajo con AcOEt y agua (3 X 25 mL). Las fases orgánicas se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se cromatografió en columna (Tolueno:AcOEt 20:1- 1:1). Se

obtuvo **128** (0.650 g, 70%) en forma de sólido blanco espumoso.

$[\alpha]_D^{25} + 54.8^\circ$  (c 2.9, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.4-7.05. (m, 100H, CH Ar), 5.3-4.9 (m, 21H), 4.8-4.6 (m, 12H), 4.6-4.2 (m, 28H), 3.7-3.3 (m, 28H), 3.0-2.8 (m, 2H); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 140.8, 139.3-139.2, 139.0, 138.3-137.9, 128.5, 128.4-126.9, 98.7-98.1, 97.8, 80.8-80.6, 79.5-78.7, 76.7-75.1, 73.3-73.2, 72.8-72.5, 71.7-70.7, 69.4-68.9, 65.3. . EM (ES): *m/z* 2938.4 (M+1), 2959.9 (M+23). Masas exactas: 2937.3404. Anal. Calcd. (%) para C<sub>182</sub>H<sub>191</sub>NO<sub>34</sub>: C, 74.44; H, 6.56; N, 0.48. Encontrado: C, 74.26; H, 6.56; N, 0.19.

**(2S,4R)-1,2-dibenciloxicarbonil-4-(1H-imidazol-1-carboniloxi)pirrolidina (129)**

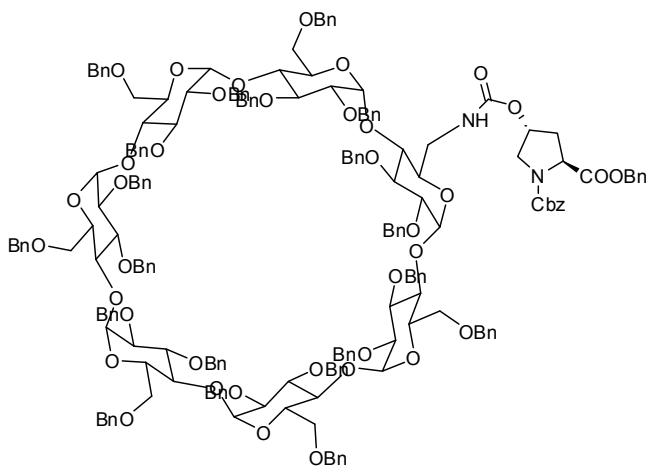


A una disolución de (2S,4R)-1,2-dibenciloxicarbonil-4-hidroxipirrolidina (**62**) (370 mg, 1.036 mmol) en THF anhidro (20.5 mL) se le añadió N,N'-carbonildiimidazol (323.82 mg, 2.072 mmol) y se dejó agitando bajo

atmósfera de argón a 40 °C durante 24 h. Una vez transcurrido este tiempo se filtró se evaporó el disolvente a presión reducida. El residuo obtenido se cromatografió (hexano/AcOEt 1:4) Se obtuvo **129** (0.380 g, 82%) en forma de sólido blanco.

$[\alpha]_D^{25} - 31.1^\circ$  (c 1.3, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); p.f.: 57- 60 °C; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 8.10 (s, 1H, CH-4 im), 7.4-7.2 (m, 10H, CH- Ar) , 7.2-7.1 (m, 1H, CH-2 im), 7.08 (s, 1H, CH-5 im), 5.6-5.5 (m, 1H, CH-4), 5.3-5.0 (m, 4H, 2× CH<sub>2</sub>Ph), 4.58 (dt, 1H, J= 7.8 Hz, 31.8 Hz, CH-2), 3.9-3.8 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-5), 2.7-2.6 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub>), 2.5-2.3 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 171.5, 171.1 (C=O éster), 155.8 (C=O carbamato), 147.8 (C=O carbamato imidazol), 137.2 (CH-4 im), 130.8 (CH-5 im), 128.8-128.2 (CH-2 im, CH-Ar), 76.2 (CH-4), 67.5 (CH<sub>2</sub>Ph), 67.2 (CH<sub>2</sub>Ph), 57.5 (CH-2), 52.1 (CH<sub>2</sub>-5), 36.4 (CH-3<sub>A</sub>), 35.3 (CH-3<sub>B</sub>). EM (ES): m/z 450.2 (M+1). Anal. Calcd. (%) para C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>: C, 64.13; H, 5.16; N, 9.35. Encontrado: C, 63.87; H, 5.10; N, 9.12.

**6<sup>I-VII</sup>-[(2S,4R)-1,2-dibenciloxicarbonil-pirrolidin-4-il]-oxicarbonilamino-6<sup>I-VII</sup>-desoxi-2<sup>I-VII</sup>, 3<sup>I-VII</sup>, 6<sup>II-VII</sup>-eicosaguis-O-bencil-β-ciclodextrina (130)**



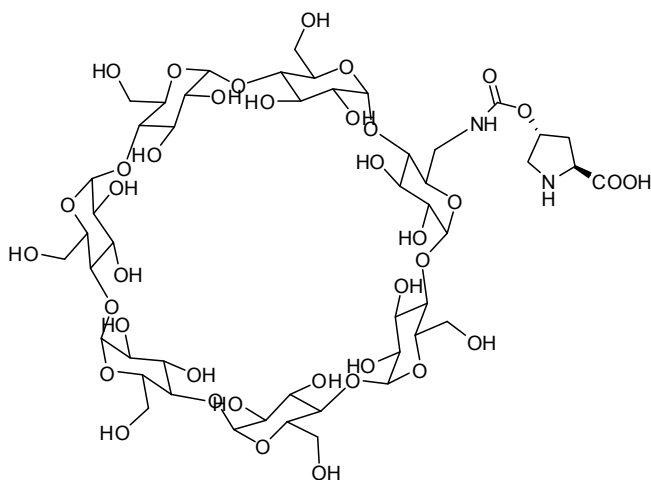
A una disolución de **129** (183.2 mg, 0.408 mmol) en THF seco (2.5 mL) se le añadió Et<sub>3</sub>N (226.22 μL, 1.632 mmol) y **128**, (600 mg, 0.204 mmol). La mezcla se dejó agitando a 60 °C durante 24 h, y se añadieron 183.19 mg más del derivado de imidazol y 500 μL más de Et<sub>3</sub>N. Se dejó agitando durante 24 horas más. Pasado este tiempo

se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se cromatografió en columna (Hexano:AcOEt 2:1). Se obtuvo **130** (0.530 g, 83 %) en forma de sólido blanco espumoso.

$[\alpha]_D^{25} + 45.9^\circ$  (c 1.4, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.4-7.0. (m, 110H, CH Ar), 5.3-4.8 (m, 18H, CH anom, CH-4 prolina, CH<sub>2</sub>Ph), 4.8-4.6 (m, 10H, CH<sub>2</sub>Ph) , 4.6-4.2 (m, 25H, CH-2 prolina, CH<sub>2</sub>Ph), 4.0-3.8 (m, 24H), 3.8-3.6 (m, 1H, CH-5<sub>A</sub> prolina), 3.6-3.4 (m, 18H) 3.4-3.2 (m, 1H, CH-5<sub>B</sub> prolina), 2.4-2.2 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub> prolina), 2.2-2.0 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub> prolina) ; <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.0, 171.8, 155.4, 154.7, 154.0, 139.4-139.2, 138.9, 138.4-138.1, 128.6, 128.4-126.9, 98.8-97.8, 81.0-80.2, 79.3-78.8, 75.7-74.8, 73.6-73.0, 72.9-72.4, 72.2-72.0, 71.7, 71.4, 70.1, 69.4-

69.1, 68.6, 67.3, 67.1, 66.9, 57.9, 57.7, 41.3, 29.6. . Anal. Calcd. (%) para  $C_{203}H_{210}N_2O_{40}$ : C, 73.49; H, 6.38; N, 0.84. Encontrado: C, 73.37; H, 6.53; N, 0.92.

**6'-[(2S,4R)-2-carboxi-pirrolidin-4-il]-oxicarbonilamino-6'-desoxi-β-ciclodextrina (114)**

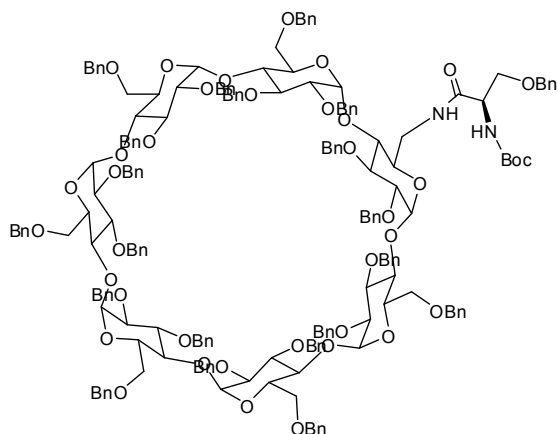


A una disolución de **130** (176 mg, 0.053 mmol) en MeOH:AcOEt (1:1, 5 mL) se le añadió Pd/C (10 %) (300 mg) y TFA cat. (2 gotas), y se sometió a hidrogenación a 45 psi durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd sobre celita, y se lavó con MeOH y agua.

Se evaporó la mayor parte del disolvente a presión reducida y se liofilizó la muestra. Se obtuvo **114** (57.3 mg, 87%) en forma de sólido blanco.

$[\alpha]_D^{25} + 40.9^\circ$  (c 0.55,  $H_2O$ );  $^1H$  RMN (400 MHz,  $D_2O$ , 298 K):  $\delta$  5.17 (s, 1H, CH anom), 4.90 (s, 6H, CH anom), 4.4-4.2 (m, 1H, CH-4 prolina), 3.8-3.6 (m, 25H, CH-2 prolina, CH y  $CH_2$  CD), 3.5-3.4 (m, 18H, CH y  $CH_2$  CD), 3.4-3.2 (m, 1H, CH-5<sub>A</sub> prolina), 3.2-3.0 (m, 1H, CH-5<sub>B</sub> prolina), 2.5-2.4 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub> prolina), 2.3-2.1 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub> prolina);  $^{13}C$  RMN (125 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  172.5, 156.9, 102.1, 83.3, 81.4-81.0, 74.0, 73.2-72.1, 71.9, 70.7, 79.9, 60.3, 60.1, 59.4, 51.4, 41.5, 35.2. EM (ES):  $m/z$  1291.7 (M+1). Masas exactas: 1291.4335. Anal. Calcd. (%) para  $C_{48}H_{78}N_2O_{38}$ : C, 44.65; H, 6.09; N, 2.17. Encontrado: C, 44.17; H, 6.08; N, 2.47.

**6'-[(1R)-N-terc-butoxicarbonil-1-amino-2-benciloxietil]carbonilamino-6'-desoxi-2',3',6''-eicosaquis-O-bencil-β-ciclodextrina (132)**

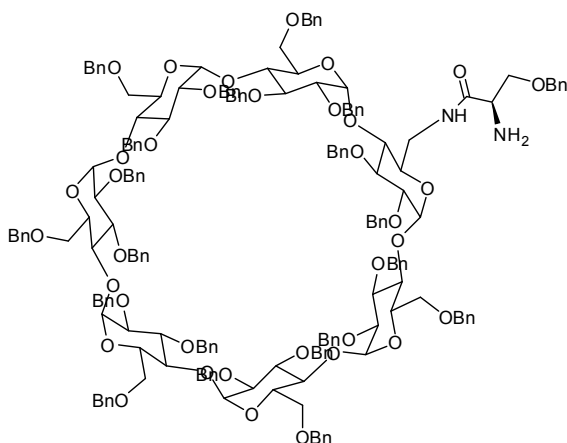


N-Boc-O-Benzil-D-serina (**131**) (90.36 mg, 0.204 mmol) se disolvió en DMF anhidra (12 mL), y DIC (0.156 mL) y HOBt (156 mg) disuelto en DMF anhidra (2.4 mL) se añadieron sucesivamente. La mezcla se agitó bajo Ar durante una hora a t.a., y se añadió **128** (600 mg, 0.204 mmol) disuelta en 12 mL de DMF anhidra.

La reacción se dejó agitando a t.a. durante dos horas. Pasado este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se disolvió en 20 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se extrajo con brine (3 x 10 mL). Las fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se cromatografió en columna (Hexano:AcOEt 3:1). Se obtuvo **132** (0.650 g, 99 %) en forma de sólido blanco espumoso.

$[\alpha]_D^{25} + 56.4^\circ$  (c 1.37, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.3-7.0. (m, 105H, CH Ar), 5.4-5.0 (m, 7H, CH anom), 5.0-4.8 (m, 12H, CH<sub>2</sub> CD), 4.8-4.6 (m, 8H), 4.5-4.3 (m, 28H), 4.1-3.9 (m, 25H), 3.8-3.6 (m, 2H), 3.6-3.4 (m, 11H), 3.4-3.2 (m, 1H), 1.4 (s, 9H, Me tBu); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.3, 155.4, 139.2, 138.5, 128.4-127.1, 98.7-97.6, 81.2-81.0, 79.1-78.8, 77.5, 75.8-75.2, 73.5-73.4, 72.9-72.5, 71.8-71.6, 69.5-69.3, 53.8, 42.9, 28.3. Anal. Calcd. (%) para C<sub>197</sub>H<sub>210</sub>N<sub>2</sub>O<sub>38</sub>: C, 73.62; H, 6.59; N, 0.87. Encontrado: C, 73.37; H, 6.59; N, 1.10.

**6'-[(1R)-1-amino-2-benciloxietil]carbonilamino-6<sup>l</sup>-desoxi-2<sup>l-VII</sup>, 3<sup>l-VII</sup>, 6<sup>l-VII</sup> -II-VII-  
eicosakis-O-bencil-β-ciclodextrina (**133**)**

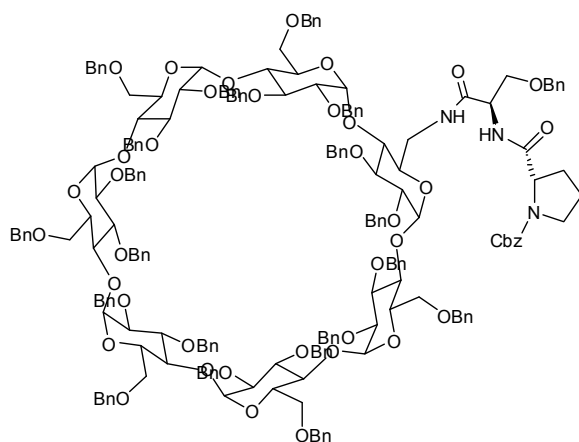


**132** (620 mg, 0.193 mmol) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (37 mL), y se añadió TFA (0.911 mL). La mezcla se agitó durante toda la noche a t.a., tras lo cual se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se disolvió en 20 mL de AcOEt y se añadieron Et<sub>3</sub>N (0.887 mL) y 10 mL de H<sub>2</sub>O. Se dejó esta mezcla agitando durante 30 min, y se extrajo con brine (3

x 10 mL). Las fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniéndose **133** (0.600 g, 100 %) en forma de sólido blanco espumoso.

$[\alpha]_D^{25} + 61.2^\circ$  (c 0.92, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.4-7.0. (m, 105H, CH Ar), 5.4-5.0 (m, 7H, CH anom), 5.0-4.8 (m, 12H, CH<sub>2</sub> CD), 4.8-4.6 (m, 8H), 4.5-4.3 (m, 28H), 4.1-3.9 (m, 25H), 3.7-3.3 (m, 14H). Anal. Calcd. (%) para C<sub>192</sub>H<sub>202</sub>N<sub>2</sub>O<sub>36</sub>: C, 74.06; H, 6.54; N, 0.90. Encontrado: C, 74.69; H, 6.80; N, 0.60.

**6<sup>1</sup>-[(1R)-1-[(2S)-1-benciloxycarbonilpirrolidin-2-il]carbonilamino-2-benciloxietil]carbonilamino-6<sup>1</sup>-desoxi-2<sup>I-VII</sup>, 3<sup>I-VII</sup>, 6<sup>II-VII</sup>-eicosaquis-O-bencil-β-ciclodextrina (134)**

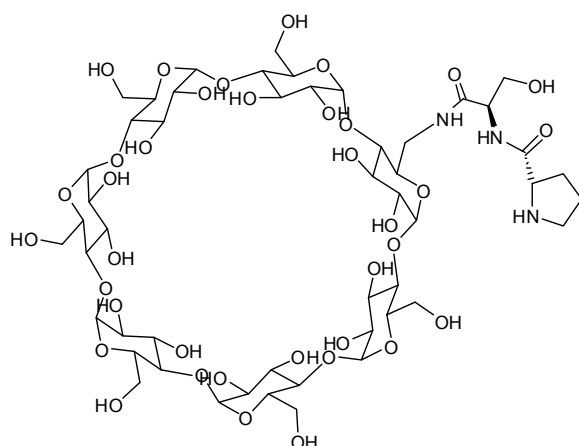


N-carboxibencil-L-prolina (**121**) (109.76 mg, 0.269 mmol) se disolvió en DMF anhidra (16 mL), y DIC (0.160 mL) y HOBt (168 mg) disuelto en DMF anhidra (2.5 mL) se añadieron sucesivamente. La mezcla se agitó bajo Ar durante una hora a t.a., y se añadió **133** (560 mg, 0.179 mmol) disuelta en 16mL de DMF anhidra. La reacción se dejó agitando a

t.a. durante la noche. Pasado este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se disolvió en 20 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se extrajo con brine (3 x 10 mL). Las fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se cromatografió en columna (Hexano:AcOEt 3:1). Se obtuvo **134** (0.520 g, 87 %) en forma de sólido blanco espumoso.

$[\alpha]_D^{25} + 40.8^\circ$  (c 1.18, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.4-6.8 (m, 110H, CH Ar), 5.3-4.9 (m, 7H, CH anom), 4.9-4.6 (m, 14H) , 4.5-4.1 (m, 31H), 4.1-3.7 (m, 29H), 3.6-3.2 (m, 18H), 2.0-1.5 (m, 4H); Anal. Calcd. (%) para C<sub>205</sub>H<sub>215</sub>N<sub>3</sub>O<sub>39</sub>: C, 73.61; H, 6.48; N, 1.26. Encontrado: C, 73.73; H, 6.50; N, 1.16.

**6<sup>1</sup>-[(1R)-1-[(2S)-pirrolidin-2-il]carbonilamino-2-hidroxi-etil]carbonilamino-6<sup>1</sup>-desoxi-β-ciclodextrina (115)**

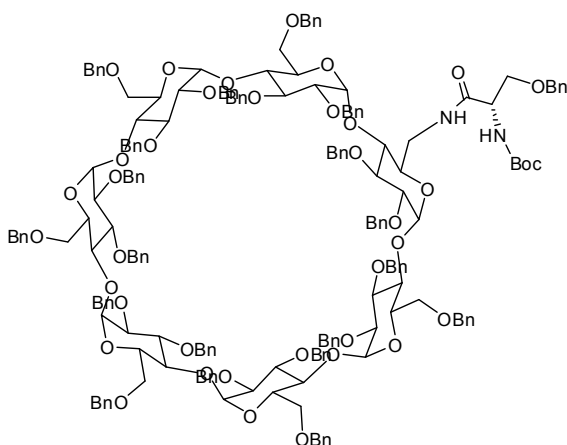


A una disolución de **134** (85.7 mg, 0.026 mmol) en MeOH:AcOEt 1:1 (2.5 mL) se le añadió Pd/C (10 %) (148 mg) y TFA cat. (1 gota), y se sometió a hidrogenación a 45 psi durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd sobre celita, y se lavó con MeOH y agua. Se evaporó la mayor parte del

disolvente a presión reducida y se liofilizó la muestra. Se obtuvo **115** (34.2 mg, 100%) en forma de sólido blanco.

$[\alpha]_D^{25} + 92.0^\circ$  (c 0.2, H<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K):  $\delta$  4.9-4.8 (m, 7H, CH anom), 4.4-4.2 (m, 4H), 4.0-3.2 (m, 42H), 2.4-2.2 (m, 2H), 2.0-1.8 (m, 4H); EM (ES): Masas exactas:  $m/z$  1318.4803 (M+1).

**6<sup>I</sup>-[(1S)-N-terc-butoxicarbonil-1-amino-2-benciloxietil]carbonilamino-6<sup>I</sup>-desoxi-2<sup>I</sup>-VII, 3<sup>I-VII</sup>, 6<sup>II-VII</sup>-eicosaquis-O-bencil- $\beta$ -ciclodextrina (136).**



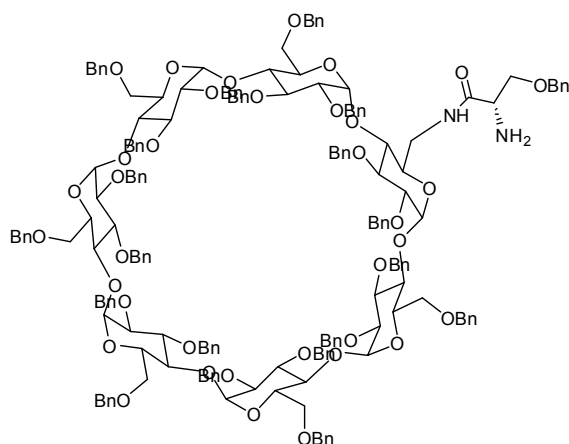
N-Boc-O-Benzyl-L-serina (**135**) (90.36 mg, 0.204 mmol) se disolvió en DMF anhidra (12 mL), y DIC (0.156 mL) y HOBt (156 mg) disuelto en DMF anhidra (2.4 mL) se añadieron sucesivamente. La mezcla se agitó bajo Ar durante una hora a t.a., y se añadió **128** (600 mg, 0.204 mmol) disuelta en 12 mL de DMF anhidra. La reacción se dejó agitando a

t.a. durante dos horas. Pasado este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se disolvió en 20 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se extrajo con brine (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se cromatógrafió en columna (Hexano:AcOEt 3:1). Se obtuvo **136** (0.530 g, 81 %) en forma de sólido blanco espumoso.

$[\alpha]_D^{25} + 41.0^\circ$  (c 1.41, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  7.3-7.0. (m, 105H, CH Ar), 5.4-5.0 (m, 7H, CH anom), 5.0-4.8 (m, 12H, CH<sub>2</sub> CD), 4.8-4.6 (m, 8H), 4.5-4.3 (m, 28H), 4.1-3.9 (m, 25H), 3.8-3.6 (m, 2H), 3.6-3.4 (m, 11H), 3.3-3.1 (m, 1H), 1.4 (s, 9H, Me tBu); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.3, 155.4, 139.1, 138.3, 128.5-126.9, 98.7-97.6, 81.2-81.0, 79.1-78.8, 77.5, 75.8-75.2, 73.5-73.4, 72.9-72.5, 71.8-71.6, 69.5-69.3, 53.8, 42.9, 28.3. Anal. Calcd. (%) para C<sub>197</sub>H<sub>210</sub>N<sub>2</sub>O<sub>38</sub>: C, 73.62; H, 6.59; N, 0.87. Encontrado: C, 73.25; H, 6.35; N, 0.71.



**6<sup>1</sup>-[(1S)-1-amino-2-benciloxietil]carbonilamino-6<sup>1</sup>-desoxi-2<sup>I-VII</sup>, 3<sup>I-VII</sup>, 6<sup>II-VII</sup>-eicosaquis-O-bencil-β-ciclodextrina (137)**

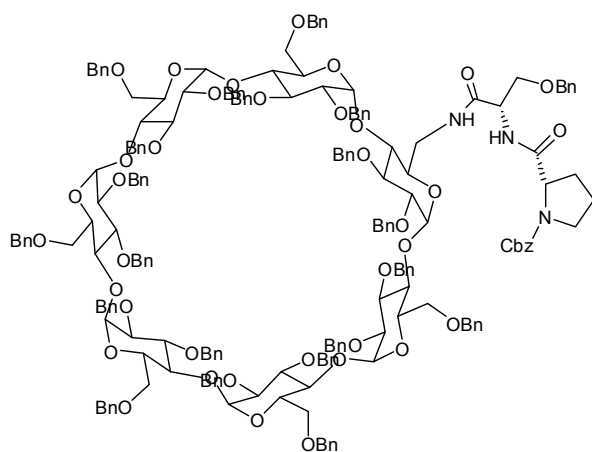


**136** (450 mg, 0.140 mmol) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (27 mL), y se añadió TFA (0.656 mL). La mezcla se agitó durante toda la noche a t.a., tras lo cual se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se disolvió en 20 mL de AcOEt y se añadieron Et<sub>3</sub>N (0.639 mL) y 10 mL de H<sub>2</sub>O. Se dejó esta mezcla agitando durante 30 min, y se extrajo con brine (3

x 10 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniéndose **137** (0.410 g, 94 %) en forma de sólido blanco espumoso.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> + 154.9 ° (c 0.9, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 7.4-7.0. (m, 105H, CH Ar), 5.4-5.0 (m, 7H, CH anom), 5.0-4.8 (m, 12H, CH<sub>2</sub> CD), 4.8-4.6 (m, 8H), 4.5-4.3 (m, 28H), 4.1-3.9 (m, 25H), 3.7-3.3 (m, 14H); Anal. Calcd. (%) para C<sub>192</sub>H<sub>202</sub>N<sub>2</sub>O<sub>36</sub>: C, 74.06; H, 6.54; N, 0.90. Encontrado: C, 74.56; H, 6.07; N, 1.10.

**6<sup>1</sup>-[(1S)-1-[(2S)-1-benciloxicarbonilpirrolidin-2-il]carbonilamino-2-benciloxietil]carbonilamino-6<sup>1</sup>-desoxi-2<sup>I-VII</sup>, 3<sup>I-VII</sup>, 6<sup>II-VII</sup>-eicosaquis-O-bencil-β-ciclodextrina (138)**

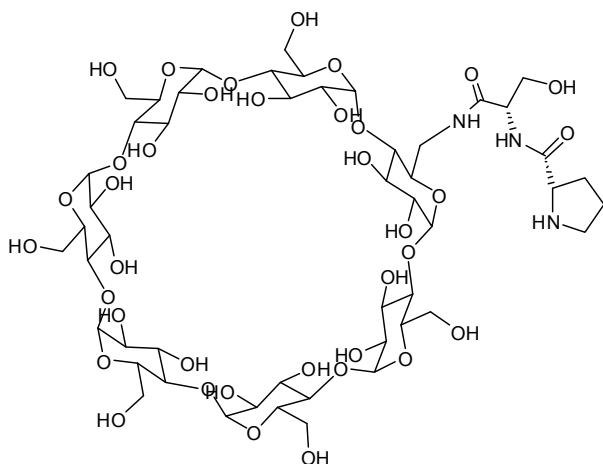


N-carboxibencil-L-prolina (**121**) (70.55 mg, 0.173 mmol) se disolvió en DMF anhidra (10 mL), y DIC (0.102 mL) y HOBt (108 mg) disuelto en DMF anhidra (2 mL) se añadieron sucesivamente. La mezcla se agitó bajo Ar durante una hora a t.a., y se añadió **137** (360 mg, 0.115 mmol) disuelta en 16mL de DMF anhidra. La reacción se dejó agitando a t.a. durante

la noche. Pasado este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se disolvió en 20 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se extrajo con brine (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se cromatografió en columna (Hexano:AcOEt 3:1). Se obtuvo **138** (0.320 g, 83 %) en forma de sólido blanco espumoso.

$[\alpha]_D^{25} + 30.3^\circ$  (c 0.61,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  7.4-6.8 (m, 110H, CH Ar), 5.3-4.9 (m, 7H, CH anom), 4.9-4.6 (m, 14H), 4.5-4.1 (m, 31H), 4.1-3.7 (m, 29H), 3.6-3.2 (m, 18H), 2.0-1.5 (m, 4H); Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_{205}\text{H}_{215}\text{N}_3\text{O}_{39}$ : C, 73.61; H, 6.48; N, 1.26. Encontrado: C, 73.43; H, 6.55; N, 1.59.

**6<sup>1</sup>-[(1S)-1-[(2S)-pirrolidin-2-il]-carbonilamino-2-hidroxi-etil]-carbonilamino-6<sup>1</sup>-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (116)**



A una disolución de **138** (170 mg, 0.050 mmol) en MeOH:AcOEt 1:1 (5 mL) se le añadió Pd/C (10 %) (320 mg) y TFA cat. (2 gotas), y se sometió a hidrogenación a 45 psi durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd sobre celita, y se lavó con MeOH y agua. Se evaporó el disolvente a presión reducida y se liofilizó la

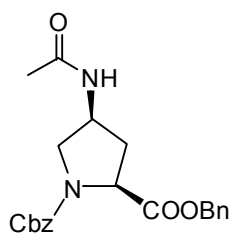
muestra. Se obtuvo **116** (65.8 mg, 100%) en forma de sólido blanco.

$[\alpha]_D^{25} + 44.0^\circ$  (c 0.1,  $\text{H}_2\text{O}$ );  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K):  $\delta$  4.9-4.8 (m, 7H, CH anom), 4.4-4.2 (m, 4H), 4.0-3.2 (m, 42H), 2.4-2.2 (m, 2H), 2.0-1.8 (m, 4H);  $^{13}\text{C RMN}$  (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  165.7, 165.6, 102.2, 82.0-80.9, 73.6, 72.5-71.5, 61.8, 60.8-59.7, 56.2, 46.9, 37.3, 30.2, 23.8. EM (ES): Masas exactas:  $m/z$  1318.4809 (M+1).

**Procedimiento general para la reacción aldólica catalizada por los distintos catalizadores derivados de ciclodextrina (111-116), entre *p*-nitrobenzaldehído (68) y dioxanona (1).**

A una suspensión/disolución de *p*-nitrobenzaldehído (**68**) (0.013 mmol) y el catalizador (20% mol) en el disolvente elegido (0.05 mL), se añadió dioxanona (**1**) (0.026 mmol). La mezcla se agitó a t.a durante el tiempo indicado en la tabla 5.1. A continuación se añadió  $\text{H}_2\text{O}$  (0.3 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 $\times$ 0.3 mL). El disolvente de las fases orgánicas combinadas se evaporó a presión reducida. Rendimientos y diastereoselectividades se muestran en las tablas 5.1 y 5.2.

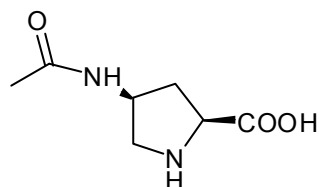
**(2S,4S)- 4-acetamido-1,2-dibenciloxicarbonilpirrolidina (139-prot)**



A una disolución de (2S,4S)-4-Amino-1,2-dibenciloxicarbonilpirrolidina (**65**) (200 mg, 0.563 mmol) en piridina (0.8 mL) se le añadió anhídrido acético (184.10  $\mu$ L) y se dejó agitando a ta durante la noche. Una vez transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente a presión reducida. El residuo obtenido se cromatografió ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  20:1). Se obtuvo **139-prot** (0.150 g, 67%) en forma de aceite amarillo.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 137.5^\circ$  (c 0.24,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  7.4-7.2 (m, 10H, CH- Ar), 6.6-6.5 (d, 1H,  $J=9$  Hz, NH), 5.3-5.0 (m, 4H,  $2 \times \text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.7-4.6 (m, 1H, CH-4), 4.43 (dd, 1H,  $J=12$  Hz, 21 Hz, CH-2), 3.7-3.5 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -5) 2.6-2.4 (m, 1H, CH-3<sub>A</sub>), 2.1-1.9 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>), 1.80 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.1 (C=O éster), 169.9 (C=O amida Me), 155.0, 154.3 (C=O carbamato), 136.3, 135.3, 135.1, 129.1-128.1 (Ar), 68.4, 67.8, 67.7, ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 58.6, 58.2, 57.7 (CH-4), 53.9, 53.7, 53.4 (CH-2), 49.2, 48.6, 48.3, 47.6 ( $\text{CH}_2$ -5), 37.2, 36.9, 36.7 (CH-3<sub>A</sub>), 36.2, 35.9, 35.6 (CH-3<sub>B</sub>), 23.8, 23.5, 23.2, 22.9 (Me). EM (ES):  $m/z$  397.2 (M+1); 419.2 (M+23). Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$ : C, 66.65; H, 6.10; N, 7.07. Encontrado: C, 66.27; H, 6.46; N, 6.80.

**(2S,4S)-4-acetamido2-carboxipirrolidina (139)**



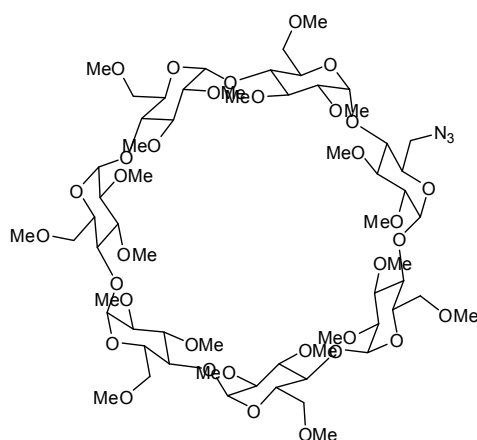
A una disolución de **139-prot** (100 mg, 0.252 mmol) en  $\text{MeOH}$  (5 mL) se le añadió Pd/ C (10%) (475 mg) y se sometió a hidrogenación a 42 psi durante 24 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd y se evaporó el disolvente a presión reducida. Se obtuvo **139** (0.043 g, 100%) en forma de sólido amarillo.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 23.9^\circ$  (c 0.23,  $\text{H}_2\text{O}$ );  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K):  $\delta$  4.26 (q, 1H,  $J=6.6$  Hz, CH-4), 4.02 (dd, 1H,  $J=7.7$  Hz, 9.0 Hz, CH-2), 3.42 (dd, 1H,  $J=7.1$  Hz, 12.4 Hz,  $\text{CH}_2$ -5<sub>A</sub>), 3.17 (dd, 1H,  $J=5.7$  Hz, 12.5 Hz,  $\text{CH}_2$ -5<sub>B</sub>), 2.51 (ddd, 1H,  $J=6.8$  Hz, 8.8 Hz, 13.6 Hz, CH-3<sub>A</sub>), 2.0-1.8 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>), 1.79 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  174.5 (C=O ácido), 173.7 (C=O éster), 60.19 (CH-2), 49.4 ( $\text{CH}_2$ -5), 48.8 (CH-4), 33.9 ( $\text{CH}_2$ -3), 21.8 (Me). EM (ES):  $m/z$  173.0 (M+1), 195.0 (M+23). Anal. Calcd. (%) para  $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ : C, 48.83; H, 7.02; N, 16.27. Encontrado: C, 48.75; H, 7.15; N, 16.43.

**Procedimiento general para la reacción aldólica catalizada por la molécula modelo derivada de prolina 139, entre *p*-nitrobenzaldehído (68) y dioxanona (1)**

A una disolución de *p*-nitrobenzaldehído (**68**) (0.013 mmol) y el catalizador **139** (20% mol) en presencia o en ausencia de  $\beta$ -ciclodextrina (**117**, 20% mol) en el disolvente elegido (0.05 mL), se añadió dioxanona (**1**) (0.026 mmol). La mezcla se agitó a t.a durante 48 h. A continuación se añadió H<sub>2</sub>O (0.3 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×0.3 mL). El disolvente de las fases orgánicas combinadas se evaporó a presión reducida. Rendimientos y diastereoselectividades se muestran en la tabla 5.3.

**6<sup>1</sup>-Azido-6<sup>1</sup>-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina permetilada (142)**



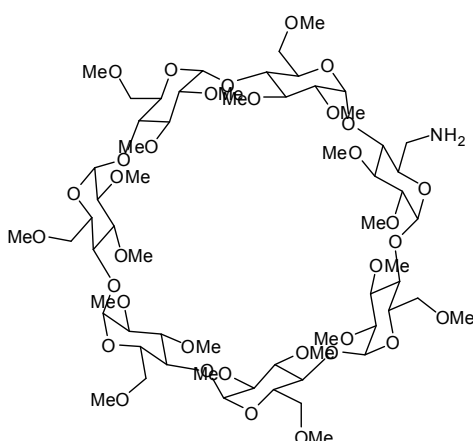
A una disolución de **119** (300 mg, 0.26 mmol) en DMF anhidra (10 ml) se le añadió NaH (0.750 g, 31 mmol) y se sonicó durante 15 min en un baño de agua. Una vez transcurrido este tiempo se se añadió MeI (3 mL) y se dejó sonicando durante 15 min adicionales. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 X 10 mL). Las fases orgánicas se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se eliminó el disolvente a

presión reducida. El residuo se cromatografió en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOH 20:1). Se obtuvo **142** (0.32 g, 86%) en forma de aceite amarillento.

$[\alpha]_D^{25} + 5.7^\circ$  (c 0.53, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 298 K):  $\delta$  5.2-5.1 (m, 7H, CH-anom), 4.0-3.7 (m, 14H), 3.7-3.4 (m, 60H), 3.4-3.3 (m, 20H), 3.2-3.1 (m, 8H); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  98.7, 98.4, 98.2, 82.3, 82.1, 81.3, 79.7, 71.6, 71.2, 60.7, 58.2, 57.8, 52.0. Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>181</sup> EM (ES): Masas exactas: *m/z* 1462.6818 (M+23).

<sup>181</sup> Yuan, D. -Q.; Lu, J.; Atsumi, M.; Yan, J. -M.; Kai, M.; Fujita, K. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2932-2939.

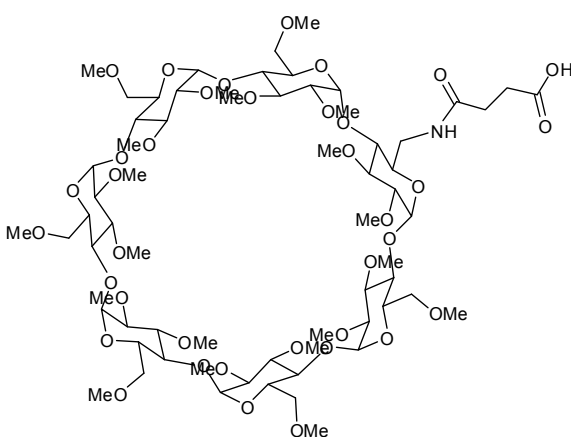
**6<sup>1</sup>- Amino-6<sup>1</sup>-desoxi-β-ciclodextrina permetilada (143)**



A una disolución de **142** (300 mg, 0.208 mmol) en MeOH (25 ml) se le añadió Pd/C (10%) (58 mg) y se agitó bajo atmósfera de hidrógeno durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd sobre celita, se lavó con MeOH y EtOH y se evaporó el disolvente. El residuo se cromatografió en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOH 10:1), obteniendo (0.160 g, 57 %) de **143** en forma de espuma blanca.

$[\alpha]_D^{25} + 10.3^\circ$  (c 0.33, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 5.14 (d, 1H, *J*= 3 Hz, CH-anom), 5.09 (d, 1H, *J*= 3 Hz, CH-anom), 5.08-5.02 (m, 5H, CH-anom), 3.9-3.7 (m, 14H), 3.7-3.4 (m, 60H), 3.4-3.3 (m, 20H), 3.2-3.1 (m, 8H); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 99.6, 99.2, 99.0, 98.8, 82.6, 82.2, 81.8, 80.7, 80.3, 72.5, 71.7, 71.4, 71.2, 71.1, 61.7, 61.5, 61.4, 59.4, 59.2, 58.9, 58.8, 58.6, 58.5, 58.4, 50.6, 42.5. EM (ES): Masas exactas: *m/z* 1414.7144 (M+1). Anal. Calcd. (%) para C<sub>62</sub>H<sub>111</sub>NO<sub>34</sub>: C, 52.64; H, 7.91; N, 0.99. Encontrado: C, 52.37; H, 8.21; N, 1.03.

**6<sup>1</sup>-succinilamido-6<sup>1</sup>-desoxi-β-ciclodextrina permetilada (144)**



Una disolución de anhídrido succínico (14.7 mg, 0.113mmol) en DMF seca (0.5 mL), se añadió sobre una disolución de **143** (160 mg, 0.113 mmol) en DMF seca (4 mL). La mezcla de reacción se agitó a ta bajo atmósfera de Argon durante la noche. Pasado este tiempo el disolvente se eliminó a presión reducida. El sirope residual se purificó por columna

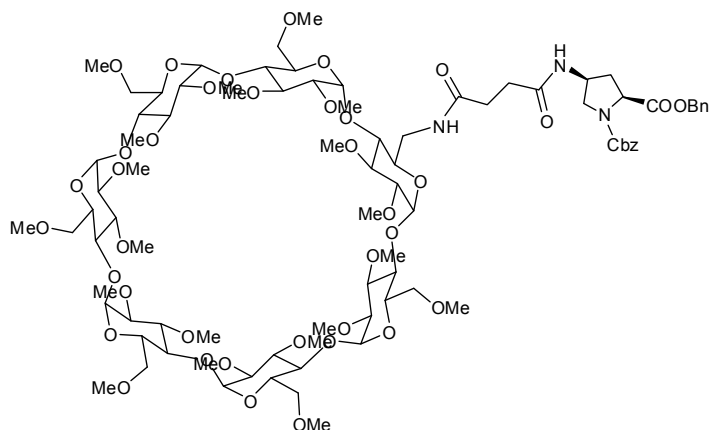
cromatográfica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 15:1), obteniendo (0.130 g, 93 %) de **144** en forma de aceite incoloro.

$[\alpha]_D^{25} + 115.7^\circ$  (c 0.3, MeOH); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ 5.17 (d, 1H, *J*= 3 Hz, CH-anom), 5.14 (d, 1H, *J*= 3 Hz, CH-anom), 5.13-5.04 (m, 5H, CH-anom), 3.9-3.7 (m, 14H), 3.7-3.5 (m, 30H), 3.5-3.4 (m, 30H), 3.4-3.3 (m, 20H), 3.2-3.1 (m, 8H), 2.7-2.6 (m, 2H), 2.5-2.4 (m, 2H); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.5, 99.3, 98.9, 98.4, 82.2, 81.9, 81.8, 81.6, 80.7, 80.4, 79.8, 71.5, 71.1, 70.2, 61.7, 61.6, 61.5, 59.6, 58.8,

58.7, 58.6, 52.0, 50.7, 40.8, 31.3, 29.3. EM (ES): Masas exactas:  $m/z$  1536.7063 (M+23).

**6<sup>1</sup>-[N<sup>1</sup>-(2S,4S)-1,2-dibenciloxycarbonilpirrolidin-4-**

**il]aminocarbonileticarbonilamino-6<sup>1</sup>-desoxi-β-ciclodextrina permetilada (145)**

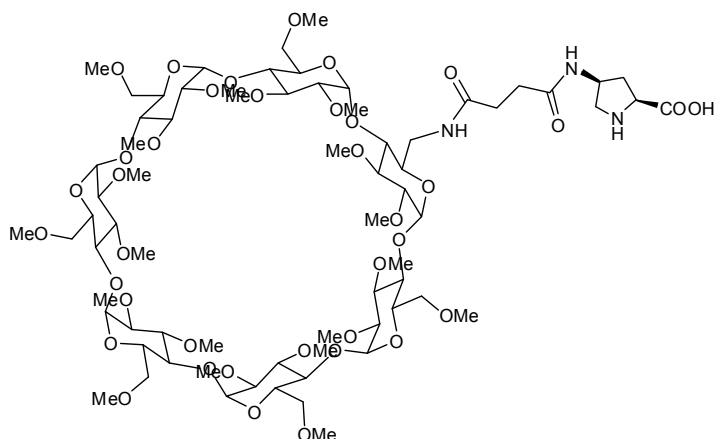


A una disolución de **144** (130 mg, 0.086 mmol) en DMF anhidra (4 ml) se le añadió sucesivamente DIC (0.052 ml) y HOBt (52 mg) disuelto en DMF anhidra (0.8 ml). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante 1 hora a ta y a continuación se

añadió (2S,4S)-4-amino-1,2-dibenciloxycarbonilpirrolidina (**65**) (37.6 mg, 0.112 mmol) disuelta en 4ml de DMF anhidra. La mezcla de reacción se agitó durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida, y el residuo se purificó por columna (AcOEt:MeOH 10:1). Se obtuvo **145** (0.110 g, 70%) en forma de aceite incoloro.

$[\alpha]_D^{25} + 52.0^\circ$  (c 1.62, MeOH);  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  7.4-7.2 (m, 10H, Ar), 5.2-4.9 (m, 11H, anom,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.6-4.4 (m, 1H, CH-4), 4.3-4.2 (m, 1H, CH-2), 3.9-3.7 (m, 14H), 3.7-3.3 (m, 80H), 3.2-3.1 (m, 10H), 2.5-2.4 (m, 5H,  $\text{CH}_2$  succ, CH-3<sub>A</sub>), 2.4-2.2 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>);  $^{13}\text{C RMN}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  173.9 (C=O amida), 172.9 (C=O amida), 172.8 (C=O éster), 163.7 (C=O carbamato), 128.4-127.8 (C Ar), 124.0, 123.9, 117.5, 111.3 (CH Ar), 98.4-97.9 (CH anom), 82.5-81.0, 80.0-78.6 (CH y  $\text{CH}_2$  CD), 71.6-70.4, 60.7, 60.6, 58.6, 58.3, 57.8, 56.2, 40.1, 35.8, 34.7, 30.8, 30.5, 28.5.

**6'-[N'-(2S,4S)-2-carboxipirrolidin-4-il]aminocarboniletilcarbonilamino-6'-desoxi-β-ciclodextrina permetilada (141)**



A una disolución de **145** (80 mg, 0.043 mmol) en MeOH (2 mL) se le añadió Pd/C (10 %) (13.7 mg) y se sometió a hidrogenación a 45 psi durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo se filtró el Pd sobre celita, y se

lavó con MeOH y agua. Se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo se purificó por columna (AcOEt:MeOH 4:1). Se obtuvo **141** (56 mg, 80%) en forma de aceite incoloro.

$[\alpha]_D^{25} + 104.1^\circ$  (c 1.46, MeOH);  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 298 K):  $\delta$  5.3-5.1 (m, 7H, anom), 4.45-4.35 (m, 1H, CH-4), 4.3-4.1 (m, 1H, CH-2-prol), 3.9-3.7 (m, 12H), 3.65-3.45 (m, 59H), 3.4-3.3 (m, 24H), 3.2-3.1 (m, 7H, CH-2-CD), 2.95-2.90 (m, 1H, CH-5<sub>A</sub>), 2.85-2.80 (m, 1H, CH-5<sub>B</sub>), 2.6-2.4 (m, 5H, CH<sub>2</sub> succ, CH-3<sub>A</sub>), 1.7-1.9 (m, 1H, CH-3<sub>B</sub>);  $^{13}\text{C RMN}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  177.0 (C=O ácido), 174.5 (C=O amida), 173.7 (C=O amida), 99.6, 99.5, 99.3, 99.25, 99.2, 99.1, 98.9 (CH anom), 83.6-82.6, 82.8, 81.1-80.3 (CH y CH<sub>2</sub> CD), 72.7-72.2, 71.5, 64.4, 62.5, 62.4, 61.9-61.6, 59.7-58.8, 56.4, 55.6, 53.9, 53.1, 50.4, 49.8, 38.6, 32.1, 32.2.

**Procedimiento general para la reacción aldólica catalizada por 141, entre p-nitrobenzaldehído (68) y las cetonas 1, 95 y 96.**

A una disolución/suspensión de *p*-nitrobenzaldehído (**68**) (0.013 mmol) y el catalizador **141** (20% mol) en agua (0.05 mL), se añadió dioxanona (**1**) (0.026 mmol), ciclohexanona (**95**) (0.065 mmol) ó acetona (**96**) (0.325 mmol). La mezcla se agitó a t.a durante 24 h. A continuación se añadió H<sub>2</sub>O (0.3 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×0.3 mL). El disolvente de las fases orgánicas combinadas se evaporó a presión reducida. Rendimientos y diastereoselectividades se muestran en la tabla 5.6.

**Procedimiento general para la reacción aldólica asimétrica entre p-nitrobenzaldehído (68) y dioxanona (1) catalizada por 112 en presencia de distintas sales**

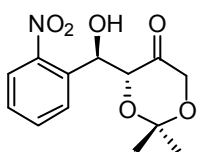
Sobre una disolución de concentración determinada de la sal correspondiente en agua (0.05 mL) se añadió **112** (20% mol), *p*-nitrobenzaldehído (**68**) (0.013 mmol) y la

cetona **1** (0.026 mmol). La mezcla se agitó a t.a durante 24 h. Pasado este tiempo se adicionó agua (0.3 mL), y la mezcla se extrajo con diclorometano (3 × 0.3 mL). Las fases orgánicas se juntaron y se concentraron a presión reducida. Conversiones y estereoselectividades aparecen en la tabla 5.7.

**Procedimiento general para la reacción aldólica catalizada por 112, entre distintos aldehídos y cetonas.**

A una suspensión/disolución del aldehído correspondiente (0.013 mmol) y el catalizador (20% mol) en agua (0.05 mL), se añadió dioxanona (**1**) (0.026 mmol), ciclohexanona (**95**) (0.065 mmol) ó acetona (**96**) (0.325 mmol). La mezcla se agitó a t.a durante 24 h. A continuación se añadió H<sub>2</sub>O (0.3 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×0.3 mL). El disolvente de las fases orgánicas combinadas se evaporó a presión reducida. Rendimientos y diastereoselectividades se muestran en la tabla 5.8.

**(3R,4R)-4-o-Nitrofenil-1,3,4-trihidroxi-1,3-O-isopropiliden-butan-2-ona (anti-147)**  
**(obtenido como una mezcla de anti-146 y sin-146)**



<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ (isómero mayoritario) 7.89 (dd, *J*= 7.96, 1.37 Hz, 1H, ArH), 7.82 (d, *J*= 7.96, 1.37 Hz, 1H, ArH), 7.63 (td, *J*= 7.68, 1.10 Hz, 1H, ArH), 7.41-7.46 (m, 1H, ArH), 5.79 (d, *J*= 7.68 Hz, 1H, CHOH), 4.29 (dd, *J*= 17.56, 1.65 Hz, 1H), 4.08 (dd, *J*= 7.96, 1.65 Hz, 1H), 4.04 (d, *J*= 17.56 Hz, 1H), 3.71 (br, 1H), 1.34 (s, 3H, Me), 1.14 (s, 3H, Me); Tiempo de retención (HPLC, Daicel Chiralpak AD-H, hexano/*i*-PrOH = 90:10, flujo 0.8 mL/min, λ = 254 nm) : *t<sub>R</sub>* = 14.17 (*anti*, minoritario), *t<sub>R</sub>* = 16.53 (*anti*, mayoritario), *t<sub>R</sub>* = 20.19 (*sin*, minoritario) , 20.97 (*sin*, mayoritario). Los datos espectroscópicos coinciden con lo descrito en la literatura.<sup>60b</sup>

<sup>60b</sup> Luo, S.; Xu, H.; Zhang, L.; Li, J.; Cheng, J. –P. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 653-656.



## **APÉNDICE I**

### **RESUMEN DE LA TESIS Y CONCLUSIONES EN INGLÉS (REQUISITOS PARA LA MENCIÓN DOCTORADO EUROPEO)**





**REPORT PhD**

**PhD student:**

ELISA GARCÍA DOYAGÜEZ

**Doctoral thesis title:**

SYNTHESIS OF NEW CATALYSTS BASED ON PROLINE AND EVALUATION  
OF THEIR ACTIVITY FOR ALDOL REACTION

**PhD advisor:**

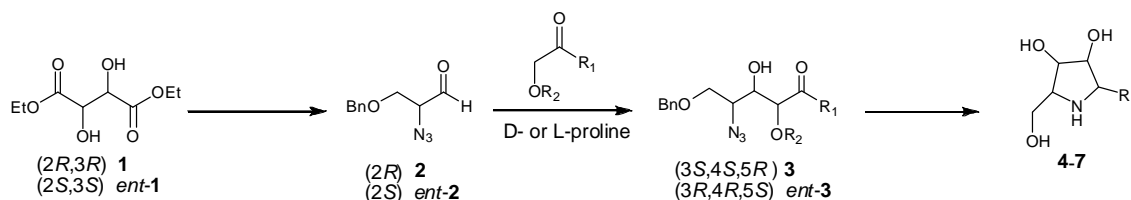
ALFONSO FERNÁNDEZ-MAYORALAS ÁLVAREZ



## INTRODUCTION AND OBJECTIVES

The use of small organic molecules as catalysts has been known for more than a century, but only in the past decade has organocatalysis become a thriving area of general concepts and widely applicable asymmetric reactions.<sup>1</sup> Among them, the aldol reaction, in addition to being an effective method for the formation of carbon-carbon bonds in organic synthesis, is also a critical biological reaction in the context of metabolism<sup>2</sup> and an efficient tool for the synthesis of carbohydrates.<sup>3</sup> One of the organocatalysts more widely used for this type of reactions has been the aminoacid proline.

Our group was interested in applying this methodology for the synthesis of iminosugars, which are known to be potent glycosidase inhibitors.<sup>4</sup> So, it had been previously developed by us an efficient route to obtain six membered-ring iminosugars from diethyltartrate in which the key step was a proline-catalyzed aldol reaction.<sup>5</sup> These results led us to apply the same synthetic strategy to the preparation of five membered-ring iminosugars (scheme 1), and their evaluation as glycosidase inhibitors.



**Scheme 1**

<sup>1</sup> MacMillan, D. W. C. *Nature* **2008**, *455*, 304-308.

<sup>2</sup> Palomo, C.; Oiarbide, M.; García, J. M. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 65.

<sup>3</sup> (a) Kazmaier, U. *Angew. Chem. Int. Ed* **2005**, *44*, 2186. (b) Enders, D.; Grondal, C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 1210.

<sup>4</sup> (a) Stutz, A. E. en *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **1999**. (b) Asano, N.; Nash, M. J.; Molyneux, R. J.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1645-1680. (c) Bols, M.; Lillehund, V. H.; Jensen, H. H.; Liang, X. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 515-554. (d) Sinnott, M. L. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171-1202.

<sup>5</sup> Calderón F.; Doyagüez, E. G.; Fernández-Mayoralas, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6258-6261.

Besides, we have focused our attention on the study of aldol reactions catalyzed by proline anchored to inorganic materials in order to facilitate the retrieval and reuse of the catalyst and test the reactions in different organic solvents. So, we have immobilized proline on mesoporous support MCM-41.

In the context of supported proline-based catalysts, our next purpose was to functionalize proline with a methacrylic moiety and prepare both homo- and copolymers in order to obtain polymeric catalysts with different properties, depending on the monomers used, and keeping the possibility of easy recovery of the catalyst.

Finally, we have also tackled the design of new catalysts of proline covalently linked to  $\beta$ -cyclodextrin. These new molecules can provide a selective binding site for aromatic substrates in aldol reactions, mimicking the way of working of aldolase enzymes.

## **OBJECTIVES**

Considering both the great impact that organocatalysis has caused in the scientific community, and the effectiveness of the proline catalyzed aldol reaction for carbohydrate synthesis, the objectives pursued in this Doctoral Thesis were:

- 1) Application of the previously developed strategy for obtaining six-membered ring iminosugars to the synthesis of five-membered ring iminosugars, using as key step an aldol reaction catalyzed by soluble proline between an  $\alpha$ -azidoaldehyde and different ketones. The iminosugars obtained will be evaluated as inhibitors of glycosidase enzymes.
- 2) Due to the advantages that immobilization of catalysts offers regarding recovery and purification of final products, we decided to carry out the study of aldol reactions employing catalysts based on proline anchored to different supports:
  - a) Proline anchored to mesoporous MCM-41, with the aim to widen the range of organic solvents which can be used for the aldol reaction, that, in the case of soluble proline were limited to the most polar ones, as DMF or DMSO. Moreover, immobilization of the catalyst should simplify purification of final products, since the catalyst could be easily separated from the reaction mixture by filtration.
  - b) Preparation of polymeric supports bearing proline in their structures. We will base our methodology on a monomer functionalization design, in contrast to the more often used polymer functionalization. Both homo- and copolymers with hydrophobic styrene comonomers will be prepared. The latter could

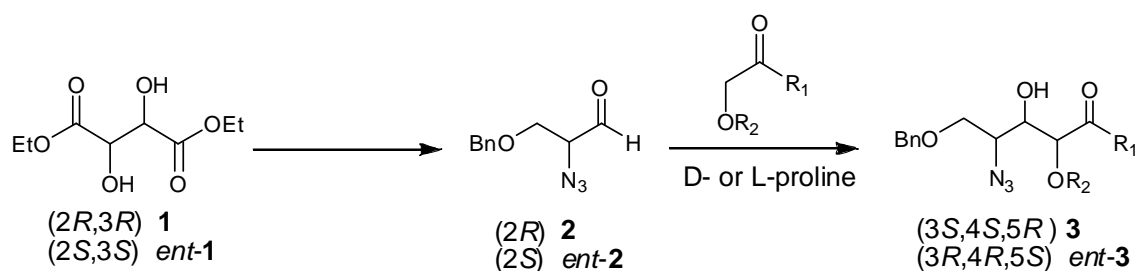
offer us the possibility of performing the aldol reaction in water, due to the hydrophobic interactions between the nonpolar substrates and the hydrophobic styrene moiety. Furthermore, some advantages regarding separation of the catalyst are present here, due to the solubility characteristics of the polymer depending on the pH.

- 3) Finally, we have tackled the design and synthesis of catalysts derived from proline with a binding site for the substrate. This was performed by linking proline with a  $\beta$ -cyclodextrin using different spacers. These molecules will be evaluated as catalysts for aldol reaction. We expected to obtain efficient catalysts for the aldol reaction in water, with selectivity for those aromatic aldehydes that can be included inside the cyclodextrin cavity.

## PhD WORK DEVELOPMENT AND METHODOLOGY

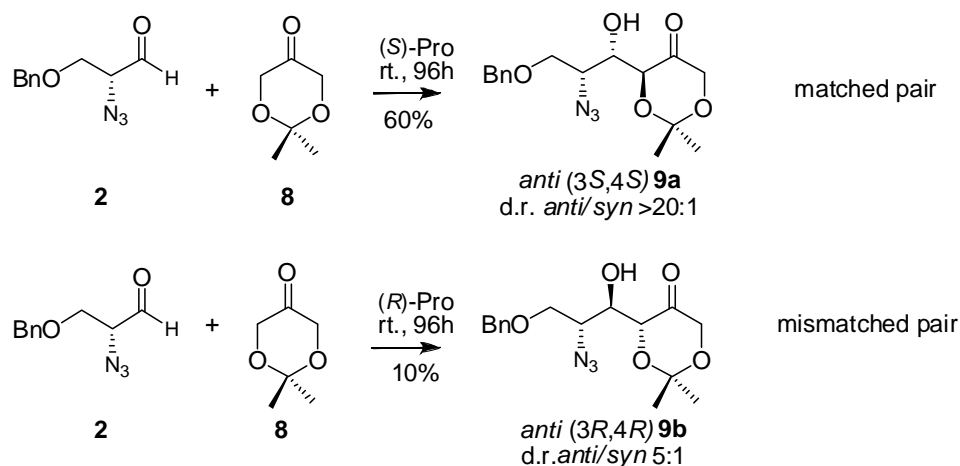
### Synthesis of iminosugars through a proline catalyzed aldol reaction and evaluation as glycosidase inhibitors

Soluble (L)- and (D)-proline were used as catalysts for aldol reactions in DMF between the two enantiomers of aldehyde **2** and hydroxiacetone or dioxanone, obtaining aldol products with different configurations in their stereogenic centers depending on the configuration of the aldehyde and the catalyst used (scheme 2).



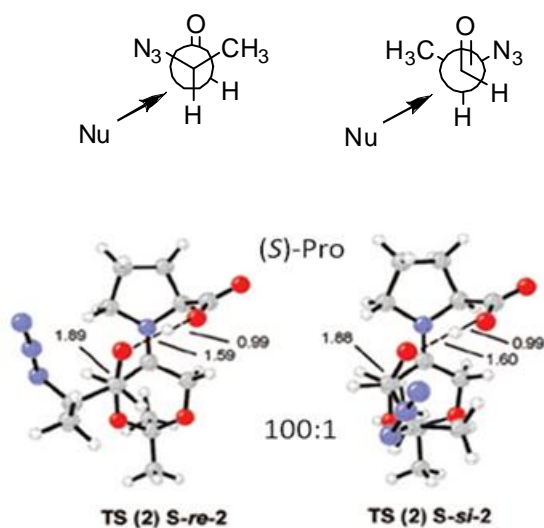
**Scheme 2**

*Anti/syn* ratio of aldol products obtained in these aldol reactions evidenced a double asymmetric induction that led to a matched/mismatched effect (scheme 3).



**Scheme 3**

Theoretical HF/6-31G(d) calculations allowed us to confirm that the origin of this selectivity is governed by steric effects, since in the preferred transition state the nucleophilic attack takes place *anti* to the largest group, the medium group inside, and the smallest outside, following the normal Felkin-Anh course (figure 1).<sup>6</sup>



**Figure 1.** Most stable transition states for an  $\alpha$ -azido model aldehyde with the (*S*)-proline-enamine of dioxanone.

Figure 2 shows some of the five-membered ring iminosugars which have been prepared by hydrogenation of the aldol products obtained from aldehyde **2**, together

<sup>6</sup> Calderón, F.; Doyagüez, E. G.; Cheong, P. H. -Y.; Fernández-Mayoralas A.; Houk, K. N. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7916-7920.



with other six-membered ring iminosugars previously synthesized in our research group.<sup>5</sup>

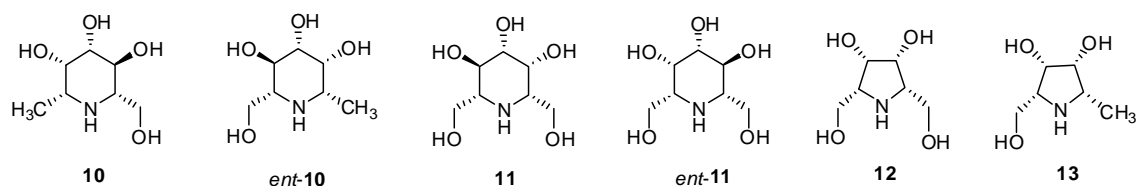


Figure 2

They were evaluated as inhibitors of different glycosidases, giving in some cases  $IC_{50}$  values in the range of nanomolar (table 1).

Compound	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)				
	Enzymes				
	$\alpha$ -L-Fucosidase (Bovine kidney)	$\alpha$ -D-Glucosidase (Baker's yeast)	$\beta$ -D-Galactosidase ( <i>E. coli</i> )	$\alpha$ -D-Galactosidase (Green coffee beans)	$\alpha$ -D-Mannosidase (Jack beans)
10	>1000	>1000	>1000	1,2	>1000
ent-10	<b>0,04</b>	396,5	>1000	110,0	>1000
11	13,8	45,0	887,0	74,0	>1000
ent-11	>1000	322,3	>1000	0,9	>1000
12	79,4	434,0	655,0	<b>0,04</b>	>1000
13	4,5	>1000	>1000	80,0	>1000

Interactions of these iminosugars with the active site of  $\alpha$ -D-galactosidase from *Coffea arabica* have also been studied by molecular docking, obtaining a good relationship between the experimental percentage of enzyme inhibition and the estimated docked energies for all compounds. Figure 3 shows that the binding position of compound 12 lies between the two catalytic residues (Asp 145 and Asp 200) of the enzyme, meanwhile the other compounds are more distanced.



**Figure 3.** Docked structure of inhibitors **10** (black), *ent*-**10** (green), **11** (brown), *ent*-**11** (pink), **12** (grey) and **13** (red) in the binding site of  $\alpha$ -D-Galactosidase from *Coffea arabica*.

### Studies on the aldol reaction catalyzed by heterogeneized proline on a mesoporous support

Heterogeneized (*S*)-proline on mesoporous support MCM-41 was able to catalyze the asymmetric aldol reaction in a wide range of solvents, proceeding more efficiently in hydrophilic polar solvents. However, both the addition of a small amount of water and the change of the spacer of the catalyst (carbamate instead of urea, figure 4) had a positive effect on the reaction performed in hydrophobic toluene. The reaction under heterogeneous conditions has also been performed on chiral aldehydes, furnishing useful intermediates for the synthesis of iminosugars.<sup>7</sup>



**Figure 4**

<sup>7</sup> Doyagüez, E. G.; Calderón, F.; Sánchez, F.; Fernández-Mayoralas A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9353-9356.

### Hydroxyproline based methacrylic polymers

New L-hydroxyproline based methacrylic polymers have been synthesized (figure 5). **A** and **B** have shown to be efficient catalysts in DMF, giving aldol products in a yield comparable to that obtained with L-proline, but with better diastereo- and enantioselectivities. On the contrary, not appreciable activity was found in water with these polymers.<sup>8</sup> However, with hydrophobic copolymers **C** and **D**, high conversions (>90%) were achieved in this environmentally friendly solvent under homogeneous and heterogeneous conditions. Moreover, the higher the ratio m:n was, the faster the reactions in water became. Also, addition of magnesium salts to the reaction media showed an enhancement in stereoselectivities.

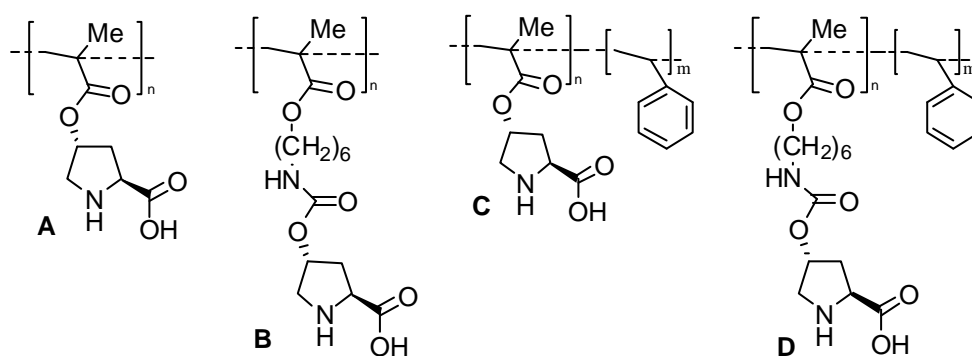


Figure 5

### Design of artificial enzymes based on modified β-cyclodextrins with proline derivatives

New catalysts based on proline and prolinamides covalently linked to a β-cyclodextrin (figure 6), have been synthesized and evaluated as catalysts for aldol reaction in water employing aromatic aldehydes which can be included in the cyclodextrin cavity.

<sup>8</sup> Doyagüez, E. G.; Parra, F.; Corrales, G.; Fernández-Mayoralas, A.; Gallardo, A. *Polymer* **2009**, *50*, 4438-4446.

Among them, **15** gave the best results, achieving high conversions. Also, inhibition experiments showed that the reaction proceeded through a cyclodextrin substrate complex.

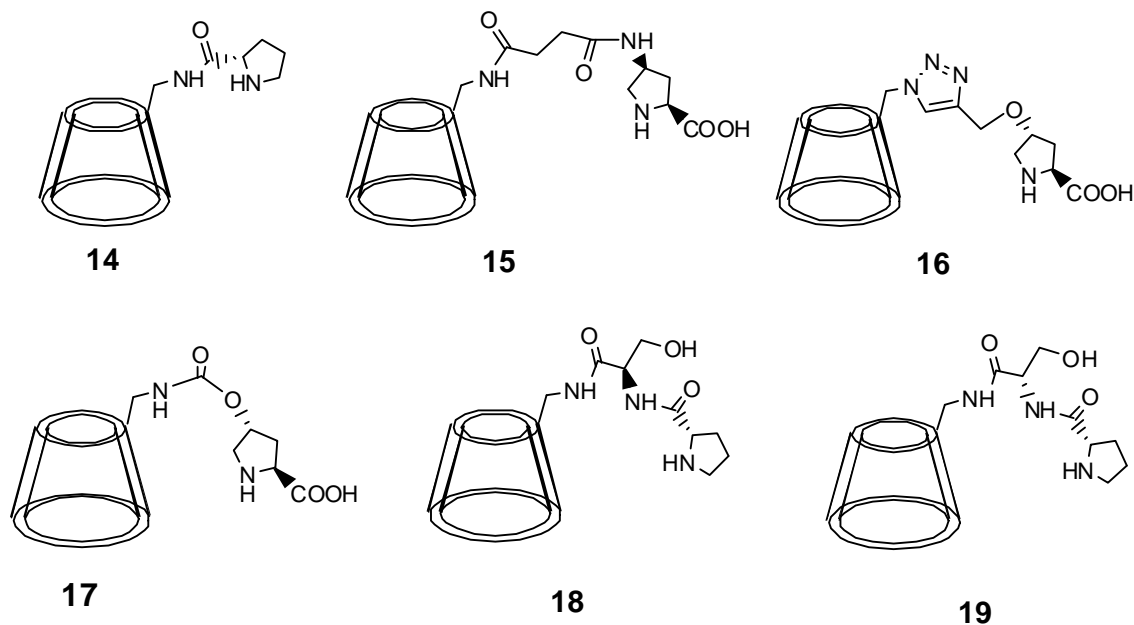


Figure 6

## GENERAL OR EXPERIMENTAL CONTRIBUTIONS

### CONCLUSIONS

- We have successfully applied a previously developed route for obtaining six-membered ring iminosugars to the synthesis of five-membered ring iminosugars, using as key step an aldol reaction catalyzed by soluble proline between an  $\alpha$ -azidoaldehyde and different ketones.
- The origins of the double asymmetric induction observed in these aldol reactions catalyzed by soluble proline have been explained by theoretical HF/6-31G(d) calculations.
- The iminosugars obtained using the present approach have been evaluated as glycosidase inhibitors, showing in some cases  $IC_{50}$  values in the range of nm. Molecular interactions of the inhibitor-enzyme complex have been studied by molecular docking, obtaining very good correlation between experimental and theoretical results.

- We have shown that heterogeneized (S)-proline on mesoporous support MCM-41 can catalyze the asymmetric aldol reaction in solvents of different polarity, enlarging the application of this fundamental variable to the study of proline-catalyzed reactions. Under these heterogeneous conditions we have obtained precursors of iminosugars from an aldol addition performed in toluene, a solvent where the use of (S)-proline is hampered by insolubility problems.
- Hydroxyproline based methacrylic polymers have been synthesized and evaluated as catalysts for aldol reaction. While homopolymers gave aldol products in comparable yields to that obtained with L-proline, but with better diastereo- and enantioselectivities in DMF, with hydrophobic copolymers high conversions (>90%) were achieved in water. An enhancement in stereoselectivities was achieved by addition of magnesium salts.
- Finally, new catalysts based on proline and prolinamides covalently linked to  $\beta$ -cyclodextrin have been synthesized and evaluated as catalysts for aldol reaction in water. In some cases high conversions have been achieved with aromatic aldehydes that can be included in the cyclodextrin cavity. Inhibition experiments showed that the reaction was proceeding through a cyclodextrin substrate complex.

## **BIBLIOGRAPHY**

5. Calderón F.; Doyagüez, E. G.; Fernández-Mayoralas, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6258-6261.
6. Calderón, F.; Doyagüez, E. G.; Cheong, P. H. -Y.; Fernández-Mayoralas A.; Houk, K. N. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7916-7920.
7. Doyagüez, E. G.; Calderón, F.; Sánchez, F.; Fernández-Mayoralas A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9353-9356.
8. Doyagüez, E. G.; Parra, F.; Corrales, G.; Fernández-Mayoralas, A.; Gallardo, A. *Polymer* **2009**, *50*, 4438-4446.



**APÉNDICE II**

**CURRICULUM VITAE**





### Datos Personales

Nombre y apellidos: Elisa García Doyagüez  
Fecha de nacimiento: 22 de Noviembre de 1982  
Nacionalidad: Española  
DNI: 47029226-E  
Domicilio: C/ Castillejos, Nº 4, P 3º 1, 28039 Madrid  
Tlfno: 91 311 20 45, 620 47 12 17  
E-mail: [egd@iqog.csic.es](mailto:egd@iqog.csic.es) / [elisagdoyaguez@hotmail.com](mailto:elisagdoyaguez@hotmail.com)

### Formación Académica

- 2000-2004** Licenciatura en Química por la Universidad Autónoma de Madrid. Expediente académico: 2.28.
- 2004-2005** Primer período del Tercer Ciclo en el que se cursan 20 créditos teóricos, del Programa de Doctorado La Química como Ciencia Multidisciplinar, con Mención de Calidad, por la Universidad Autónoma de Madrid. Nota media: 2,75
- Química Supramolecular y Materiales Moleculares Orgánicos: Notable
  - Técnicas Cromatográficas y Espectroscópicas Avanzadas al Servicio de la Química Orgánica: Sobresaliente
  - Metodología y Estrategias en Síntesis Orgánica Avanzada: Sobresaliente
  - Estereoquímica y Química Orgánica Física: Sobresaliente
- 2005-2006** Segundo período del Tercer Ciclo en el que se desarrollan los 12 créditos prácticos (Trabajo de Investigación en Química Orgánica) del Programa de Doctorado La Química como Ciencia Multidisciplinar, con Mención de Calidad, por la Universidad Autónoma de Madrid. Nota Media: Sobresaliente:10
- Marzo-2007** Obtención del Diploma de Estudios Avanzados que otorga la Suficiencia Investigadora por la Universidad Autónoma de Madrid, por el Trabajo de Investigación titulado "Síntesis de aza-azúcares mediante una reacción aldólica catalizada por prolina y estudio de su actividad como inhibidores de glicosidasas", bajo la dirección del Dr. Alfonso Fernández-Mayoralas Álvarez
- 2007-2009** Continuación del Trabajo de Investigación para la realización de la Tesis Doctoral, bajo la dirección del Dr. Alfonso Fernández-Mayoralas Álvarez. Fecha prevista para lectura de Tesis: Enero de 2010.

### Participación en Proyectos de Investigación

- Título del proyecto: Prevención y tratamiento de la enfermedad de Alzheimer: Diseño, síntesis y evaluación de nuevas moléculas de interés terapéutico con mecanismo de acción dual .  
Entidad financiadora: Dirección General de Investigación, MCyT. (SAF2003-02262)  
Entidades participantes: Instituto de Química Médica (CSIC)  
Duración, desde: 1-9-04 hasta: 25-5-05  
Investigador responsable: Dr. M. Isabel Rodríguez-Franco.
- Título del proyecto: Obtención de nuevos biocatalizadores y desarrollo de rutas de síntesis quimioenzimáticas en fase líquida de carbohidratos con potencial utilidad terapéutica.  
Entidad financiadora: Dirección General de Investigación, MCyT. (CTQU2004-03523/BQU)  
Entidades participantes: CSIC  
Duración, desde: 26-5-05 hasta: Actualidad  
Investigador responsable: Dr. Alfonso Fernández-Mayoralas.

### Becas y Contratos disfrutados

- Septiembre 2004-Febrero 2005** Beca Predoctoral en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Instituto de Química Médica) con cargo al Proyecto de Investigación con NeuroPharma titulado "Desarrollo de ensayos *in silico* /experimental que permitan estimar la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica de compuestos con interés biológico".  
Investigador Principal: Ana Castro Morera.
- Enero 2006-Diciembre 2007** Beca CSIC Predoctoral para el Desarrollo de Tesis Doctoral en Líneas de Investigación con interés para el Sector Industrial , REF.:I3P-BPD2005, publicada en el B.O.E. de 19/08/05, sobre el tema: "Estudios sobre una nueva estrategia de síntesis de aza-azúcares inhibidores del metabolismo de carbohidratos" en el Instituto de Química Orgánica General del CSIC, bajo la dirección del Dr. Alfonso Fernández-Mayoralas Álvarez.
- Enero 2008-Diciembre 2009** Contrato laboral en prácticas como Titulado Superior de Actividades Técnicas y Profesionales a tiempo completo en el Instituto de Química Orgánica General del CSIC, para la realización de la Tesis Doctoral, bajo la dirección del Dr. Alfonso Fernández-Mayoralas Álvarez.
- Abril 2008-Julio 2008** Beca CSIC Predoctoral para la realización de una Estancia Predoctoral en el Kemisk Institut de Copenhague en Líneas de Investigación para la obtención de enzimas artificiales basados en ciclodextrinas, bajo la dirección del Profesor Mikael Bols..

### Asistencia a Eventos de Difusión Científica

**Denominación del evento:** Segunda Reunión Ibérica de Ciencias Combinatorias  
**Lugar de celebración y año:** Alcalá de Henares (Madrid), 25-26 de Febrero de 2005  
**Entidad/ Grupo organizador:** Real Sociedad Española de Química Terapéutica

**Denominación del evento:** Nuevas Fronteras en Síntesis Orgánica  
**Lugar de celebración y año:** El Escorial (Madrid) 16 de abril de 2005  
**Entidad/ Grupo organizador:** Fundación Lilly

### Participación en Congresos

**Autores:** E. G. Doyagüez, F. Calderón, F. Sánchez, A. Fernández-Mayoralas\*  
**Título:** Solvent effect in the aldol addition catalyzed by L-proline immobilized on a mesoporous support  
**Denominación del evento:** VIII Jornadas de Carbohidratos  
**Lugar de celebración y año:** Alcalá de Henares (Madrid), 13-15 de Septiembre de 2006  
**Entidad/ Grupo organizador:** Real Sociedad Española de Química (Grupo de Carbohidratos)  
**Tipo de Participación:** Póster

**Autores:** F. Calderón, E. G. Doyagüez, A. G. Santana, A. Fernández-Mayoralas\*  
**Título:** Synthesis of azasugars through a proline-catalyzed reaction  
**Denominación del evento:** VIII Jornadas de Carbohidratos  
**Lugar de celebración y año:** Alcalá de Henares (Madrid), 13-15 de Septiembre de 2006  
**Entidad/ Grupo organizador:** Real Sociedad Española de Química (Grupo de Carbohidratos)  
**Tipo de Participación:** Póster

**Autores:** E. G. Doyagüez, F. Calderón, F. Sánchez, A. Fernández-Mayoralas\*  
**Título:** Adición aldólica asimétrica catalizada por prolina unida covalentemente a un soporte mesoporoso: estudios sobre el efecto del disolvente.  
**Denominación del evento:** XXI Reunión Bienal del Grupo de Química Orgánica de la RSEQ  
**Lugar de celebración y año:** Valladolid, 18-20 de Septiembre de 2006  
**Entidad/ Grupo organizador:** Real Sociedad Española de Química (Grupo de Química Orgánica).  
**Tipo de Participación:** Comunicación Oral

**Autores:** E. G. Doyagüez, F. Calderón, A. G. Santana, K. N. Houk, F. Sánchez, A. Fernández-Mayoralas\*  
**Título:** Síntesis de aza-azúcares a través de la reacción aldólica catalizada por prolina  
**Denominación del evento:** X Semana Científica Antonio González  
**Lugar de celebración y año:** La Laguna, Tenerife, 2-6 de Octubre de 2006  
**Entidad/ Grupo organizador:** Departamento de Química Orgánica Universidad de La Laguna  
**Tipo de Participación:** Póster

**Autores:** A. Bastida, E. G. Doyagüez, F. Calderón, E. García-Junceda, A. Fernández-Mayoralas\*

**Título:** Combining experimental and computational studies of azasugars as inhibitors of glycosidases

**Denominación del evento:** 8th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations

**Lugar de celebración y año:** Oviedo , 8-13 de Julio de 2007

**Entidad/ Grupo organizador:** Departamento de Química Orgánica Universidad de Oviedo.

**Tipo de Participación:** Póster

**Autores:** A. Gallardo, E. G. Doyagüez, R. Meizoso, F. Parra, G. Corrales, A. Fernández-Mayoralas.

**Título:** New Hydroxyproline Based Polymethacrylates: Biorrelated Polyzwitterions of Catalytic Interest

**Denominación del evento:** XI Reunión del Grupo Especializado de Polímeros

**Lugar de celebración y año:** Valladolid , 20-24 de Septiembre de 2009

**Entidad/ Grupo organizador:** Universidad de Valladolid.

**Tipo de Participación:** Presentación oral

### Publicaciones

**Autores:** Doyagüez, E. G.

**Título:** Boron Tribromide

**Revista:** *Synlett*, **2005**, 10, 1636-1637.

**Autores:** Calderón, F., Doyagüez, E.G.; Fernández-Mayoralas, A.\*

**Título:** Synthesis of azasugars through a proline-catalyzed reaction

**Revista:** *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 6258-6261.

**Autores:** Doyagüez, E. G.; Calderón, F.; Sánchez, F.; Fernández-Mayoralas, A.\*

**Título:** Asymmetric Aldol Reaction Catalyzed by an Heterogenized Proline on Mesoporous Support. The Role of the Nature of Solvents

**Revista:** *J. Org. Chem*, **2007**, 72, 9353-9356.

**Autores:** Calderón, F.; Doyagüez, E. G.; Cheong, P. H. -Y.; Fernández-Mayoralas, A.\*; Houk, K. N.\*

**Título:** Origins of the Double Asymmetric Induction on Proline-Catalyzed Aldol Reactions

**Revista:** *J. Org. Chem*, **2008**, 73, 7916-7920.

**Autores:** Iturrate, L.; Sánchez-Moreno, I.; Doyagüez, E. G.; García-Junceda, E.\*  
**Título:** Substrate channelling in an engineered bifunctional aldolase/kinase enzyme confers catalytic advantage for C-C bond formation  
**Revista:** *Chem. Commun.*, **2009**, 13, 1721-1723.

**Autores:** Doyagüez, E. G.; Parra, F.; Corrales, G.; Fernández-Mayoralas, A.\*; Gallardo, A.\*  
**Título:** New hydroxyproline based methacrylic polybetaines: synthesis, pH sensitivity and catalytic activity  
**Revista:** *Polymer*, **2009**, 50, 4438-4446.

**Autores:** Sánchez-Moreno, I.; Iturrate, L.; Doyagüez, E. G.; Martínez, J. A.; Fernández-Mayoralas, A.; García-Junceda, E.\*  
**Título:** Activated  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Aldehydes as Substrate of Dihydroxyacetone Phosphate (DHAP)-Dependent Aldolases in the context of a Multi-Enzyme System  
**Revista:** *Adv. Synth. Catal.*, **2009**, en prensa.

**Autores:** Doyagüez, E. G.; Petrillo, M.; Fernández-Mayoralas, A.; Marinescu, L.\*; Bols, M.  
**Título:** Amino-acetone-bridged cyclodextrins - artificial alcohol oxidases  
**Revista:** *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, enviado.

### Patentes y Modelos de Utilidad

**Autores:** (p.o. de firma): Fernández-Mayoralas, A.; Gallardo, A.; Doyagüez, E. G.; Corrales, G., Parra, F.  
**Título:** Polímeros de hidroxiprolina, procedimiento de obtención y su uso como catalizadores.  
**Nº de REGISTRO:** P200930174 **Año:** 2009  
**Entidad Titular:** CSIC  
**Países:** España

### Idiomas

**Inglés:** Certificate in Advanced English (CAE) por la Universidad de Cambridge.  
(Marzo de 2005).

### **Otros Méritos**

#### **Técnicas de laboratorio:**

- Técnicas habituales de Síntesis Orgánica.
- Alto conocimiento de técnicas analíticas: HPLC, GC y de caracterización de compuestos: RMN en disolución ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , 2D) , espectrometría de masas, FT-IR, UV-visible.
- Conocimientos de técnicas computacionales de docking molecular.
- Experiencia en ensayos enzimáticos de inhibición.
- Experiencia en ensayos de cinéticas enzimáticas.
- Experiencia en síntesis y evaluación de moléculas orgánicas como catalizadores, tanto en fase homogénea como heterogénea.
- Experiencia en síntesis y caracterización de materiales poliméricos.
- Experiencia en síntesis y caracterización de derivados de ciclodextrinas.

