



**Trabajo de Fin de Máster**

**Síntesis de éteres cíclicos fusionados en la búsqueda  
de haptenos híbridos como promotores de  
anticuerpos de la ciguatera**

Synthesis of fused cyclic ethers in the search for hybrids hapten  
as promoters of ciguatera antibodies

Gladys Arteaga Clemente

Máster en Química

Instituto de Productos Naturales y Agrobiología-CSIC

Curso 2018/2019

Tutores:

Dr. Juan Ignacio Padrón Peña

Dr. Pedro Oswaldo Miranda Chinaea

## **Resumen**

En este trabajo, se ha realizado la síntesis de éteres cíclicos fusionados basada en la ciclación de Prins, utilizando sales de hierro(III) como catalizador, con el fin de encontrar haptenos, lo suficientemente activos para provocar una respuesta inmune frente a la ciguatoxina y permitir el desarrollo de anticuerpos contra la intoxicación por la ciguatera (CFP).

## **Summary**

In this work, the synthesis of fused cyclic ethers based on the Prins cyclization, using iron (III) salts as catalyst, has been performed in order to find haptens, active enough to cause an immune response against ciguatoxin and allow the development of antibodies against ciguatera fish poisoning (CFP).

## ÍNDICE

1. Introducción.....	1
1.1. La ciguatera .....	1
1.2. Hapteno híbrido.....	5
2. Objetivos .....	10
3. Resultados y discusión .....	11
3.1 Obtención de alcoholes homoalílicos como precursores de los bicíclidos.....	11
3.2 Ciclación de Prins para la síntesis de éteres cíclicos de seis y siete miembros fusionados.....	17
4. Parte experimental .....	22
4.1. Técnicas instrumentales.....	22
4.2. Técnicas cromatográficas .....	22
4.3 Disolventes y Reactivos .....	23
4.4 Procedimientos experimentales.....	24
<i>Procedimiento de la Ruta A</i> .....	26
<i>Procedimiento de la Ruta B</i> .....	30
<i>Procedimiento de la Ruta C</i> .....	30
<i>Procedimiento para la obtención de éteres cíclicos de seis y siete miembros fusionados mediante la ciclación de Prins.</i> .....	32
5. Trabajo futuro .....	33
6. Conclusiones .....	34
Apéndice de espectros .....	35

## Glosario

<b>CFP</b>	Intoxicación por ciguatera
<b>CTX</b>	Ciguatoxina
<b>SEM</b>	Microscopio electrónico de barrido
<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo
<b><i>n</i>-Hex</b>	Hexano
<b>DCM</b>	Diclorometano
<b>DMF</b>	<i>N, N</i> -dimetilformamida
<b>ACN</b>	Acetonitrilo
<b>δ</b>	Desplazamiento químico
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina
<b>CC:</b>	Cromatografía en columna
<b>Et<sub>3</sub>N:</b>	Trietilamina
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>MsCl</b>	Cloruro de mesilo
<b>t.a</b>	Temperatura ambiente
<b>THF</b>	Tetrahidrofurano
<b>TBSCl</b>	Cloruro de <i>terc</i> -butildimetilsilano
<b>Boc<sub>2</sub>O</b>	Di- <i>ter</i> -butil dicarbonato
<b>TEMPO</b>	(2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il) oxilo
<b>EDC</b>	1-etil-3-(3-dimetil) carbodiimida
<b>Bn</b>	Bencil
<b>Boc</b>	Terc-butoxicarbonil
<b>Bz</b>	Benzoílo

## 1. Introducción

### 1.1. La ciguatera

La ciguatera es una intoxicación alimentaria la cual se produce por el consumo de peces que se alimentan de un grupo de toxinas marinas. La importancia de estas toxinas reside en que se acumulan a través de las redes tróficas en los peces marinos, los cuales no suelen presentar daños debido a esta acumulación, pero al ser consumidos por el ser humano, las moléculas sí presentan toxicidad ya que una vez ingeridas por el pez sufren un proceso metabólico, en el cual se oxidan y dan lugar a mayor toxicidad que su precursora. Dicha toxicidad se manifiesta en síntomas de tipo digestivo o neurotóxico, pudiendo llegar a producir la muerte del consumidor.

Las toxinas son producidas por microorganismos denominados dinoflagelados, concretamente de la especie *Gambierdiscus* (*G. australes*, *G. caribaeus*, *G. carolinianus*, *G. excentricus* y *G. Silvae*, encontrados en las Islas Canarias, Figura 1).<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Rodríguez.F, Fraga.S, Ramilo.I, Rial.P, Figueroa. RI, Riobó. P, Bravo.I. *Harmful Algae*, **2017**, 67, 131–143.

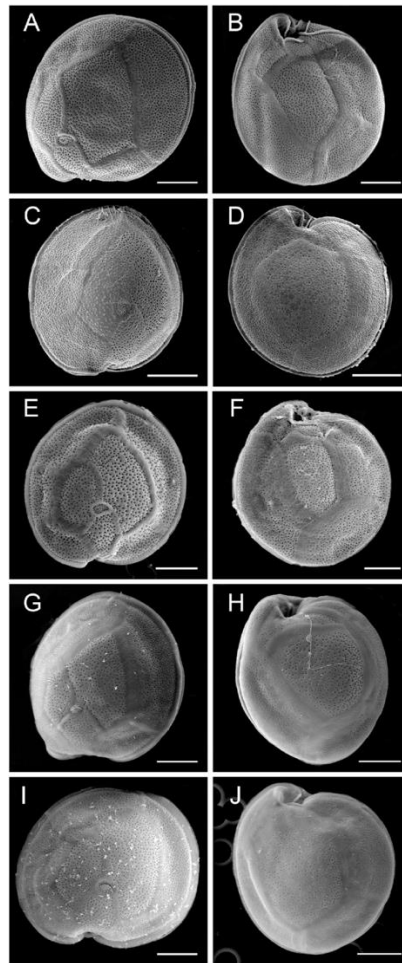


Figura 1. Imágenes SEM de especies de *Gambierdiscus* (*G. australes*, *G. caribaeus*, *G. carolinianus*, *G. excentricus* y *G. silvae*) encontradas en las Islas Canarias<sup>1</sup>.

La intoxicación por ciguatera (Ciguatera Fish Poisoning, CFP) es endémica de las regiones tropicales del Océano Pacífico (Indonesia, Sudeste de Asia, Australia), Océano Índico (Madagascar) y el Mar Caribe. Así, se definen P-CTXs (Pacífico), I-CTXs (Índico) y C-CTXs (Caribe).<sup>2,3,4</sup> No obstante, en las Islas Canarias, se han dado distintos brotes de CFP, por ello, se encuentra en vigencia un protocolo del Gobierno de Canarias en el que se prohíbe ciertas capturas en las Islas Canarias (dependiendo de la especie y el peso).

Se estima que más de 60000 personas en todo el mundo sufren de CFP anualmente, lo que supone uno de los tipos más comunes de intoxicación alimentaria no bacteriana. Debido a que los peces de arrecife se exportan a otras áreas, la CFP se ha convertido en un problema de

<sup>2</sup> Chinain, M., Darius, H.T., Ung, A., Fouc, M.T., Revel, T., Cruchet, P., Pauillac, S., Laurent, D. *Toxicon*, **2010**, 674-690.

<sup>3</sup> Litaker, R.W., Vandersea, M.W., Faust, M.A., Kibler, S.R., Chinain, M., Holmes, M.J., Holland, W.C., Tester, P.A. *Phycologia*, **2009**, *48*, 344-390.

<sup>4</sup> Tester, P.A., Vandersea, M.W., Buckel, C.A., Kibler, S.R., Holland, W.C., Davenport, E.D., Clark, R.D., Edwards, K.F., Taylor, J.C., Pluym, J.L.V., Hickerson, E.L., Litaker, R.W. *Harmful Algae*, **2013**, *29*, 1-9.

salud mundial. Además, a las dificultades que supone el control de las CTXs hay que sumar las dificultades respecto a su detección e identificación, los peces contaminados por las toxinas, no presentan olor y ni sabor característico, por ello la necesidad de un método sensible y confiable para detectar peces con CTXs.<sup>5,6,7</sup>

Los síntomas de la CFP son fuertes dolores de cabeza, diarrea, náuseas, picazón, insuficiencia cardíaca e inversión térmica, siendo este último un síntoma característico de dicha intoxicación. Además, estos síntomas pueden durar meses o incluso años, e incluso si los síntomas han cesado, pueden volver a aparecer al consumir ciertos alimentos, alcohol o al realizar ejercicio físico. Actualmente, no existe tratamiento eficaz para la CFP, y aunque la mortalidad es baja, debido al calentamiento global, se está incrementando la temperatura en el océano y, por lo tanto, favorece que la CFP se extienda a distintos lugares. El manitol intravenoso es el principal del tratamiento para la CFP y la única terapia evaluada mediante ensayos clínicos aleatorizados y cegados.<sup>8</sup> Sin embargo, el tratamiento con manitol incluye la pérdida de líquidos y electrolitos adicionales en pacientes que sufren diarrea aguda y vómitos; y los pacientes que experimentan bradicardia e hipotensión pueden tener un mayor riesgo de insuficiencia cardíaca si se les infunden altas dosis de manitol.

Existen al menos cinco toxinas responsables de la CFP, sus nombres son Ciguatoxina (CTX), Maitotoxina (MTX), Escaritoxina (STX), Palitoxina (PTX) y Ácido Okadaic (OA). Sin embargo, una de las que más se relaciona directamente con la CFP y se encuentra a mayor concentración es la Ciguatoxina (CTX).

El proceso por el cual el pescado es contaminado con CTXs es complejo y de difícil control. Las toxinas llegan a los peces herbívoros a partir del consumo de las microalgas que viven en los arrecifes y a través de éstos, a los peces carnívoros. Los peces metabolizan estas toxinas que, por oxidación se convierten en CTXs aumentando la toxicidad respecto a su precursor y acumulándose en las vísceras y carne (a mayor depredación y mayor tamaño, más cantidad de CTXs acumulan). Esta norma se sigue utilizando como referencia para aplicar los controles alimentarios en ciertas zonas, como en las Islas Canarias. Cabe destacar que no todos los peces metabolizan la toxina de la misma manera, existen más de 400 especies de peces que podrían ser vectores de CTXs y con certeza se conocen la *Sphyræna spp.* (barracudas),

---

<sup>5</sup> Rutkowski, J.; Brzezinski, B. *Biomed Res. Int.*, **2013**, 1-31.

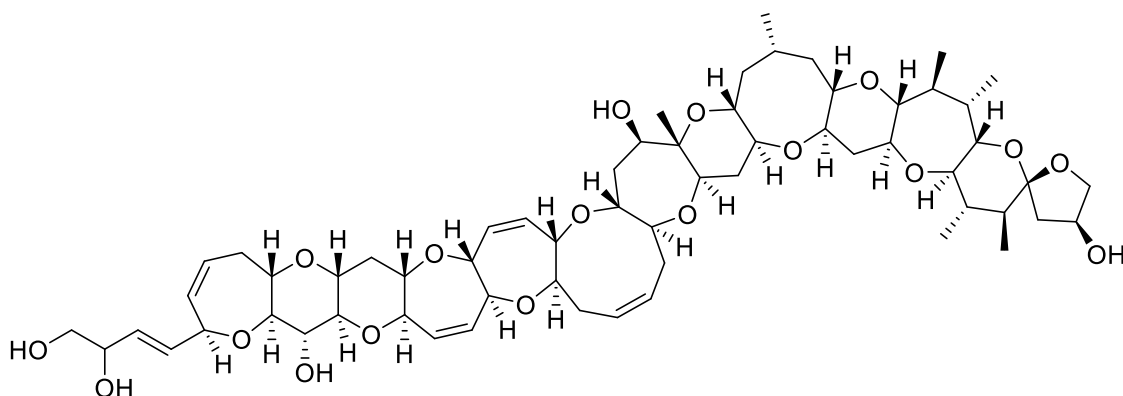
<sup>6</sup> Wang, B.G.; Gloer, J.B.; Ji, N.Y.; Zhao, J.C. *Chem. Rev.*, **2013**, *113*, 3632-3685.

<sup>7</sup> Kadota, I.; Yamamoto, Y. *Acc. Chem. Res.*, **2005**, *38*, 423-432.

<sup>8</sup> Stewart, M. *Trop Doct.*, **1991**, *21*, 54-55.

*Epinephelus spp.* (serranos), *Caranx spp.* (seriolas), *Lutjanus spp.* (pargos), *Gymnothorax spp.* (morenas), *Mugil spp.* (múgeles), *Ctenochaetus spp.* (peces cirujano) y *Scarus spp.* (peces loro).<sup>9</sup>

Las moléculas de las CTXs son complejas, químicamente son poliéteres policíclicos estables de 13 o 14 anillos fusionados, los cuales generan una estructura rígida, con propiedades lipofílicas (Figura 2).<sup>10</sup>



**Figura 2.** Estructura de la CTX.

Además del tradicional ensayo biológico en ratones con extractos lipídicos de peces potencialmente contaminados, se han desarrollado varios métodos para detectar CTXs, incluidos ensayos basados en la unión de radioligandos de citotoxicidad, HPLC, MS y LC/MS/MS. Sin embargo, no existen métodos rápidos y confiables para detectar CTX en las pesquerías.<sup>11,12</sup> Por lo tanto, el desarrollo de un método confiable para controlar de alguna manera estos episodios a tiempo, constituirá un avance importante en el área.

Respecto a los acontecimientos y de cara al futuro, es de gran interés el desarrollo de un método que evite una intoxicación por ciguatera (CFP) masiva, por ello, se persigue aquel que permita inmunizar a la población contra este tipo de toxinas marinas. Esto ha hecho que las autoridades responsables de la salud pública de los países en los que este problema es persistente introduzcan normativas y sistemas de control para la detección de las toxinas y peces contaminados. La detección e identificación de estos compuestos ha supuesto un gran desafío para la ciencia y los organismos oficiales encargados del control y vigilancia de toxinas en

<sup>9</sup> Lehane, L.; Lewis, R.J. *Int. J. Phycologia.*, **2000**, *61*, 91–125.

<sup>10</sup> Lewis, R.J. The changing face of ciguatera. *Toxicon*, **39**, 2001, *39*, 3997-106

<sup>11</sup> Hokama, Y. *Food Addit Contam.*, **1993**, *10*, 71-82.

<sup>12</sup> Hokama, Y.; Asahina, A.; Shang, E.; Hong, T.; Shirai, J. *J. Clin. Lab. Anal.*, **1993**, *7*, 26-30.



productos de la pesca. Por lo tanto, la inmunización de la población contra la CFP sigue siendo el enfoque más atractivo para combatir esta enfermedad.

## **1.2. Hapteno híbrido**

Dado que las moléculas pequeñas no pueden provocar por sí mismas una respuesta inmune del organismo, deben presentarse de manera diferente, es decir, a través de una vacuna conjugada. Una vacuna conjugada une químicamente un homólogo de la molécula objetivo (modificada químicamente) a una proteína inmunogénica como el toxoide tetánico (TT) o la hemocianina de lapa californiana (KLH). El homólogo de la molécula objetivo se denomina hapteno y a las proteínas inmunogénicas, proteínas transportadoras.

En este trabajo se propone el desarrollo de precursores para la síntesis de una vacuna conjugada, es decir, la unión de unidades de éteres bicíclicos adecuadamente enlazados y transportadores de proteínas que permitan simular la estructura original de la toxina natural y así crear una respuesta inmune contra la CFP. El grupo de investigación tiene como objetivo desarrollar diferentes estrategias para la síntesis de éteres policíclicos y debido a las características de la ciguatoxina, se ha centrado en desarrollar una amplia metodología basada en la ciclación de Prins para lograr la modelización de la ciguatoxina.

La ciclación de Prins permite obtener éteres cíclicos de diversos tamaños, en ella se forman simultáneamente un enlace C-C y uno C-O, con lo cual se puede sintetizar oxa-ciclos desde cinco, seis y siete miembros.

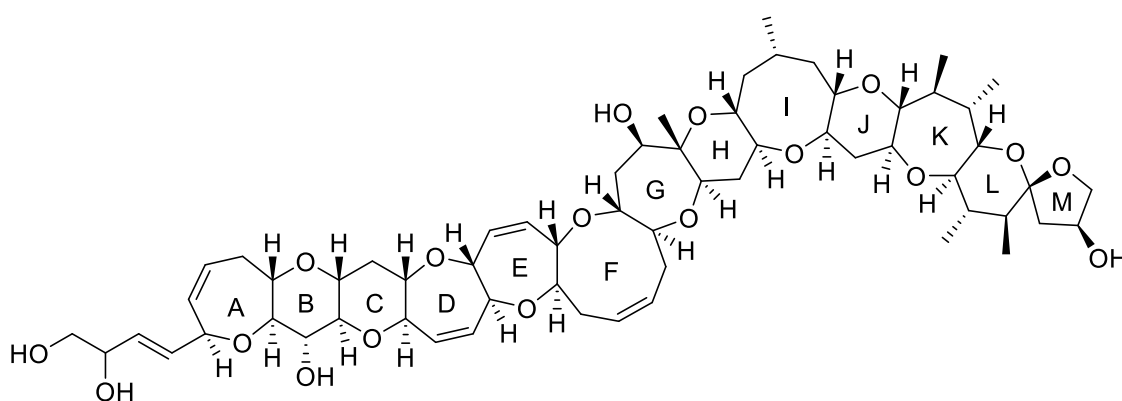
En la actualidad, como se ha mencionado anteriormente, no existe ninguna prueba que permita detectar la toxina específica en muestras de pacientes y tampoco existe un tratamiento específico y eficaz para la intoxicación. Por ello, se recurre a la búsqueda de dichos haptenos híbridos cuya síntesis se basa en el previo estudio tanto del área superficial como de la conformación específica de la ciguatoxina.

El campo de investigación de toxinas marinas tiene una larga tradición en Japón ya que está ubicado en un área donde periódicamente sufre floraciones de dinoflagelados, por ello, el interés por el aislamiento y la caracterización de las toxinas marinas surge en grupos de investigación de origen japonés. En el siglo XX, junto con el desarrollo de la química orgánica se produce el auge de la síntesis de las toxinas marinas. No obstante, el alto grado de complejidad, así como las técnicas sintéticas, fueron las responsables de que estas síntesis llevaran mucho más tiempo de lo esperado y duraran varias décadas. Cabe destacar, la introducción de técnicas de inmunoterapia que también cobraron importancia, lo que provoca

que los investigadores traten de desarrollar técnicas de inmunización contra estas intoxicaciones graves.

En la actualidad, se conoce solo un grupo de investigación involucrado en la generación de vacunas contra la CFP, el del profesor Hirama. Una vez consigue sintetizar la ciguatoxina, se centra en unirla a una proteína transportadora cuyo fin es desarrollar vacunas conjugadas contra la CFP. La inyección directa de la ciguatoxina no es viable puesto que se ha comprobado que el organismo se intoxica, sin llegar a detectarla y responder en su contra. En consecuencia, se realizan modificaciones químicas en la estructura de la molécula de ciguatoxina dividiendo la molécula en diferentes fragmentos y así modular la actividad. Los resultados obtenidos por el grupo de Hirama han sido muy útiles a la hora de estudiar la síntesis de haptenos de ciguatera. En el estudio que duró 15 años, descubrieron que ciertos fragmentos de la molécula eran más propensos a inducir una respuesta inmune que otros, por lo tanto, se han centrado en desarrollar haptenos a partir de estas partes de la molécula.<sup>9</sup> La síntesis de la macromolécula es laboriosa y lenta, además, no se obtienen buenos resultados ya que, como se ha comentado anteriormente, el organismo se intoxica y no es posible aislar anticuerpos.

Se han desarrollado varios haptenos basados en la división de la molécula de ciguatoxina en dos partes y se han obtenido resultados interesantes en aquellos que siguen la estructura desde el anillo A hasta el anillo E (Figuras 3 y 4)<sup>13</sup>.

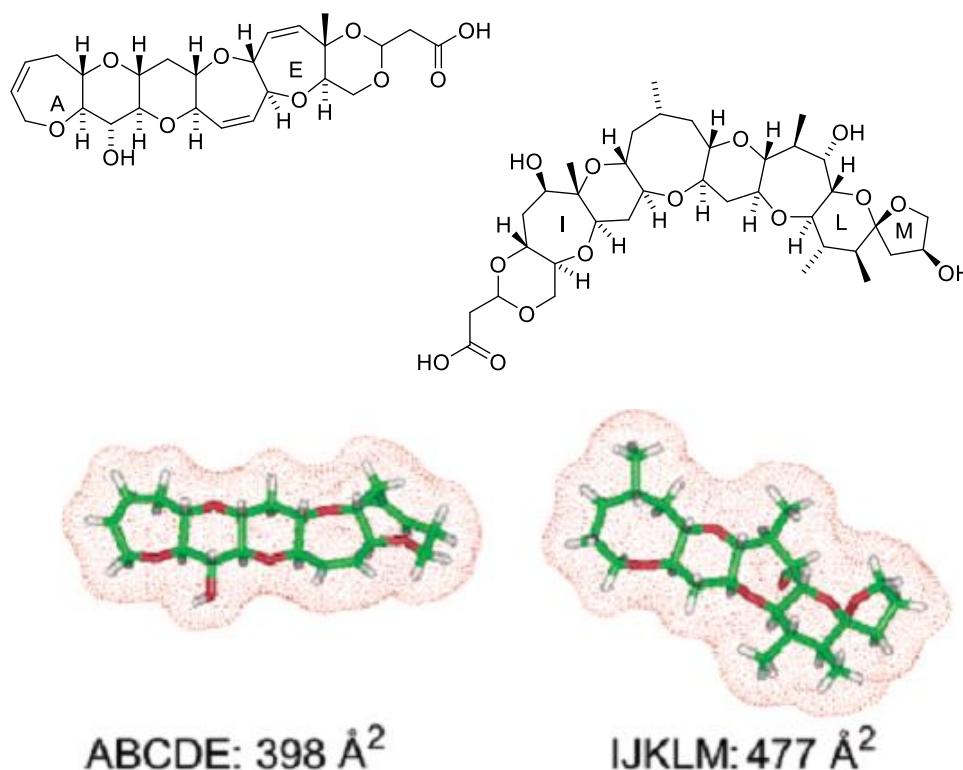


**Figura 3.** Estructura de la CTX mostrando los anillos A-M.

Los estudios conformacionales de la molécula de ciguatoxina muestran que los anillos A-E dan planaridad a la molécula, mientras que los anillos de F-L aumentan la flexibilidad al aumentar los grados de libertad de la molécula. Tras los estudios de estos fragmentos, se

<sup>13</sup>Hirama, M.; Oishi, T.; Uehara, H.; Inoue, M.; Maruyama, M.; Oguri, H.; Satake, M. *Science*, **2001**, 294, 1904-1907.

concluye que, para provocar una respuesta inmune, el fragmento correspondiente a los anillos A-E es el ideal ya que cuenta con un área superficial de  $400 \text{ \AA}^2$  con una conformación básicamente plana.



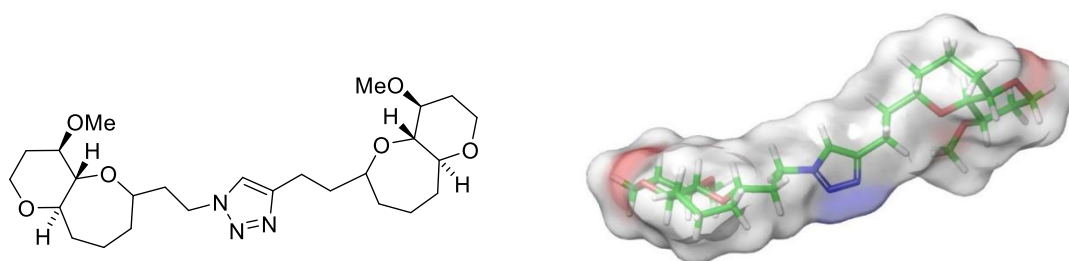
**Figura 4.** Estructura de los haptenos sintéticos de Hirama y col y sus superficies.

Para que el hapteno sea capaz de producir una respuesta inmune eficiente en el organismo, se debe realizar una elección óptima tanto de la estructura de esta, es decir, tener en cuenta las modificaciones de la molécula a la hora de desarrollar el hapteno y de la proteína transportadora. En cuanto a la estructura molecular del hapteno, debe tener un cierto grado de complejidad o rigidez, como, por ejemplo, contener anillo de benceno, grupo heterocíclico, estructura de ramificación, etc. Cabe destacar que, en algunos estudios, se ha demostrado que la presencia de anillos de benceno en el hapteno permite la producción exitosa de anticuerpos. El hapteno podría estar directamente acoplado a la proteína para la preparación del antígeno artificial si contiene grupos activos ( $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}$ ,  $-\text{OH}$ ). En este trabajo se sintetiza el hapteno con un grupo hidroxilo, en el cual se plantean diferentes rutas con el fin de buscar un buen grupo protector que cumpla su función y pueda eliminarse a la hora de anclar la proteína de interés.

Siguiendo la estrategia, se pueden sintetizar biciclos que contengan la parte del esqueleto de la CTX desde el anillo A-E, lo que permite generar una cantidad de compuestos

con la estructura privilegiada y obtener así los precursores del hapteno. El interés por estas estructuras se debe a que están presentes en productos naturales,<sup>14,15,16,17</sup> con mayor frecuencia en productos de origen marino, y además, se investiga sus posibles usos en farmacología.<sup>18</sup> Asimismo, las unidades bicíclicas han mostrado propiedades interesantes en el enfoque de enfermedades neurodegenerativas (estudios biológicos realizados por la industria farmacéutica Eli Lilly & Company).

Avanzando hacia nuestra prueba de concepto, como ejemplo, se ha elegido un hapteno híbrido que podemos sintetizar siguiendo la estrategia descrita anteriormente con una superficie de 400 Å<sup>2</sup> aproximadamente. Está formada por dos unidades bicíclicas fusionadas de seis y siete miembros de oxaciclos cada una, unidas a través de un triazol y sin incluir la proteína transportadora ya que estas unidades no están involucradas en la interacción hapteno-anticuerpo. Los cálculos teóricos dan una superficie de 478 Å<sup>2</sup>, que se ajusta a las teorías propuestas por Hirama (Figura 5).<sup>13</sup>



**Figura 5.** Hapteno híbrido con una superficie de 478 Å<sup>2</sup>.

En conclusión, el requisito básico del diseño del hapteno es mantener la superficie de los fragmentos de ciguatoxina y permitir que esté expuesto en la superficie del portador tanto como sea posible, de modo que después de inmunizar al animal con antígeno artificial, el hapteno pueda ser reconocido al máximo por las células inmunes del animal previamente inmunizado, y al estimularlo para que produzca una respuesta inmunitaria específica y genere anticuerpos de alta afinidad y alta especificidad contra el hapteno.

<sup>14</sup> Henne, P., Thiericke, R., Grabley, S., Hurter, K., Wink, J., Jurkiewicz, E., Zeeck, A. *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 565-571.

<sup>15</sup> Macias, F. A., Molinillo, J. M. G., Varela, R. M., Tortes, A., Fronczek, F. R. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 8261-8266.

<sup>16</sup> Aida, M., Shinomiya, K., Matsuzawa, Y., Hano, Y., Nomura, T. *Heterocycles* **1994**, 39, 847-858.

<sup>17</sup> Cimino, G. Madaio, A. Trivellone, E. Uriz, M. J. *Nat. Prod.* **1994**, 57, 784-790.13

<sup>18</sup> Crawley, G. C.; Dowell, R. I.; Edwards, P. N.; Foster, S. J.; McMillan, R. M.; Walker, E. R. H. Waterson, D.; Bird, T. G. C.; Bruneau, P., Girodeau, J. M. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 2600-2609.



## 2. Objetivos

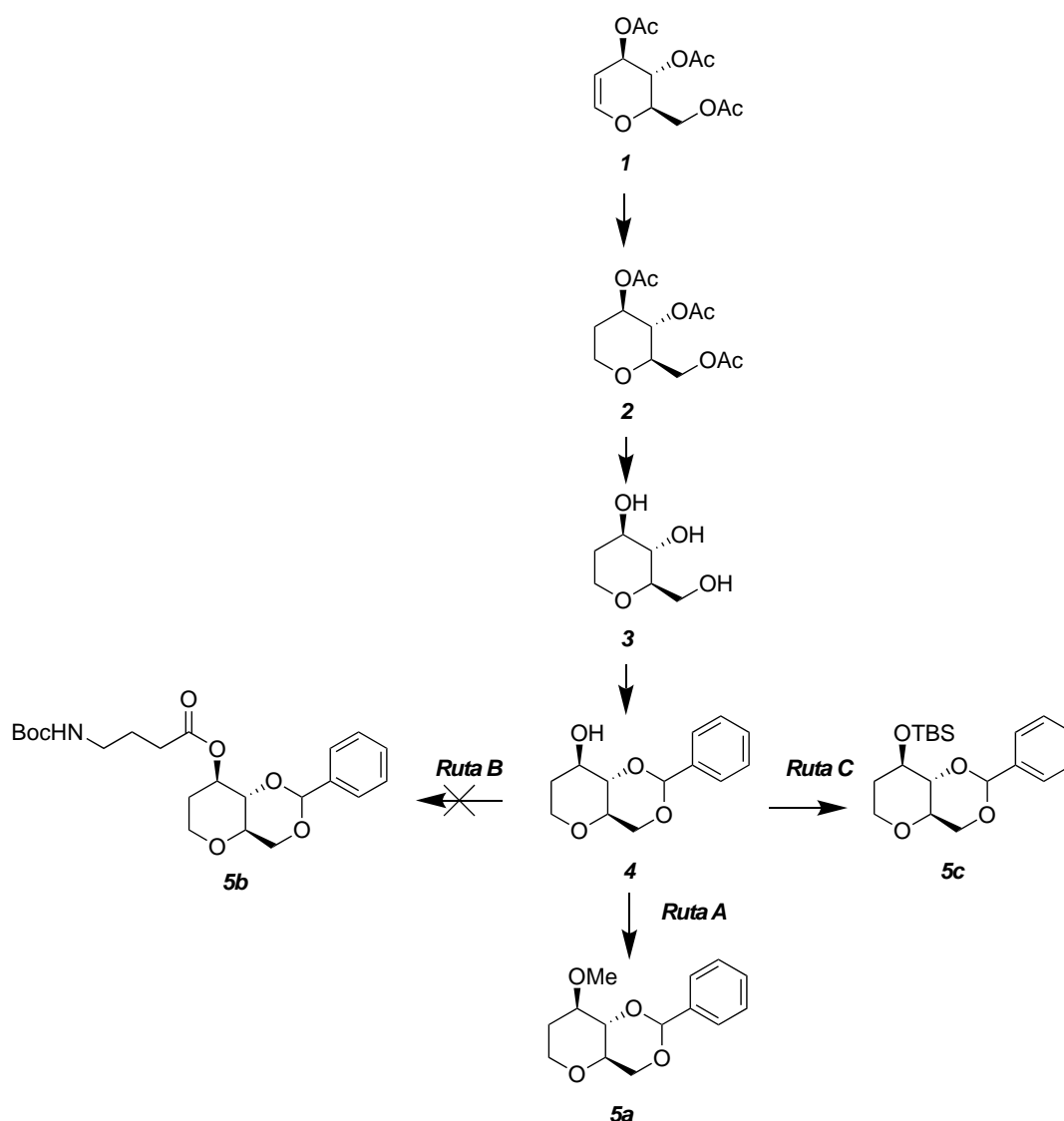
Los objetivos planteados para el desarrollo del presente trabajo han sido:

- Síntesis de alcoholes homoalílicos como precursores de fragmentos del hapteno-híbrido de la ciguatoxina (CTX).
- Síntesis de oxaciclos de seis y siete ciclos fusionados basados en la ciclación de Prins modificada con el fin de sintetizar haptenos híbridos lo suficientemente activos para provocar una respuesta inmune del organismo y permitir la posibilidad de desarrollar anticuerpos contra la intoxicación por ciguatera (CFP).

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Obtención de alcoholes homoalílicos como precursores de los biciclos.

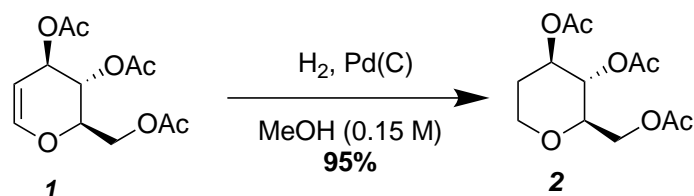
En primer lugar, se busca el sistema de alcohol homoalílico, siendo el principal requisito que los sustituyentes del sistema se encuentren en disposición *trans* para que se dé la ciclación y obtener así, el biciclo de interés. Con estas características cuenta el tri-*O*-acetil-*D*-glucal, por lo que se plantean a partir de dicha molécula las posibles rutas para la síntesis de sistemas de alcoholes homoalílicos con distintos grupos protectores (Esquema 3.1):<sup>19</sup>



Esquema 3.1. Rutas A, B y C para síntesis de los precursores para la síntesis de biciclos.

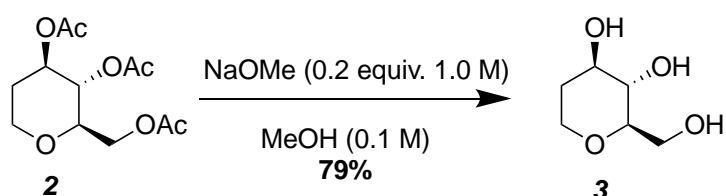
<sup>14</sup> R. J. Ferrier. *J. Chem. Soc., Perkin Trans*, **1979**, *1*, 1455.

En primer lugar, se parte de un carbohidrato derivado de *D*-glucal, en concreto tri-*O*-acetil-*D*-glucal, ya que como se ha comentado anteriormente, posee las características de interés para incluir un sistema de alcohol homoalílico. Se somete a una reducción mediante una hidrogenación catalítica con paladio con el fin de reducir el doble enlace, obteniéndose el oxaciclo **2** con un rendimiento del 95% (Esquema 3.2).<sup>20</sup>



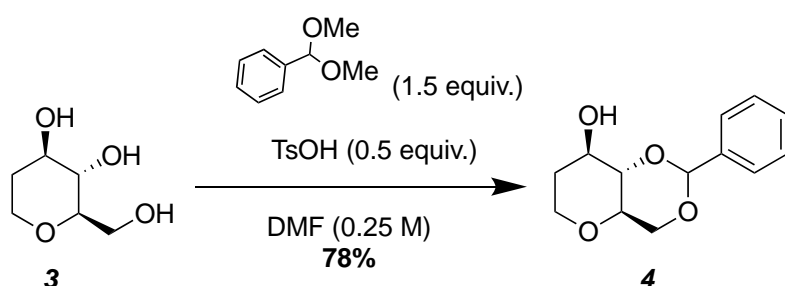
**Esquema 3.2.** Síntesis del oxaciclo 2.

A continuación, se saponifican los acetatos del oxaciclo **2** con metóxido de sodio y se obtiene el triol **3** con un rendimiento del 79% (Esquema 3.3).



**Esquema 3.3.** Síntesis del oxaciclo 3.

Una vez sintetizado el triol **3**, se protegen los grupos hidroxilos del carbono 5 y 6 haciéndolo reaccionar con benzaldehído dimetilacetal y ácido *p*-toluen-sulfónico, obteniéndose el bencilideno **4** con un rendimiento del 78% (Esquema 3.4).



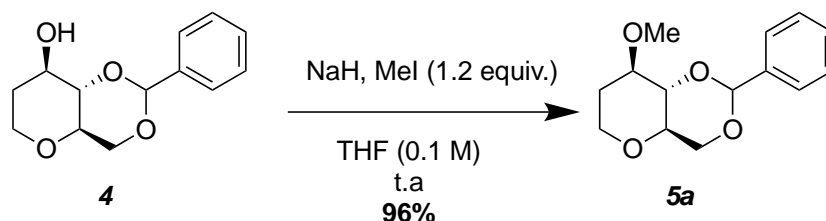
**Esquema 3.4.** Síntesis del bencilideno 4.

A partir del oxaciclo **4** convenientemente protegido se plantean tres rutas sintéticas empleando tres grupos protectores diferentes para el grupo hidroxilo. En la ruta **A** se plantea proteger como metoxilo, en la ruta **B** con ácido 4-[bencilo (*terc*-



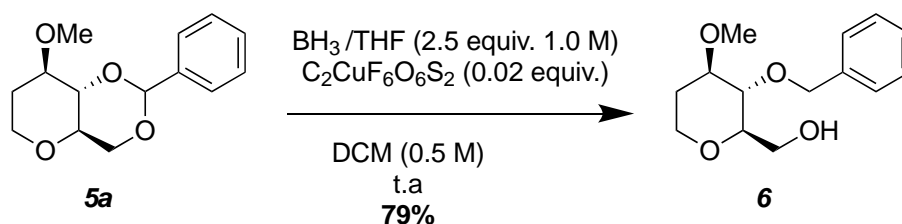
butoxicarbonil) amino] butanoico, previamente sintetizado, y en la ruta **C** usando cloruro de *tert*-butildimetilsilano (TBSCl).

En cuanto a la ruta **A**, se hace reaccionar el oxaciclo **4** con hidruro de sodio y yoduro de metilo, obteniéndose el oxaciclo **5a** con un rendimiento del 96% (Esquema 3.5).



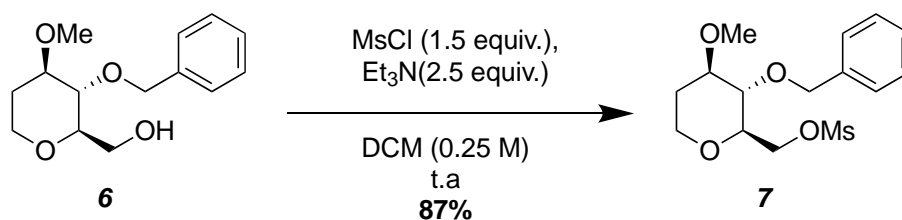
Esquema 3.5. Síntesis del oxaciclo 5<sup>a</sup>.

A continuación, se procede a la apertura quimioselectiva del acetal del oxaciclo **5a** utilizando borano y triflato de cobre, obteniendo un rendimiento del 79% del alcohol **6** (Esquema 3.6).



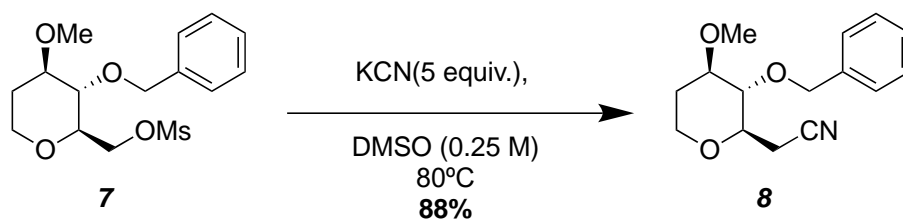
Esquema 3.6. Síntesis del alcohol 6.

Para la obtención del oxaciclo **7** se hace reaccionar el alcohol **6** con cloruro de mesilo (MsCl), permitiendo mesilar el grupo hidroxilo y obteniendo un rendimiento del 87% (Esquema 3.7).



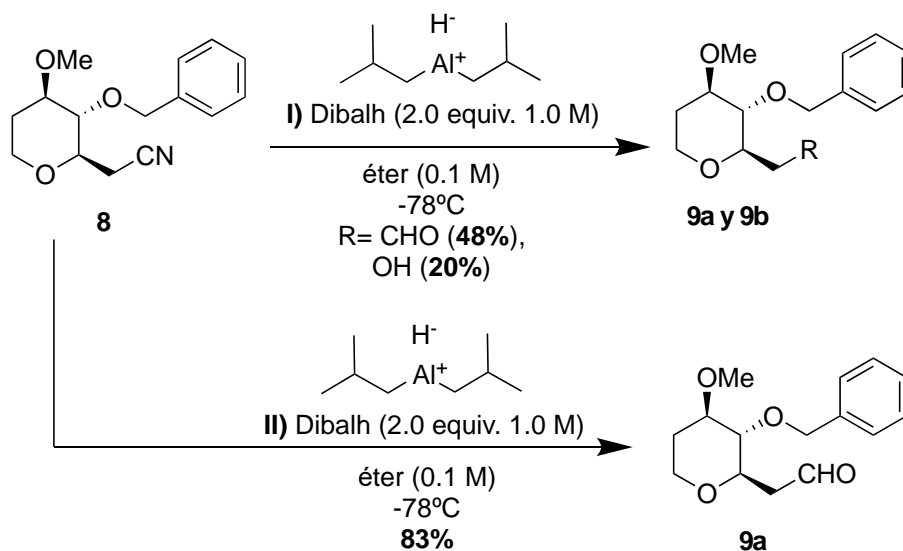
Esquema 3.7. Síntesis del oxaciclo 7.

A continuación, se introduce el grupo nitrilo a partir del oxaciclo **7** y por sustitución del mesilato por tratamiento con cianuro potásico. El grupo mesilo es buen grupo saliente y se obtiene el oxaciclo **8** con un rendimiento del 88% (Esquema 3.8).



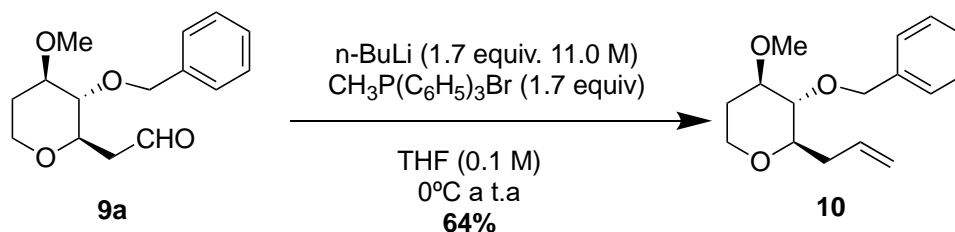
**Esquema 3.8.** Síntesis del oxaciclo 8.

Para la síntesis del oxaciclo **9** se hace reaccionar el nitrilo **8** con DIBAL-H como agente reductor. Hasta que se puso a punto la metodología, el rendimiento del aldehído **9a** era muy bajo y además, debido a la sobrerreducción del grupo nitrilo se obtenía el alcohol **9b** como producto secundario. Cabe destacar que el control exhaustivo de la temperatura, evitando que, una vez añadido del agente reductor, ésta no supere los  $-50^\circ\text{C}$  permite obtener un mayor rendimiento y un único producto, el aldehído **9a** de interés.



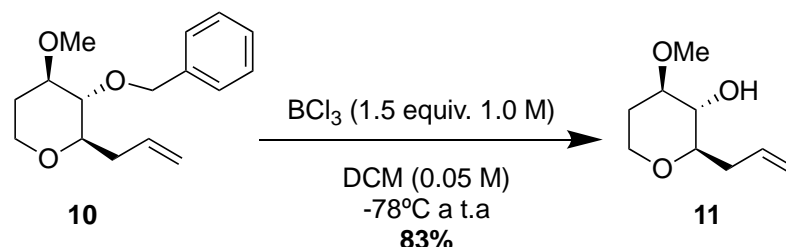
**Esquema 3.9.** Síntesis del oxaciclo 9a y 9b. (el esquema hay que cambiarlo)

Se hace reaccionar el aldehído **9a** con el iluro de fósforo previamente formado a partir de la sal de fosfonio con *n*-butillitio a  $0^\circ\text{C}$ , obteniéndose el compuesto olefínico **10** con un rendimiento del 64%.



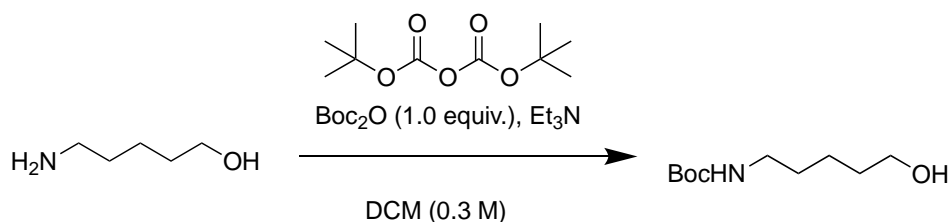
**Esquema 3.10.** Síntesis del oxaciclo 10.

Por último, se desprotege el grupo bencilo del oxaciclo **10** empleando tricloruro de boro para obtener el alcohol homoalílico **11** con un 83% de rendimiento (Esquema 3.11).



**Esquema 3.11.** Síntesis del oxaciclo **11**. **Poner en colores**

Se plantea la ruta **B**, en la búsqueda de un grupo protector que se ajuste a las características de interés, en concreto, el grupo ácido 5-[(*tert*-butoxicarbonil) amino] pentanoico, preparado previamente. En primer lugar, para la obtención de dicho grupo protector, se protege el grupo amino del 5-aminopentan-1-ol empleando el grupo protector *tert*-butiloxicarbonilo (Boc) ya que es uno de los grupos protectores de amino más utilizados (Esquema 3.12).<sup>21</sup>

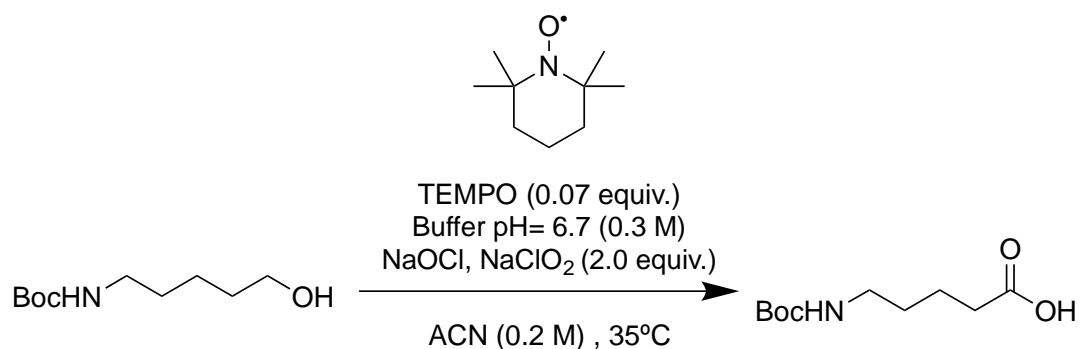


**Esquema 3.12.** Síntesis de carbamato de *tert*-butil (5-hidroxi-pentil).

A continuación, se oxida el alcohol primario a ácido carboxílico empleando clorito de sodio catalizado por TEMPO e hipoclorito sódico (Esquema 3.13).<sup>22</sup>

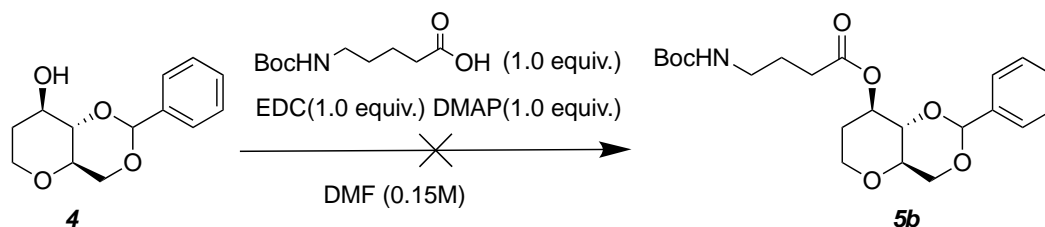
<sup>21</sup> J.M. Lopez-Soria, S.J. Pérez, J.N. Hernández, M.A. Ramírez, V.S. Martín, J.I. Padrón. *RSC Adv.*, 2015, 5, 6647.

<sup>22</sup> M. Zhao, J. Li, E. Mano, Z. Song, D.M. Tschaen, E.J.J. Grabowski, P.J. Reider. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2564-2566.



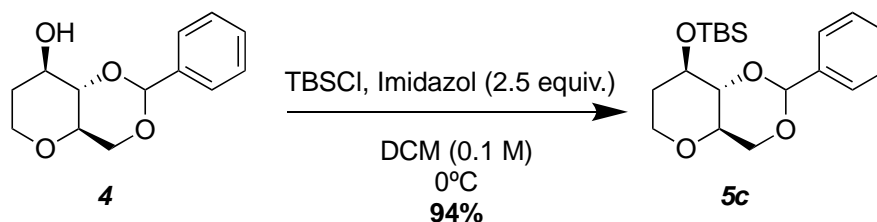
**Esquema 3.13.** Síntesis del ácido 5- ((*tert*- butoxicarbonil) amino) pentanoico.

Por último, se hace reaccionar ácido carboxílico con el alcohol **4** empleando EDC y DMAP como catalizador. Mediante la técnica de espectrometría de masas se observa el alcohol **4** y que no ha tenido lugar el acoplamiento (Esquema 3.14).



**Esquema 3.14.** Síntesis del oxacyclo 5b.

En cuanto a la ruta **C**, se hace reaccionar con cloruro de *tert*-butildimetilsilano (TBS) e imidazol, obteniéndose el oxacilo **5c** (Esquema 3.15).



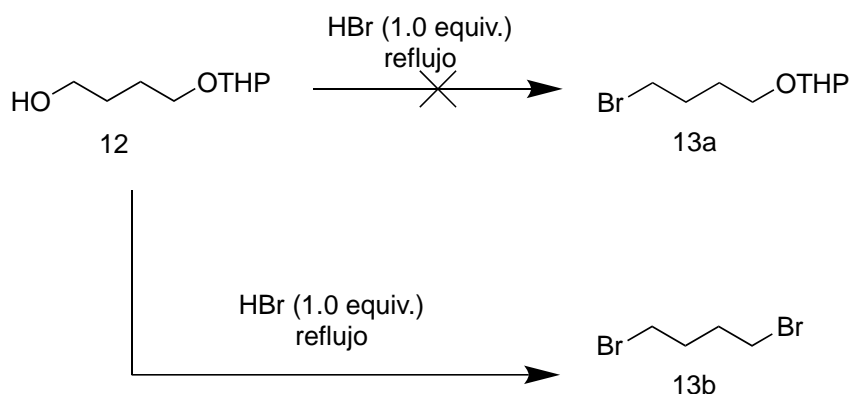
**Esquema 3.15.** Síntesis del oxacyclo 5c.

A continuación, se intenta abrir el acetal del oxacyclo **5c** y se sigue por CCF, observándose que se han formado distintos productos, con lo cual, no solo tuvo lugar la apertura del acetal. Mediante <sup>1</sup>H-RMN se observa que se ha obtenido una mezcla de productos, es decir, la apertura del acetal ha sido tanto hacia el alcohol secundario como primario, desprotegiéndose el TBS durante el proceso (Esquema 3.16).

### 3.2 Ciclación de Prins para la síntesis de éteres cíclicos de seis y siete miembros fusionados.

La ciclación de Prins permite la obtención de éteres cíclicos de diferentes ya que tiene lugar la formación de un enlace C-C y C-O, simultáneamente, empleando aldehídos y ácidos de Lewis. El grupo de investigación tiene experiencia en cuanto a la ciclación de Prins de alcoholes homoalílicos con cantidades estequiométricas de sales de hierro (III), obteniendo buenos rendimientos para una amplia variedad de aldehídos.<sup>23</sup> En primer lugar, se requiere la síntesis previa de aldehídos, para ello, se plantea la obtención de varios:

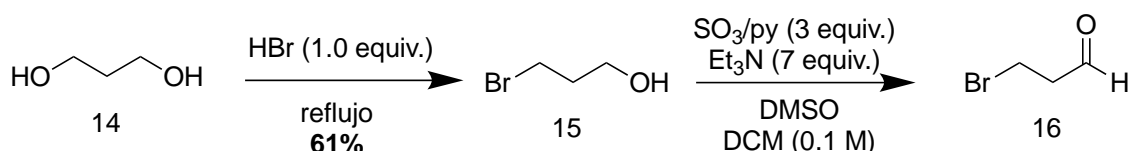
A partir del producto **12**, sintetizado por el grupo de investigación, se hace reaccionar con ácido bromhídrico para obtener el derivado **13a**. Sin embargo, se broman ambos grupos hidroxilos, formándose el dibromado **13b** ya que se ha desprotegido el grupo tetrahidropirano (THP). Por ello, se recurre a buscar otra molécula de partida.



Esquema 3.16. Obtención del aldehído 13a y 13b.

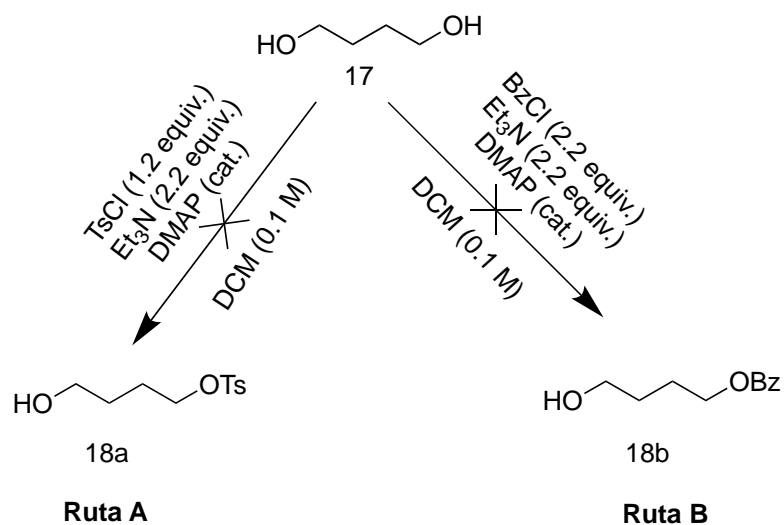
Se hace reaccionar cantidades estequiométricas de ácido bromhídrico con el diol **14** para obtener el derivado deseado **15** con un rendimiento del 61%. A continuación, se realiza la oxidación del alcohol **15** utilizando la oxidación de Parikh-Doering (complejo SO<sub>3</sub>·Py) pero no es posible aislar el aldehído **16** ya que se volatiliza, con lo cual, se plantea trabajar en disolución. Se realiza de nuevo la oxidación del alcohol **15** y se aísla el aldehído **16** en disolución. No obstante, a la hora de hacerlo reaccionar el alcohol homoalílico **11**, no se completa la reacción del biciclo y solo se obtuvo trazas del mismo (Esquema 3.19).

<sup>23</sup> P.O. Miranda, D.D. Diaz, J.I. Padrón, J. Bermejo, V.S Martín. *Org. Lett.*, **2003**, 5, 1979.



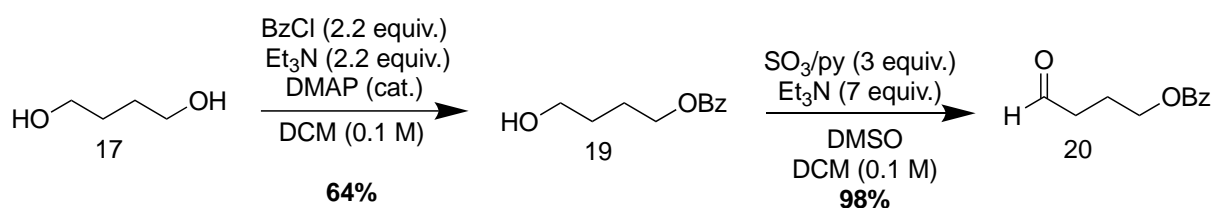
Esquema 3.17. Obtención del aldehído 16.

Respecto a la ruta **A** y **B**, se hace reaccionar el diol **12** con cloruro de benzoilo (BzCl) y cloruro de tosilo (TsCl), respectivamente, empleando Et<sub>3</sub>N y DMAP en cantidades catalíticas en ambas reacciones (Esquema 3.20). En ambos casos, no se obtiene la monoprotección del alcohol **17** por lo que pusimos en duda las condiciones tanto del cloruro de tosilo como del benzoilo.



Esquema 3.18. Rutas A y B para la síntesis de los aldehídos 18a y 18b.

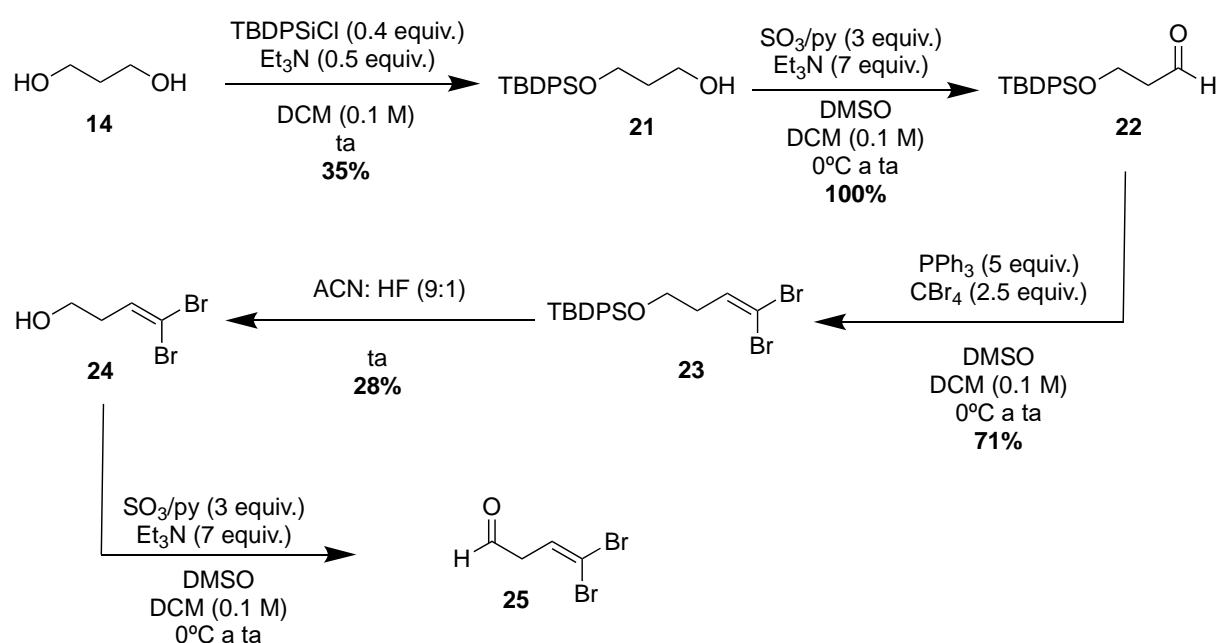
Realizamos la purificación de éstos y se procede a realizar la monoprotección de 1,4-butandiol con BzCl. (Esquema 3.21).



Esquema 3.19. Síntesis del benzoato y aldehído, **19** y **20**, respectivamente.

Se concluye que el problema radica en la contaminación de los reactivos ya que es posible, una vez purificado el BzCl, obtener el alcohol **19** con un rendimiento del 64% y posteriormente, someter éste a una oxidación para obtener el aldehído **20** con un 98% de rendimiento.

Simultáneamente, ya que la obtención de aldehídos es laboriosa, se plantea la síntesis del aldehído **25** debido a que el grupo de investigación tiene experiencia con la reacción de Corey-Fuchs. Se comienza monoprotegiendo el diol **14** empleando cloruro de *tert*-butildifenilsilano (TBDPSiCl), obteniéndose un 35% de rendimiento del alcohol **21**. A continuación, se oxida el alcohol **21** utilizando SO<sub>3</sub>·Py y se obtiene el aldehído **22** con un rendimiento cuantitativo. A continuación, éste se hace reaccionar con tetrabromometano para obtener el derivado **23** con un rendimiento del 23%. El siguiente paso consiste en desproteger el grupo TBDPS para obtener el alcohol **24** con un rendimiento del 28%. Por último, el alcohol **24** se hace reaccionar con SO<sub>3</sub>·Py con el fin de oxidarlo al aldehído **25** sin éxito ya que este es volátil a pesar de los dos átomos de bromo (Esquema 3.22).



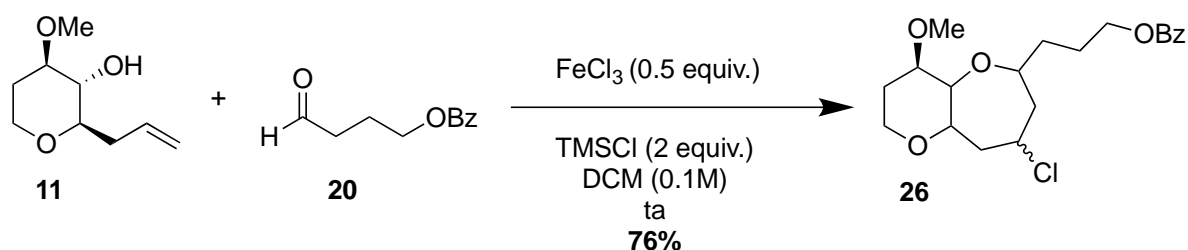
Esquema 3.20. Síntesis del aldehído **25**.

Por otra parte el grupo de investigación ha desarrollado una metodología basada en la ciclación de Prins directa, para la obtención de anillos de oxepanos trisustituidos empleando sales de hierro(III) y cloruro de trimetilsilano (TMSCl).<sup>24</sup>

Para obtener el bicyclo **26** se hace reaccionar el alcohol homoalílico **11** y el aldehído **20**, con tricloruro de hierro(III) como ácido de Lewis y TMSCl. Se obtiene una mezcla de oxepanos **26**, con un rendimiento del 76%, que difieren en la estereoquímica del cloro ya que se presenta como mezcla de epímeros (Esquema 3.23).<sup>25</sup>

<sup>24</sup> M. A. Purino, M. A. Ramírez, A. H. Daranas, V. S. Martín, J. I. Padrón. *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 5904-5907.

<sup>25</sup> R. M. Carballo, G. Valdomir, M. Purino, V. S. Martín, J. I. Padrón, *Eur. J.Org.Chem.* **2010**, *12*, 2304.

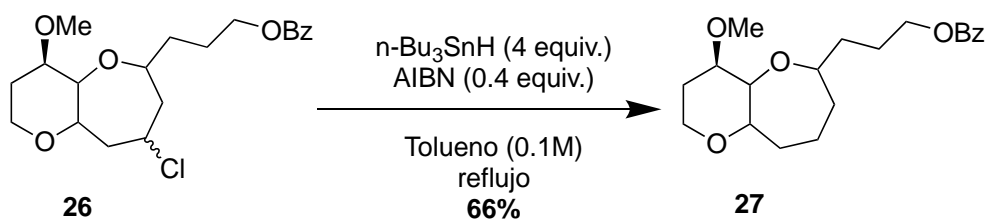


**Esquema 3.21.** Ciclación de Prins para la síntesis del bicyclo precursor **26**.

El proceso de ciclación es estereoselectivo y conduce exclusivamente a una configuración totalmente *cis* en el anillo recién generado (poner en las figuras estereoquímica). Esta útil metodología permite un fácil acceso a una variedad de éteres bicíclicos presentes en una amplia gama de productos naturales bioactivos. Cabe destacar que la reacción de ciclación de Prins es un éxito cuando se usan aldehídos más desafiantes que tienen un grupo funcional, como un doble enlace o un acetato.<sup>26</sup>

En cuanto al mecanismo de la ciclación de Prins, se forma un oxocarbocatión como intermedio y cabe la posibilidad de que sufra un reagrupamiento 3,3 sigmatrópico o reagrupamiento oxonia-cope. Debido a ello, se puede dar la formación de productos secundarios, mezcla de productos debido al intercambio de sustituyentes y la racemización de los productos.<sup>27,28,29,30</sup> Este problema es habitual en la generación de oxaciclos de seis miembros y no en la de siete miembros, ya que dadas las características del alcohol el reagrupamiento no es posible.

No ha sido posible separar la mezcla de oxepanos **26** pero desde el punto de vista sintético no es relevante puesto que se procede a deshalogenar usando condiciones estándar ( $\text{Bu}_3\text{SnH}/\text{AIBN}$ , reflujo), transformando así ambos cloro-oxepanos en el oxepano **27** con un 66% de rendimiento.



**Esquema 3.22.** Deshalogenación del bicyclo **26**.

<sup>26</sup> S. J. Pérez, P. O Miranda, D. A Cruz, I. Fernández, V. S. Martín, J. I. Padrón. *Synthesis.*, **2015**, 47, 1791-1798.

<sup>27</sup> S.R. Crosby, J.R. Harding, C.D. King, G.D. Parker, C.L Willis. *Org.Lett.*, **2002**, 4, 577.

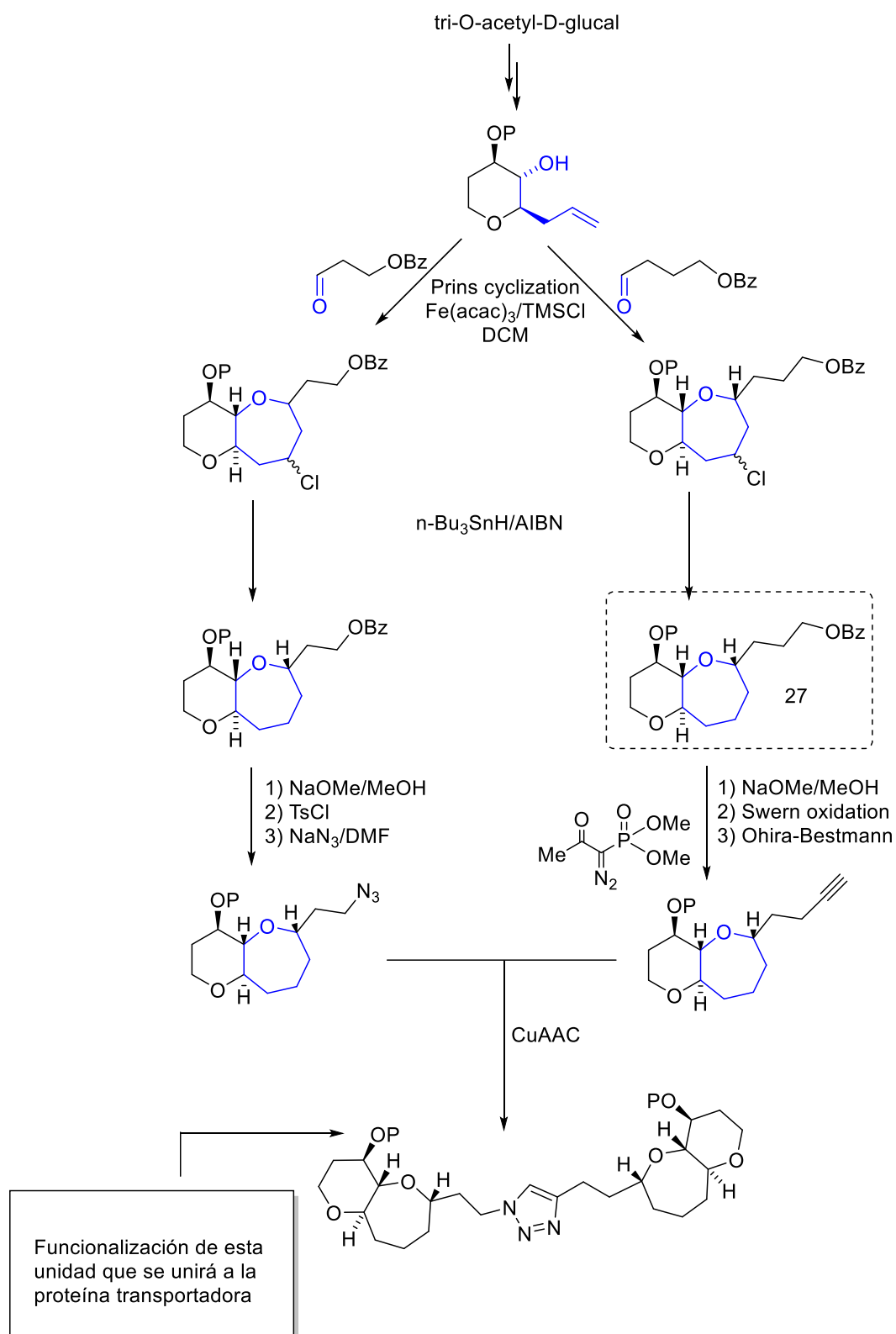
<sup>28</sup> S. Marumoto, J.J. Jaber, J.P. Vitale, S.D. Rychnovsky. *Org. Lett.*, **2002**, 4, 3919.

<sup>29</sup> C.S. Barry, N. Bushby, J.R. Harding, R.A. Hughes, G.D. Parker, R. Roe, C. L. Willis. *Chem.Commun.*, **2005**, 3727.

<sup>30</sup> R. Jasti, S.D. Rychnovsky. *J.Am. Chem.Soc.*, **2006**, 128, 13640.



Con la síntesis del biciclo **27** hemos conseguido sintetizar un intermedio avanzado en la síntesis del hapteno híbrido. La metodología desarrollada en esta memoria nos acerca a la síntesis y futura evaluación del hapteno híbrido planteado (Esquema 3.25).



Esquema 3.25. Síntesis del hapteno híbrido

## 4. Parte experimental

### 4.1. Técnicas instrumentales

- **Resonancia Magnética Nuclear**

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se han realizado en los siguientes espectrómetros:

Bruker Avance 500, equipado con “Sonda 5mm TBI de detección inversa de tres canales ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , banda ancha) y “Sonda HRMAS de detección inversa de canales ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ )” (500 MHz para  $^1\text{H}$  y 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ ). Se encuentra en el IUBO-AG.

Bruker Model AMX 400, 400 MHz para  $^1\text{H}$  y 100 MHz para  $^{13}\text{C}$  a VTU (Variable Temperature Unit) 298.0 K. Ubicado en el IPNA-CSIC.

El disolvente utilizado es cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) cuyo valores de desplazamiento químico ( $\delta$ ) son  $\delta_{\text{H}}$  7.26 ppm y  $\delta_{\text{C}}$  77.16 ppm. Las unidades del  $\delta$  se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se miden en hertzios (Hz).

En cuanto a la nomenclatura, las multiplicidades de los espectros de  $^1\text{H}$ , se han empleado las siguientes abreviaturas para describirlas: singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuádruplete (q), multiplete (m), doble doblete (dd), doble triplete (dt) y doble doble doblete (ddd). Respecto a los experimentos de  $^{13}\text{C}$ , la multiplicidad de las señales se indica de la siguiente forma:  $\text{CH}_3$  (q),  $\text{CH}_2$  (t),  $\text{CH}$  (d) y  $\text{C}$ (s).

- **Espectrometría de Masas**

Los espectros de masas de alta resolución fueron realizados en los espectrómetros Micromass Autospec, empleando la ionización por electrospray (ESI).

### 4.2. Técnicas cromatográficas

- **Cromatografía en capa fina (CCF)**

El seguimiento de las reacciones y de las cromatografías en columna se realiza mediante placas de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> de la casa Merck. No obstante, cuando existen grupos cromóforos en la molécula, se sigue mediante luz ultravioleta (450 nm). Previamente se preparan con la disolución de ácido fosfomolibdico

(PMA) en etanol (5%) o disolución de vainillina en etanol, ácido acético y ácido sulfúrico, según el producto de interés. variando los disolventes de elución y el porcentaje de estos (n-Hex/AcOEt o n-Hex/AcOEt/Tolueno).

La preparación de las disoluciones se han basado en el procedimiento descrito en la bibliografía.<sup>31</sup>

- **Cromatografía en columna (CC)**

A partir de los diferentes coeficientes de repartos de los compuestos, se han separado y purificado por cromatografía en columna (CC) utilizando gel de sílice de un diámetro de 40-63  $\mu\text{m}$ , suministrada por la casa VWR International. La preparación de las columnas se realiza compactando, la gel de sílice una vez introducida en la columna, con el eluyente bajo presión. La columna se escoge según el diámetro y la cantidad de producto a purificar.

La elución de los productos se realiza con el eluyente *n*-Hex/AcOEt, variando el porcentaje de cada uno, según la polaridad del producto de interés, en régimen isocrático o en gradiente.

#### **4.3 Disolventes y Reactivos**

Los disolventes se han utilizado puros y anhidros mediante la destilación y el equipo de secado, respectivamente.

##### ***Reactivos***

Los reactivos se adquirieron de las casas comerciales Aldrich, Merck, Scharlab, y Panreac. Se utilizaron, en su forma comercial sin purificación, salvo el cloruro de benzoílo (BzCl).

##### ***Condiciones de reacción.***

Las reacciones se han realizado bajo atmosfera inerte, en este caso nitrógeno, y condiciones anhidras.

La nomenclatura empleada para designar los productos, se ha obtenido a través del programa ChemDraw 16.0. Dicho programa, desarrollado por CambrigdeSoft, posee un algoritmo Estructura=Nombre que se sigue las normas de la IUPAC, IUMBC y CAS.

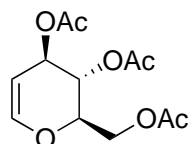
---

<sup>31</sup> J. T. Sharp, I. Gosney, A.G. Rowley. *Practical Organic Chemistry*, Ed. Chapman and Hall: Londres, **1990**.

#### 4.4 Procedimientos experimentales

##### Procedimiento para la obtención (2R,3S,4R)-2-(acetoxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4-diol (4).

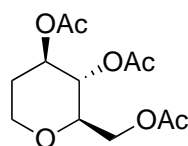
1. Obtención de (2R,3S,4R)-2-(acetoxymethyl) tetrahydro-2H-pyran-3,4-diyl diacetate (2).



1

Se disuelven 10.0 g (36.7 mmol) de tri-*O*-acetyl-*D*-glucal (98% pureza) en 245 mL de MeOH (0.15 M), se le adiciona una punta de espátula de paladio sobre carbón activo (5% Pd), evitando que queden restos por las paredes, y se introdujo una corriente de hidrógeno a t.a y agitación durante 48 horas. A continuación, se filtra con Celite® y se concentra bajo presión reducida obteniéndose un aceite incoloro y se observa mediante experimentos de <sup>1</sup>H RMN que se ha reducido el doble enlace. Se disuelve en DCM y se realiza una purificación mediante un percolado del crudo por cromatografía en columna (CC) de gel de sílice, empleando como eluyente AcOEt para eliminar los restos del catalizador. Por último, se concentra bajo presión reducida, obteniéndose 9.5 g (34.9 mmol, 95 % de rendimiento) del oxaciclo **2** como un aceite incoloro.

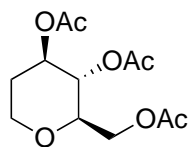
##### *Datos experimentales 2.*



2

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 5.91 (m, 2H), 4.18 (dd, J=5 & 12 Hz, 1H), 4.03 (d, J=12 Hz, 1H), 3.98 (dd, J= 5 & 12 Hz, 1H), 3.46 (m, 2H), 2.03 (sa, J= 2, 4H), 1.98 (sa, J=2 Hz, 6H), 1.76 (m, 1H). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 170.7 (C), 170.5 (C), 169.7 (C), 145.7 (CH), 99.1 (CH), 74.1(CH) 67.5(CH<sub>2</sub>) 67.3 (CH<sub>2</sub>), 61.5 (CH<sub>2</sub>), 21.1 (CH<sub>3</sub>), 20.9 (CH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>).

2. Obtención de (2R,3S,4R)-2-(acetoxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4-diyl diacetate (3).

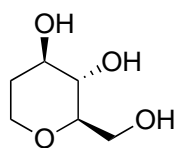


**2**

Se prepara una disolución de metóxido sódico (1.0 M, 0.2 equiv.) in situ, disolviendo 160.5 mg (7.0 mmol) de sodio en 6.98 mL de MeOH anhidro (1.0 M)

A la disolución de 9.5 g (34.9 mmol) del oxaciclo **2** en 3.49 mL de MeOH (0.1 M) se adiciona la disolución de metóxido sódico (1.0 M) y se deja agitando durante 12 horas. Se sigue por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (60/40) como eluyente hasta que se observa conversión completa del producto de partida. Se concentra bajo presión reducida, obteniéndose un aceite incoloro. Por último, se purifica por CC de gel de sílice utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (80/20) como eluyente, obteniéndose 4.1 g (27.6 mmol, 79 % rendimiento) del triol **3** como un aceite incoloro que se llevó a la siguiente reacción sin purificar.

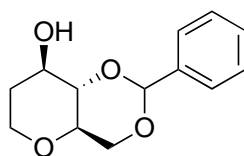
### 3. Obtención de (2R,3S,4R)-2-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4-diol (**4**).



**3**

A la disolución de 4.1 g (27.6 mmol) del crudo del triol **3** en 110 mL de DMF (0,25 M), se añaden 6.2 mL (41.4 mmol, 1.5 equiv.) de benzaldehído dimetilacetal y 2.6 g (13.8 mmol, 0.5 equiv.) de ácido *p*-toluensulfónico. Se lleva al rotavapor bajo presión reducida para eliminar el metanol que se forma y desplazar el equilibrio hacia el producto deseado durante 3 horas. Se extrae con DCM y se concentra bajo presión reducida. Se purifica por CC utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (80/20) como eluyente, obteniéndose 5.1 g (21.5 mmol, 78 % rendimiento) del compuesto **3** como un sólido blanco.

### *Datos experimentales 4.*



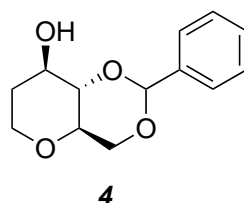
**4**

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):** δ d 7.50 (t, J= 8 Hz, 2H), 7.37 (t, J= 7 Hz, 3H), 5.54 (s, 1H), 4.27 (dd, J= 10 & 5 Hz, 1H), 3.96 (dd, J=12 & 5 Hz, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.69 (t, J= 10 Hz, 1H), 3.52 (dt, J= 13 & 2 Hz, 1H), 3.41 (t, J= 9 Hz, 1H), 3.31 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.78 (m, 1H).

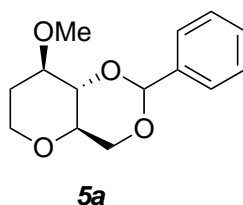
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):** δ 137.6 (CH), 129.5 (CH), 128.6 (CH<sub>2</sub>), 126.6 (CH<sub>2</sub>), 102.2 (CH), 84.2 (CH), 71.4 (CH), 69.7 (CH), 69.1 (CH<sub>3</sub>), 66.5 (CH<sub>2</sub>), 33.6 . **HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub> 236.2670; encontrado: 236.0945.

### Procedimiento de la Ruta A

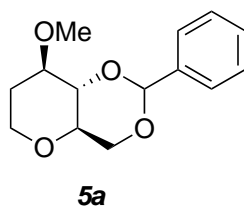
1. Procedimiento para la obtención de (4*aR*,8*R*,8*aS*)-8-methoxy-2-phenylhexahydropyrano[3,2-*d*][1,3] dioxina (**5a**).



Se disuelven 1.2 g (5.1 mmol) del alcohol **4** en 51 mL de THF (0.1 M), se adiciona 243 mg (6.1 mmol, 1.2 equiv.) de hidruro de sodio, al cabo de 5 minutos se añaden 0.4 mL (1.2 equiv.) de yoduro de metilo a t.a y agitación durante 2 horas. Se sigue por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (60/40) como eluyente y hasta que se observa conversión completa. Una vez se completa la reacción, se añade agua cuidadosamente con el fin de eliminar el exceso de hidruro sódico. Se purifica por CC con gel de sílice utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (en gradiente 85/15,70/30) como eluyente, obteniéndose 1.2 g (4.9 mmol, 96% de rendimiento) del oxaciclo **5a** como un aceite amarillo.

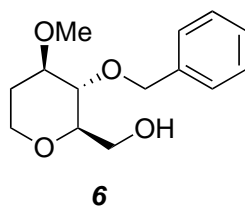


2. Procedimiento para la obtención de ((2*R*,3*S*,4*R*)-3-(benzyloxy)-4-methoxytetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)methanol (**6**).



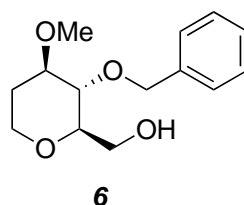
A la disolución de 1.2 g (4.8 mmol) del compuesto **5a** en 10 mL de DCM (0,5 M), se añaden 12 mL (12 mmol, 2.5 equiv, 1.0 M) de  $\text{BH}_3/\text{THF}$  y 34.7 mg (0.1 mmol, 0.02 equiv.) de  $\text{C}_2\text{CuF}_6\text{O}_6\text{S}_2$  y se deja a temperatura ambiente agitando durante 3 horas. Se sigue por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (60/40) como eluyente y hasta que se observa conversión completa. Se añade  $\text{Et}_3\text{N}$  en MeOH para parar la reacción, se lava con DCM y se concentra bajo presión reducida. Se purifica por CC utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (en gradiente 90/10,70/30, 50/50) como eluyente, obteniéndose 0.95 g (3.8 mmol, 79% rendimiento) del compuesto **6** como un aceite amarillo.

*Datos experimentales del alcohol 6.*



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):**  $\delta$  7.32 (s, 5H), 4.80 (d,  $J = 5$  Hz, 1H), 4.62 (d,  $J = 5$  Hz, 1H) 3.87 (m, 3H), 3.43 (s, 3H), 2.08 (m, 3H), 1.52 (m, 3H), 1.18 (m, 1H).  **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):**  $\delta$  138.8 (C), 128.7 (CH), 128.3 (CH), 128.0 (CH), 83.2 (CH<sub>2</sub>), 80.0 (CH), 78.63 (CH), 75.15 (CH), 65.80 (CH), 62.80 (CH<sub>3</sub>), 57.1 (CH<sub>2</sub>), 31.1 (CH<sub>3</sub>).

3. Procedimiento para la obtención de 2-((2*R*,3*S*,4*R*)-3-(benzyloxy)-4-methoxytetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)acetonitrile (**8**)

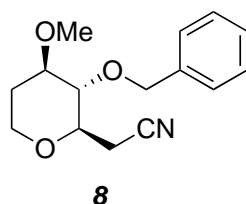


A la disolución de 0.95 g (3.8 mmol) del compuesto **6** en 15 mL de DCM (0,25 M), se añaden 0.44 mL (6.7 mmol, 1.5 equiv, 1.0 M) de cloruro de mesilo (MsCl) observándose un color amarillo, y a continuación se añade 1.3 mL (9.5 mmol, 2.5 equiv.) de  $\text{Et}_3\text{N}$ , se aprecia un color naranja, y se deja a temperatura ambiente agitando durante 12 horas. Se sigue por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (60/40) como

eluyente y hasta que se observa conversión completa. Se extrae con DCM y se concentra bajo presión reducida. Se purifica por CC utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (en gradiente 90/10,70/30, 50/50) como eluyente, obteniéndose 1.1 g (3.2 mmol, 87 % rendimiento) del compuesto **7** como un aceite amarillo.

A continuación se disuelven 1.1 g (3.3 mmol) del compuesto **7** en 64 mL de DMSO (0,25 M), se añaden 1.05 g (16 mmol, 5 equiv.) de cianuro de potasio (KCN) a 78°C y agitando durante 12 horas. Se extrae con éter y se concentra bajo presión reducida. Se purifica por CC con gel de sílice utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (en gradiente 95/5, 90/10, 80/20) como eluyente, obteniéndose 759 mg (2.9 mmol, 88 % de rendimiento) del oxaciclo **8** como un aceite incoloro.

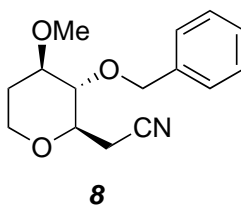
*Datos experimentales del oxaciclo 8.*



**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):** δ 7.35 (m, 5H), 4.98 (d, *J* = 11 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 11 Hz, 1H), 4.01 (dd, *J* = 4 & 11 Hz, 1H), 3.45 (s, 3H), 3.37 (m, 3H), 2.72 (dd, *J* = 4 & 17 Hz, 1H), 2.55 (dd, *J* = 4 & 17 Hz, 1H), 2.12 (m, 1H) 1.60 (m, 2H) **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):** δ 138.4 (C), 128.86 (2xCH), 128.44 (2xCH), 128.29 (CH), 117.64 (CH), 83.01 (CH), 80.65 (CH), 75.44 (CH), 75.23 (CH), 62.02 (CH<sub>3</sub>), 56.96 (CH<sub>2</sub>), 30.75(CH<sub>2</sub>) 21.72 (CH<sub>2</sub>).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N: 261.3210; encontrado: 261.1263.

5. Procedimiento para la obtención de 2-((2*R*,3*S*,4*R*)-3-(benzyloxy)-4-metoxitetrahydro-2*H*-piran-2-yl) acetaldehído (**9**).

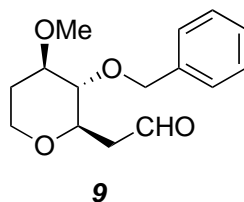


Se disuelven 759 mg (2.9 mmol) del compuesto **8** en 30 mL de éter (0.1 M), se añaden 5.8 mL (5.8 mmol, 2 equiv, 1.0 M) de DIBAL-H a -78°C y dejando que evolucione a -50°C durante media hora. Se sigue por CCF utilizando una mezcla de tolueno/AcOEt/DCM (3:1:1) como



eluyente y hasta que se observa conversión completa. Se añade HCl hasta que se forme un sólido blando para parar la reacción, se filtra por vacío usando gel de sílice. Se lava con DCM y se concentra bajo presión reducida. Se purifica por CC con gel de sílice utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (en gradiente 90/10, 85/15) como eluyente, obteniéndose 634 mg (2.4 mmol, 83 % de rendimiento) del oxaciclo **9** como un aceite amarillo.

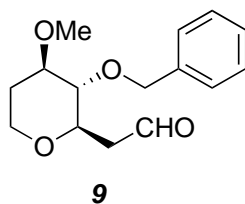
*Datos experimentales 9*



**H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**  $\delta$  9.69 (sa, 1H), 7.33 (m, 5H), 4.95 (dd,  $J = 11$  & 24 Hz, 1H), 4.62 (dd,  $J = 11$  & 26 Hz, 1H), 3.97 (dd,  $J = 5$  & 12 & 27 Hz, 1H), 3.68 (m, 1H), 3.45 (s, 3H), 3.38 (m, 2H), 2.74 (m, 1H), 2.50 (m, 1H), 1.12 (m, 1H), 1.58 (m, 2H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):**  $\delta$  200.6 (C), 138.3 (C), 128.7 (CH), 128.6(CH), 128.3(CH), 128.3 (CH), 128.0 (CH), 83.1(CH), 81.4 (CH), 75.1 (CH), 75.0 (CH), 65.8 (CH<sub>2</sub>), 56.8 (CH<sub>3</sub>), 46.8 (CH<sub>2</sub>), 30.9 (CH<sub>2</sub>).

6. Procedimiento para la obtención de (2*R*,3*S*,4*R*)-2-allyl-3-(benzyloxy)-4-methoxytetrahydro-2*H*-pyran (*10*).



Se disuelve la sal de fósforo (1.8 equiv.) en éter y se añade *n*-BuLi (1.7 equiv., 11M) a 0°C. Se añade en la disolución del aldehído **9** en THF (0.1 M) a temperatura ambiente durante 2 horas. Se sigue por CCF utilizando una mezcla de AcOEt/DCM como eluyente y hasta que se observa conversión completa. Se obtiene un rendimiento del 71% del oxaciclo **10**.

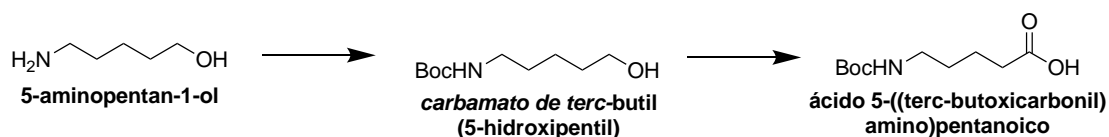
7. Procedimiento para la obtención de (2*R*,3*S*,4*R*)-2-allyl-4-methoxytetrahydro-2*H*-pyran-3-ol (*11*).

Se disuelve 350 mg (1.33 mmol) del oxaciclo **10** en 27 mL de DCM (0.05 M) y se añade 2 mL de tricloruro de boro (1.5 equiv. 1.0 M) a -78°C durante una 1 hora. . Se sigue por

cromatografía en capa fina (CCF) utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (60/40) como eluyente y hasta que se observa conversión completa. Se extrae con DCM y se concentra bajo presión reducida. Se purifica por CC utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (en gradiente 90/10,70/30, 50/50) como eluyente, obteniéndose 82 % de rendimiento) del alcohol homoalílico 11.

### Procedimiento de la Ruta B

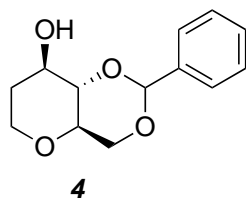
1. Procedimiento para la obtención del grupo protector ácido 5-((*tert*-butoxicarbonil)amino)pentanoico.



Se disuelve 5.0 g (48 mmol) de 5-aminopentanol-1-ol en 162 mL de DCM (0.3 M) se hace reaccionar con 10.6 g de di-*tert*-butyl-dicarbonato (48 mmol, 1 equiv.), 74.2 mL g de Et<sub>3</sub>N (0.53 moles, 11 equiv.) a 35°C durante 3 horas, obteniéndose 65% de rendimiento de la amina protegida. A continuación, el alcohol se oxida a ácido carboxílico empleando 314 mg de TEMPO (2.0 mmoles, 0.07 equiv.), 144 mL de acetonitrilo (0.2 M) y cuando la reacción se completa se ajusta el pH añadiendo 96 mL de una disolución buffer pH=6.3 (0.03 equiv.). Se añaden 4.15 g de clorito sódico (57.4 mmol, 2 equiv.) y 0.76 mL de hipoclorito sódico disuelto en 14.35 mL de agua a 0°C. Se adiciona una disolución de sulfito sódico (12.2 g en 200 mL de agua), se ajusta el pH a básico. Se obtiene un rendimiento del 80% .

### Procedimiento de la Ruta C

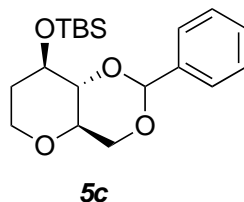
1. Procedimiento para la obtención de *tert*-butildimetil(((4*a*R,8*R*,8*a*R)-2-fenilhexahidropirano[3,2-*d*][1,3]dioxin-8-il)oxi)silano (5*c*).



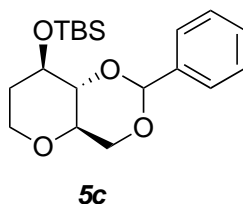
Se disuelven 1.4 g (5.9 mmol) del alcohol **4** en 60 mL de DM (0.1 M), se adiciona 1.0 g (14.8 mmol, 2.5 equiv.) de imidazol y 2.2 g de cloruro de *tert*-butil(dimetil)silano (TBSCl) (14.8 mmol, 2.5 equiv.) a 0°C y agitación durante 2 horas. Se sigue por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando una mezcla de *n*-Hex/AcOEt (70/30) como eluyente y hasta que se observa

conversión completa. A continuación, se lava con agua destilada, se seca con sulfato magnésico anhidro, se filtra por vacío y se concentra bajo presión reducida. Se purifica por CC con gel de sílice utilizando una mezcla de n-Hex/AcOEt (en gradiente 95/5, 90/10, 70/30) como eluyente, obteniéndose 1.9 g (5.5 mmol, 93 % rendimiento) del oxaciclo **5c** como un aceite amarillo.

*Datos experimentales 5c.*

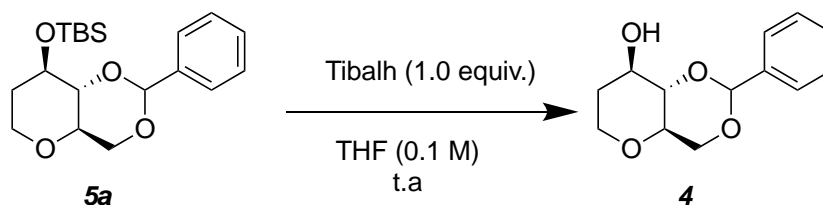


2. Procedimiento para la obtención de ((2*R*,3*R*,4*R*)-3-(benziloxi)-4-((*tert*-butildimetilsilil) oxi) tetrahidro-2*H*-piran-2-il) metanol (*5c'*).



A la disolución de 50 mg (0.14 mmol) del compuesto **5c** en 2.8 mL de DCM (0,05 M), se añaden 0.35 mL (0.45 mmol, 2.5 equiv, 1.0 M) de BH<sub>3</sub>/THF y 10 mg (0.028 mmol, 0.2 equiv.) de C<sub>2</sub>CuF<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> y se deja a temperatura ambiente agitando. Al cabo de 2 horas, tras observar por CCF (n-Hex/AcOEt (60/40) que se han formado dos productos se para con Et<sub>3</sub>N en MeOH cuando se observa y se extrae con DCM, concentrándose bajo presión reducida. Se purifica por CC con gel de sílice utilizando una mezcla de n-Hex/AcOEt (en gradiente 98/2, 90/10, 80/20, 40/60) como eluyente, obteniéndose 40 mg de una mezcla de productos.

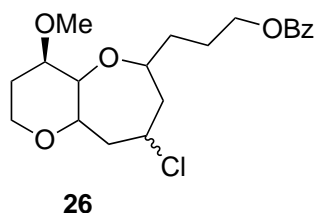
3. Procedimiento para la obtención de (2*R*,3*S*,4*R*)-2-(hydroxymethyl)tetrahidro-2*H*-piran-3,4-diol (**4**) a partir de **5c**



Se disuelven 1.4 g (8.3 mmol) del oxaciclo **5a** en una disolución de 4.15 ml de fluoruro de tetra-*n*-butylamonio en THF 1M a temperatura ambiente durante 24 horas obteniéndose un rendimiento del 84%.

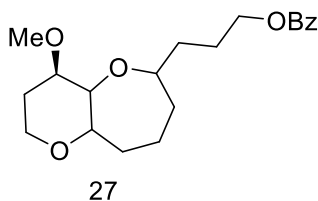
**Procedimiento para la obtención de éteres cíclicos de seis y siete miembros fusionados mediante la ciclación de Prins.**

A una disolución del alcohol homoalílico 11 y el aldehído correspondiente (1.2-2.0 eq.) en DCM seco (0.1 M), se añadió el FeCl<sub>3</sub> (0.2 eq. o 0.5 eq. respectivamente) y el TMSCl (1.5 eq. o 2.0 eq. respectivamente.). Cuando la reacción, seguida por (CCF), se completó, se añadió agua para finalizar el proceso. A continuación, se extrajo con DCM, y las fases orgánicas se secan sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra, y se elimina el disolvente se eliminó a presión reducida. La purificación del crudo se realizó mediante CC de gel de sílice, usando como eluyente mezclas de n-hexano/AcOEt.



**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>O<sub>5</sub>Cl: 382.8810; encontrado: 382.1431

A una disolución del sustrato halogenado correspondiente en tolueno seco (0.1 M), se añadió el Bu<sub>3</sub>SnH (4.0 eq.) y el AIBN (0.4 eq.). La mezcla se calentó a reflujo durante dos horas. Transcurrido dicho tiempo, se dejó que el sistema retornara a temperatura ambiente, para posteriormente proceder a eliminar la mayor cantidad posible de tolueno mediante destilación a presión reducida. A continuación, el crudo obtenido se purificó mediante columna cromatográfica de gel de sílice, usando como eluyente mezclas de n-hexano/AcOEt.



*Datos experimentales biciclo 27*

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):** δ 10.06 (s, J= 10 Hz, 1H), 8.28 (d, J= 8 Hz, 2H), 7.80 (t, J= 7 Hz, 1H), 7.68 (t, J= 7 Hz, 2H), 4.6 (t, J=6 Hz, 2H), 2.87 (t, J=7 Hz, 2H), 2.35 (t, J= 7 Hz, 2H). **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):** δ 166.2 (C), 132.5 (CH), 129.8 (CH), 129.0 (CH), 127.9(CH), 64.4 (CH<sub>2</sub>), 61.3 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 24.8 (CH<sub>2</sub>).

## 5. Trabajo futuro

1. Completar las síntesis de éteres policíclicos como diferentes precursores de los haptenos híbridos

Una vez sintetizados los precursores, se introduciría grupos azida y alquinos mediante sustitución  $S_N2$  de buenos grupos salientes, hasta ahora se cuenta con el grupo benzoato (BzO).

2. La cicloadición de alquino azida catalizada por cobre(I), también conocida como química de clicK, se llevará a cabo utilizando condiciones de microondas.

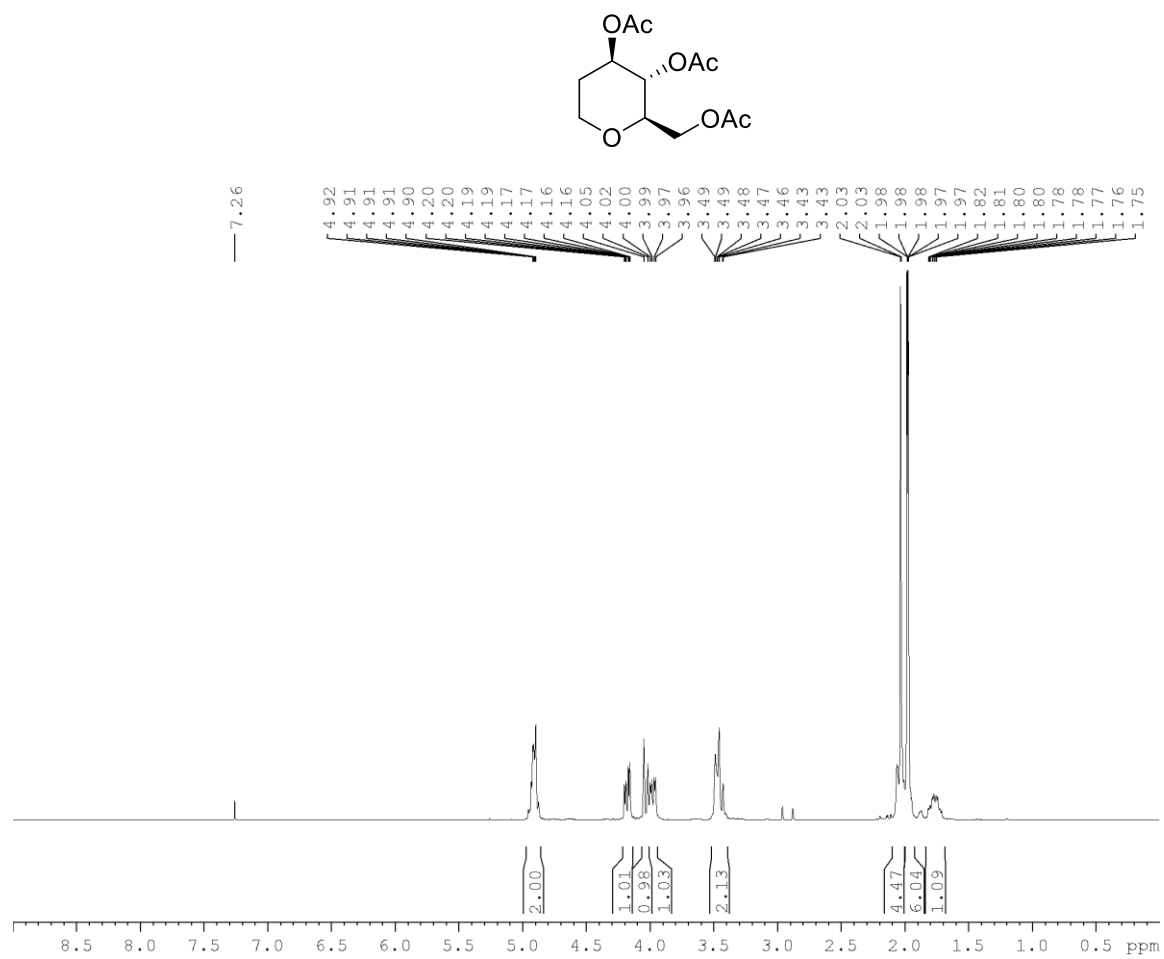
Como se ha mencionado anteriormente, el grupo siempre ha estado interesado en desarrollar estrategias diferentes para la síntesis de éteres policíclicos. Por lo tanto, se ha desarrollado una metodología amplia basada en la ciclación de Prins.

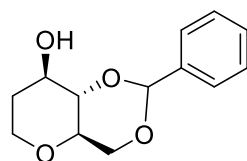
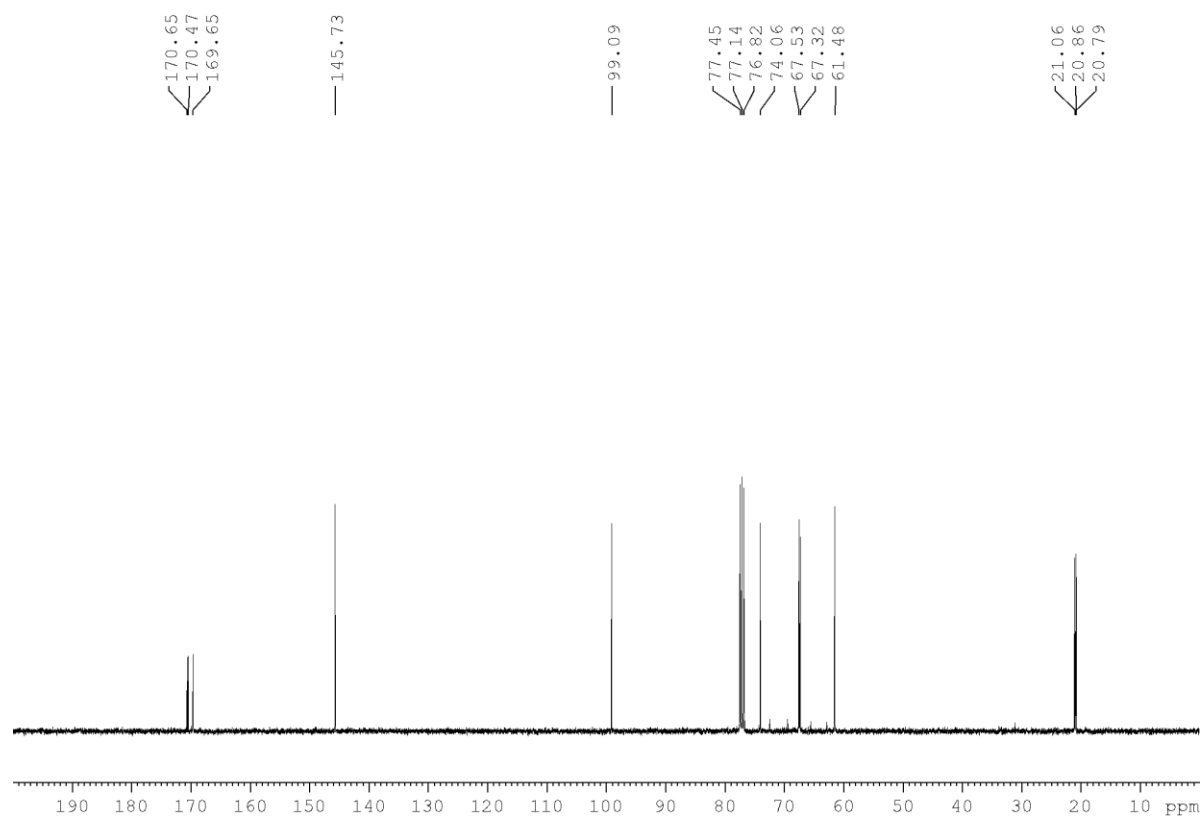
## 6. Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo se han planteado las siguientes conclusiones:

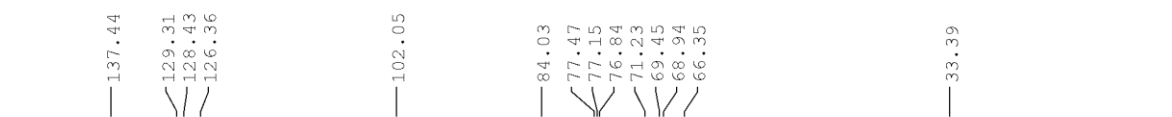
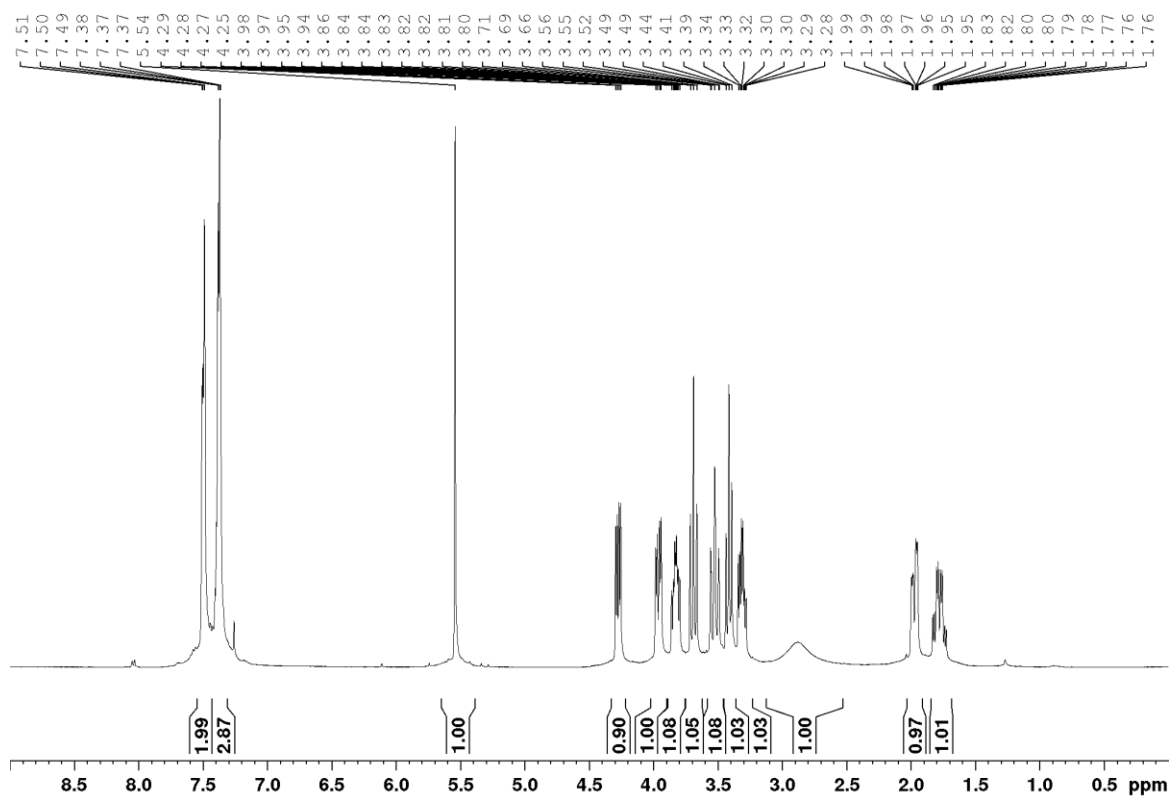
- Se han estudiado distintos grupos protectores, los cuales se puedan eliminar fácilmente a la hora de anclar la proteína transportadora del hapteno híbrido.
- Se ha conseguido sintetizar oxaciclos que cuentan con características de interés con el fin de poder ser fusionados, en concreto, el sistema de alcohol homoalílico.
- Se han sintetizado éteres de seis y siete ciclos fusionados como posibles precursores de la ciguatoxina con el fin de crear y diseñar haptenos hacia estrategias de inmunización.
- Se ha empleado la metodología de la ciclación de Prins modificada por el grupo de investigación, catalizada por sales de hierro (III), siendo de bajo costo y carácter poco contaminante.

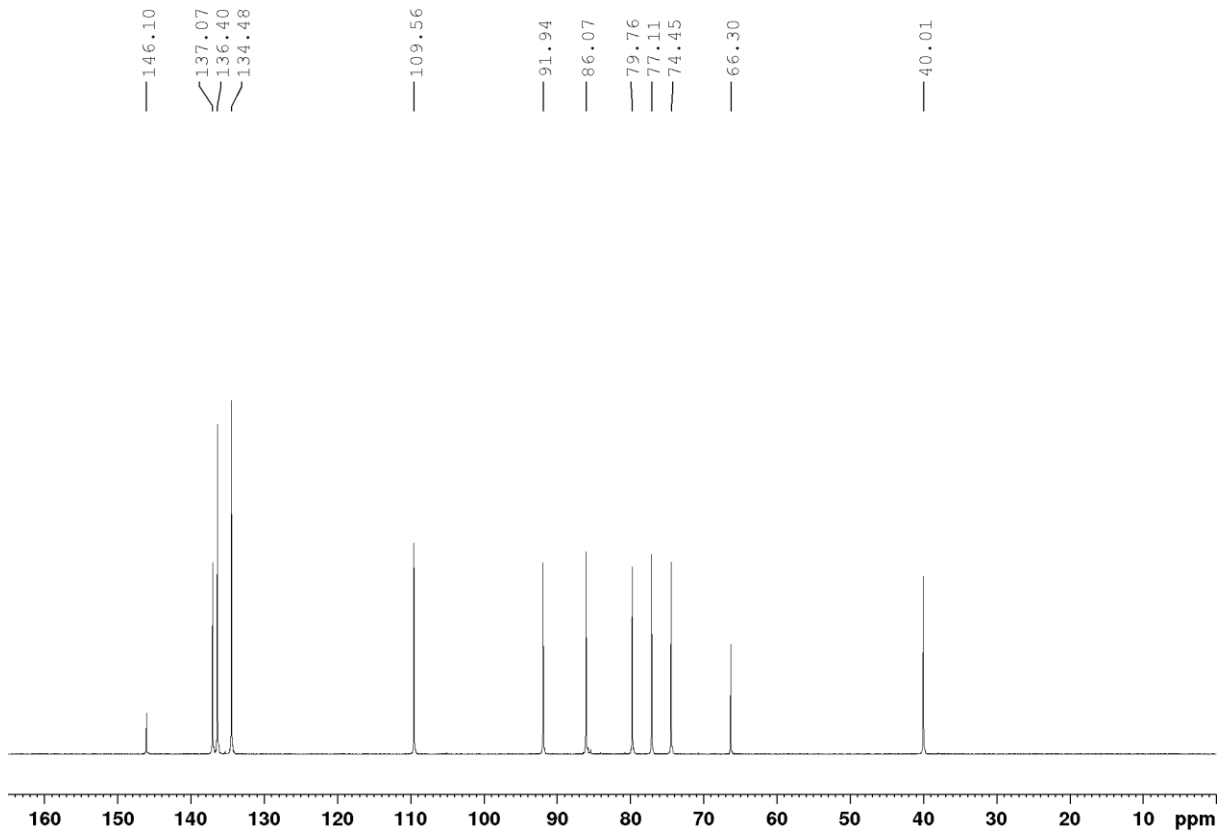
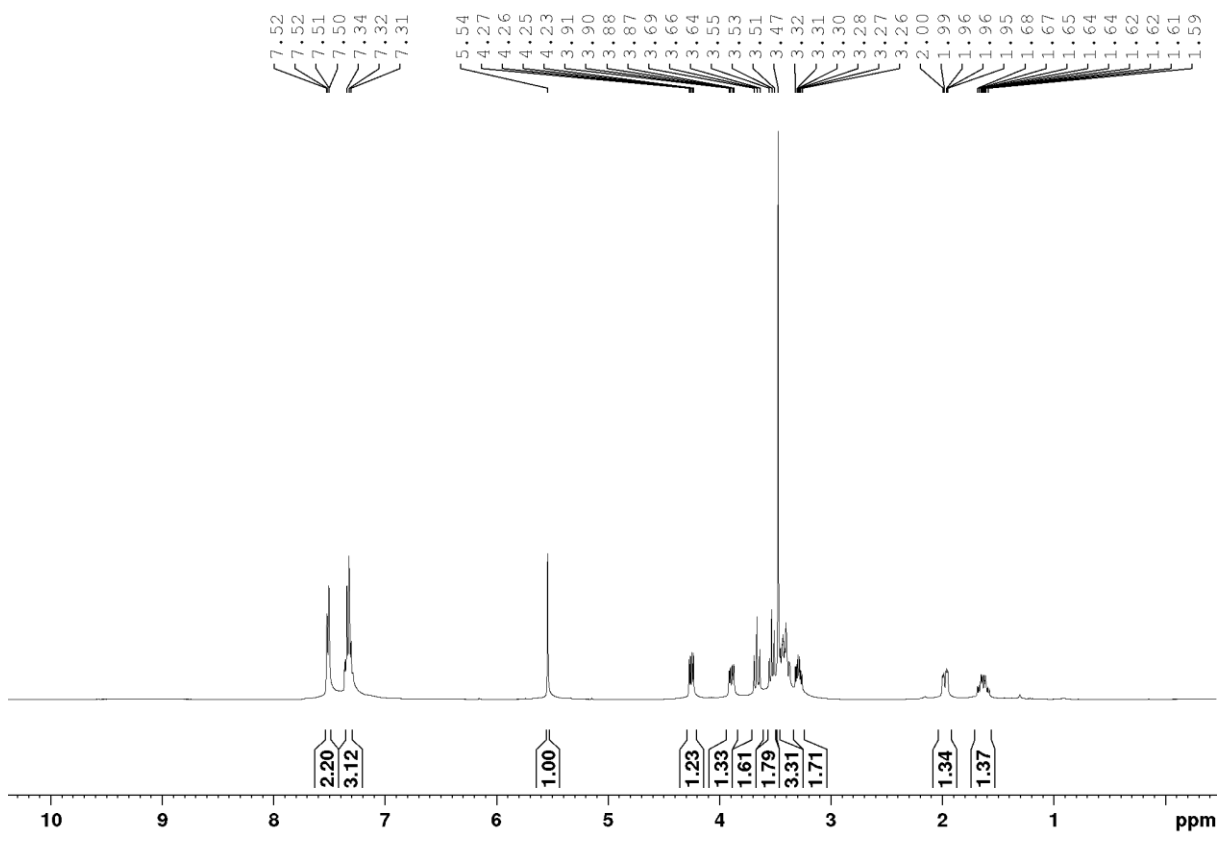
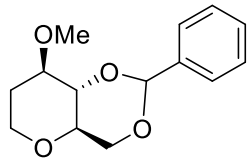
# Apéndice de espectros

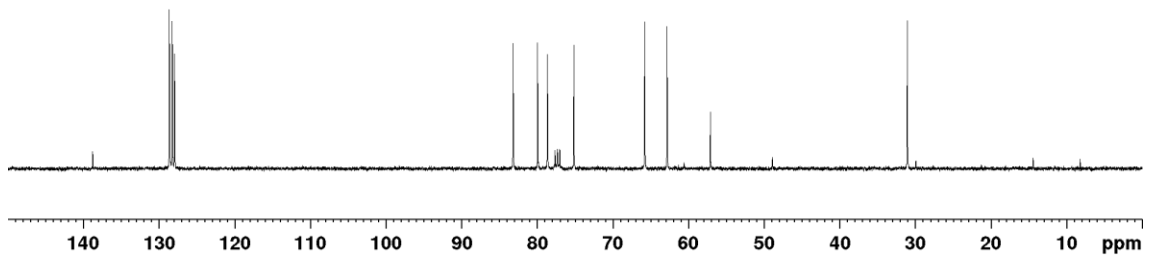
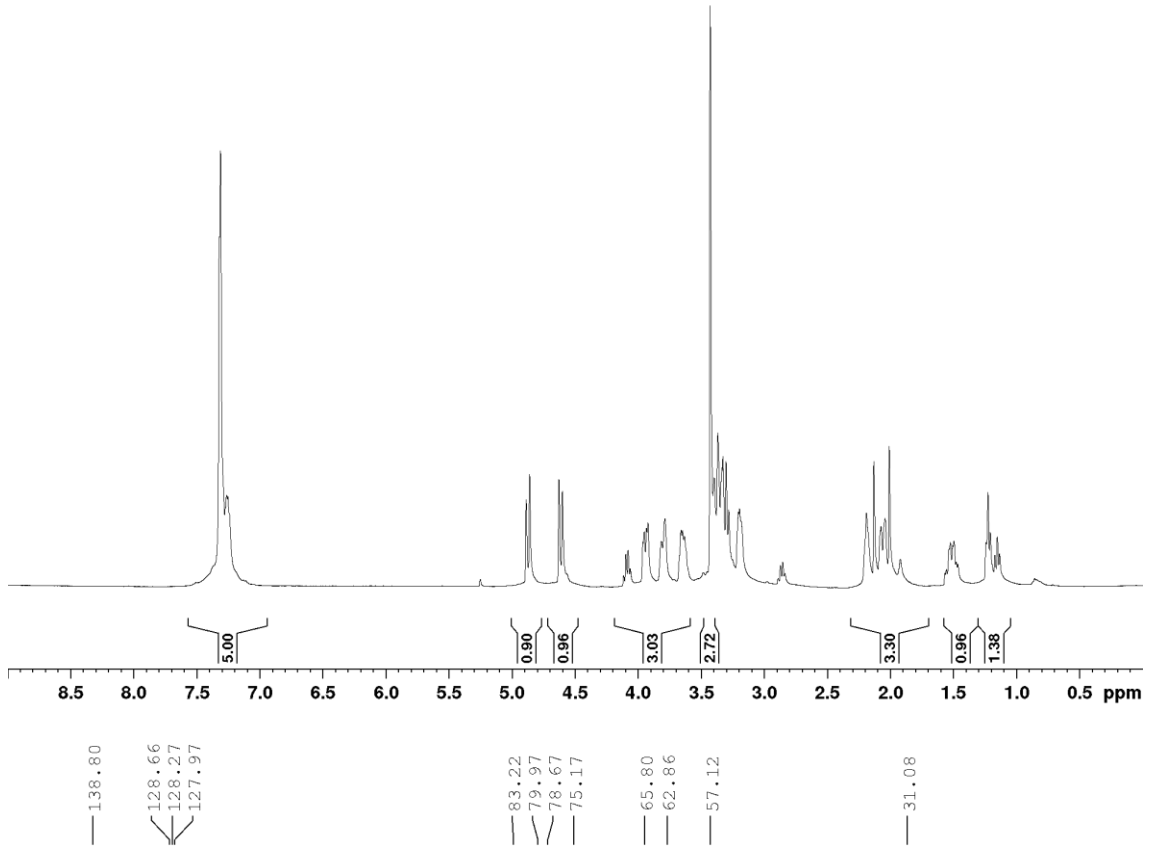
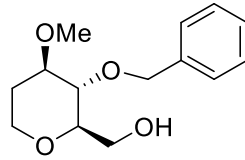


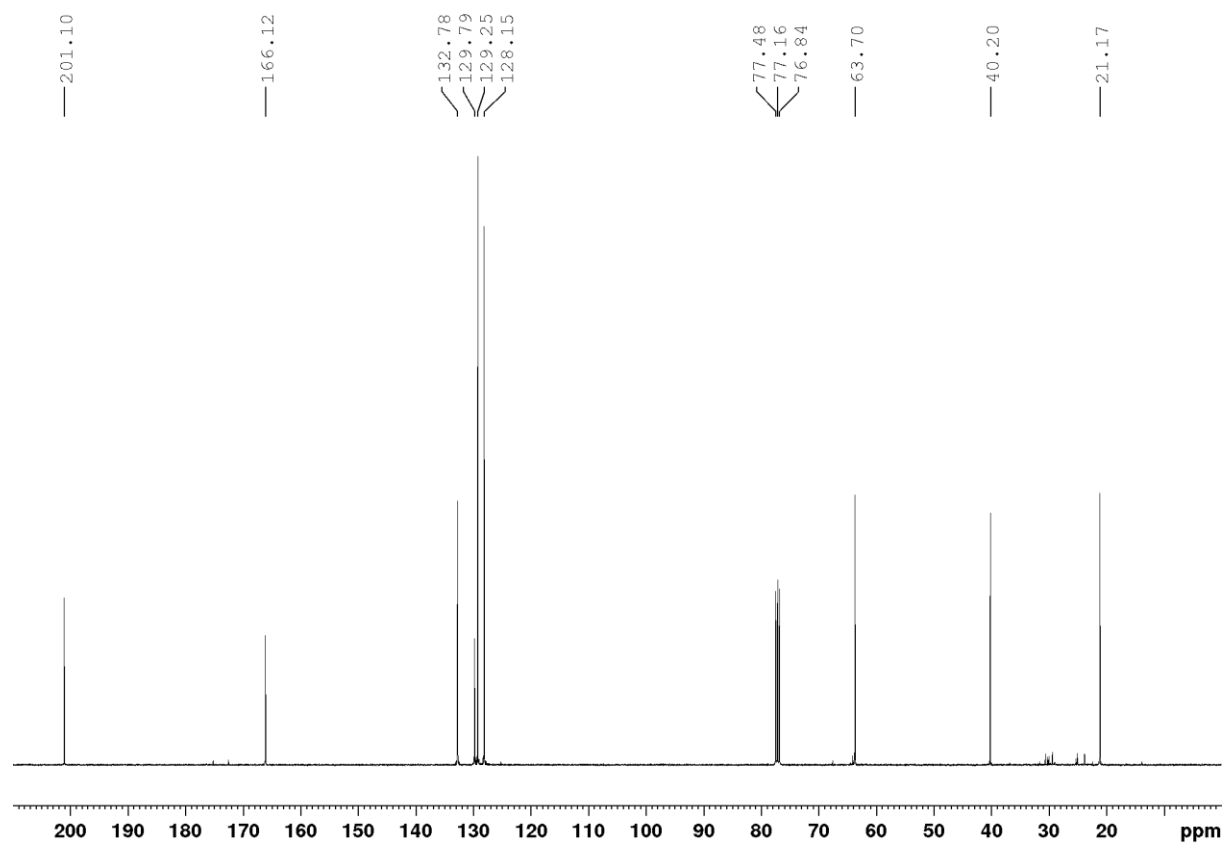
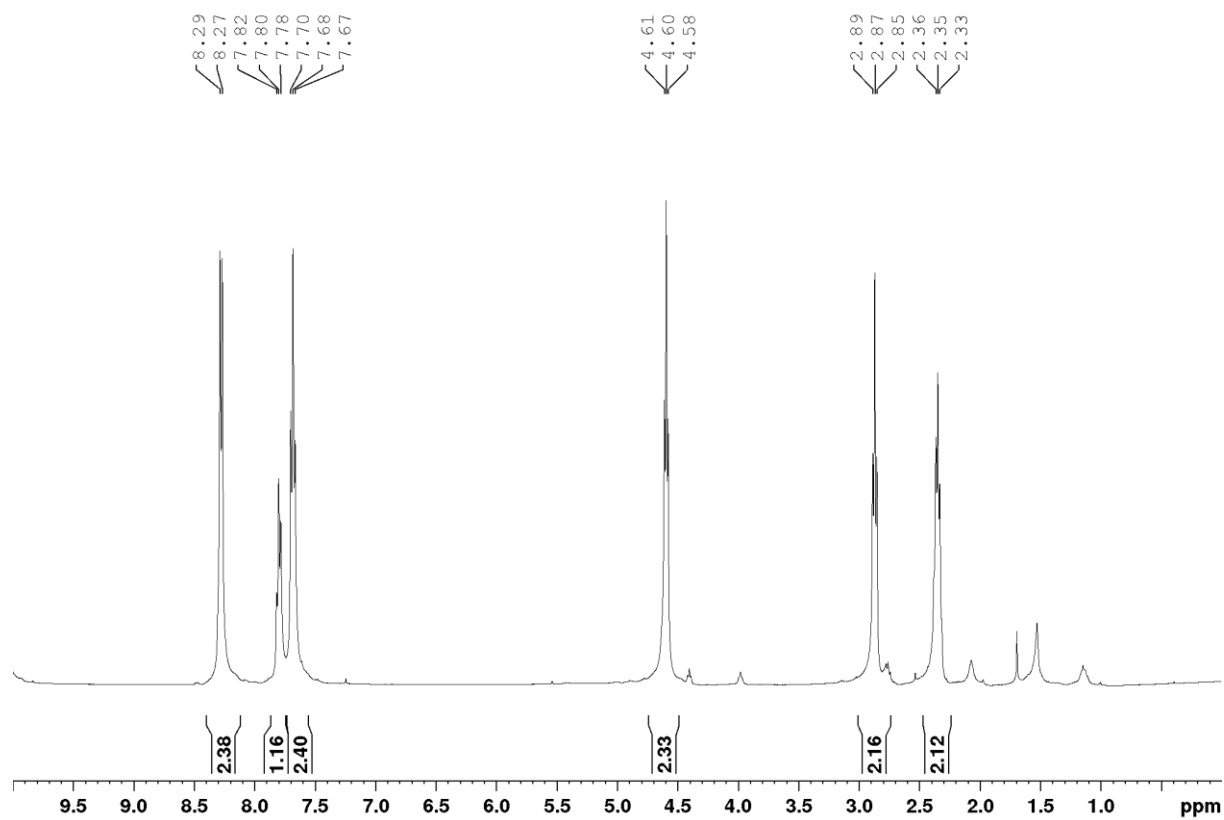
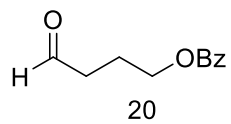


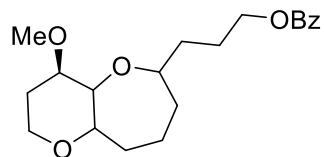












27

