CENTRO INTERNACIONAL DE ESTUDOS
DE DOUTORAMENTO E AVANZADOS
DA USC (CIEDUS)

TESE DE DOUTORAMENTO

Síntesis de 1β,25-dihidroxivitamina D_3 y 1,25-dihidroxivitamina D_3 marcada con ^{13}C

Julián Loureiro Martínez

ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN CIENCIA E TECNOLOXÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2018

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

DECLARACIÓN DO AUTOR DA TESE

Síntesis de 1β,25-dihidroxivitamina D_3 y

1,25-dihidroxivitamina D_3 marcada con ^{13}C

D. Julián Loureiro Martínez

Presento a miña tese, seguindo o procedemento adecuado ao Regulamento, e declaro que:

1) *A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.*
2) *No seu caso, na tese se fai referencia as colaboracións que tivo este traballo.*
3) *A tese é a versión definitiva presentada para a súa defensa e coincide ca versión enviada en formato electrónico.*
4) *Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio de outros autores nin de traballos presentados por min para a obtención de outros títulos.*

En Santiago de Compostela, 29 de Xuño de 2018

Asdo. Julián Loureiro Martínez

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR / TITOR DA TESE

Síntesis de 1β,25-dihidroxivitamina D_3 y 1,25-dihidroxivitamina D_3 marcada con ^{13}C

D. Antonio Mouriño Mosquera

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D. ***Julián Loureiro Martínez****, baixo a miña dirección, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.*

En Santiago de Compostela, 29 de Xuño de 2018

Asdo. D. Antonio Mouriño Mosquera

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Agradecimientos

Al Prof. Antonio Mouriño Mosquera, director de este trabajo, por darme la oportunidad de formar parte de su grupo. Por sus enseñanzas y sugerencias.

A los profesores Miguel A Maestro Saavedra por sus consejos durante estos años y por su ayuda con el análisis de muestras, a Rita Sigüeiro, por toda su ayuda, enseñanzas y consejos durante todos estos años.

A la profesora Natacha Rochel (Instituto de Genética y Biología Molecular y Celular-Illkirch, Francia) por los estudios de cristalización.

Al Dr. Lars Kattner y a ENDOTHERM GmbH por su apoyo financiero.

A Carlos Gregorio por toda la ayuda brindada. A Ramón Gesto y Mencha por la ayuda en la realización de los espectros de RMN.

A la Agencia Estatal de Investigación y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional (ref: CTQ2016-80282-P), a la Xunta de Galicia (ref: GPC2014/001) por las ayudas concedidas.

A mis compañeros de laboratorio durante todos estos años: Patricia, Rocío, Natália, Helio, Bea, Borges, Sema, Fabián, Rafa, Silvia, Álex, Alba y Tania.

Paula, Alfonso, Samu, a Sema por todos estes anos aguantándome, Andrea polas pausas e apoio, e a Patri, por animarme e facerme pensar e sorrir nos últimos meses.

En especial agradecer a Hélio, Bea e Natália, pola sua axuda e o bo ambiente proporcionado. A Ro por ser a miña guía dende o comezo ata o final e polos momentos de desconexión e motivación, e a miña compañeira, Pats, polos bos e malos momentos vividos durante este tempo, por facer esta etapa moito mais divertida, grazas amiga.

Aos amigos de toda a vida.

Por último, á miña familia, meus irmáns e miña nai, por todo o apoio e confianza.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Índice

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Abreviaturas 1

Introducción 5

1 Introducción 7

1.1 Estructura y nomenclatura 8

2 Metabolismo de la vitamina D_3 9

2.1 Fuentes de vitamina D_3 9

2.2 Activación de la vitamina D_3. Biosíntesis del calcitriol 10

2.3 Degradación metabólica de la 1,25D 12

3 Actividad biológica de la 1,25-dihidroxivitamina D_3. Aplicaciones 12

4 Transporte de la vitamina D_3 14

5 Mecanismo de acción 15

5.1 Modo de acción genómico 16

5.2 Modo de acción no genómico 17

6 Receptor nuclear de la vitamina D (VDR) 18

6.1 Dominio de unión al ADN (DBD, DNA Binding Domain) 19

6.2 Dominio de unión al ligando (LBD, Ligand Binding Domain) 20

6.3 Interacciones de la 1,25D con el VDR 22

7 Rutas de síntesis de la 1,25D y análogos 24

Objetivos 27

Discusión y resultados 31

Capítulo I: Síntesis de la 1β,25$(OH)_2D_3$ y de su análogo hexadeuterado y estudio del complejo ligando-VDR(LBD) 33

1 Antecedentes y justificación 35

2 Análisis retrosintético de **1a** y **1b** 39

3 Trabajo realizado 41

3.1 Síntesis del éster borónico ***4*** 41

3.2 Síntesis del enol-triflato ***5*** 42

3.2.1 Obtención del epóxido **17** 42

3.2.2 Obtención del enol-triflato **5** 45

*3.3 Síntesis de la 1β,25-dihidroxivitamina D_3 (**1a**) y de su derivado 26,27-hexadeuterado (**1b**)* 46

4 Estudio del complejo ligando-VDR(LBD) 47

Capítulo II: Síntesis del enol-triflato 2 precursor de la 1,25D 51

1 Antecedentes y justificación 53

2 Análisis retrosintético para la obtención de **2** 55

3 Trabajo realizado 57

*3.1 Preparación del glioxilato quiral **28*** 57

*3.2 Obtención de la cetona **26a*** 58

*3.3 Obtención del enol-triflato **2*** 60

Capitulo III: Síntesis de la 1,25D marcada con ^{13}C 65

1 Antecedentes y justificación 67

2 Análisis retrosintético de **3** 69

3 Trabajo realizado 71

*3.1 Obtención del enol-triflato **42*** 71

*3.2 Síntesis del éster borónico **41*** 73

3.3 Síntesis de la 1,25D 74

Parte experimental 77

Procedimientos generales 79

Parte experimental Capítulo I 83

(1,5*R*)-2-Metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohex-2-en-1-ol (**13**) 85

(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-1-Metil-4-(prop-1-en-2-il)-7-oxabiciclo[4.1.0]heptan-2-ol (**14**) 85

(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-1-Metil-4-(prop-1-en-2-il)-7-oxabiciclo[4.1.0]heptan-2-ol *terc*-butildimetil éter (**15**) 86

(1*S*,3*R*,5*R*,6*S*)-5-((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)-6-metil-7-oxabiciclo [4.1.0]heptan-3-ol (**16**) 87

(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-1-Metil-7-oxabiciclo[4.1.0]heptan-2,4-diol *terc*-butildimetil éter (**17**) 88

(3*R*,5*R*)-8,8-Dibromo-3,5-bis((*terc*-butildimetilsilil)oxi)oct-7-en-2-ona (**21**) 89

(3*R*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)oct-1-en-7-in-2-il trifluorometanosulfonato (**5**) 90

(*R*)-5-((1*R*,3a*S*,7a*R*,E)-4-((Z)-2-((3*R*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Butildimetilsilil) oxi)-2-metilen ciclohexiliden)etiliden)-7a-metiloctahidro-1H-inden-1-il)hexanoato de metilo (**22**) 91

1β,25-Dihidroxivitamina D_3 (**1a**) 92

26,27-Hexadeutero-1β,25-dihidroxivitamina D_3 (**1b**) 93

Parte experimental Capitulo II 95

(1*S*,2*R*)-2-Fenilciclohexan-1-ol (**31**) 97

Acrilato de (1*S*,2*R*)-2-fenilciclohexilo (**32**) 98

2-Oxoacetato de (1*S*,2*R*)-2-fenilciclohexilo (**28**) 99

Éter bencílico de 3-metilbut-3-en-1-ol (**33**) 100

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil-6-(benziloxi)-2-hidroxi-4-metilenhexanoato (**27**) 100

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (*S*)-6-(benciloxi)-2-hidroxi-4-oxohexanoato (**26a**) 101

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (2*S*,4*R*)-6-(benciloxi)-2,4-dihidroxihexanoato (**34**) 102

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (2*S*,4*R*)-6-(benciloxi)-2,4-bis((trietilsilil)oxi)hexanoato (**25**) 103

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (2*S*,4*R*)-6-hidroxi-2,4-bis((trietilsilil)oxi)hexanoato (**35**) 104

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil-(2*S*,4*S*)-6-oxo-2,4-bis((trietilsilil)oxi)hexanoato (**36**) 105

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (2*S*,4*R*)-7,7-dibromo-2,4-bis((trietilsilil) oxi)hept-6-enoato (**37**) 106

(2*S*,4*R*)-7,7-Dibromo-2,4-bis((trietilsilil)oxi)hept-6-enal (**38**) 107

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((Trietilsilil)oxi)oct-7-in-2-ol (**39**) 107

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((trietilsilil)oxi)oct-7-in-2-ona (**40**) 108

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((Trietilsilil)oxi)oct-1-en-7-in-2-il trifluorometano sulfonato (**2**) 108

Parte experimental Capitulo III 111

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Buildimetilsilil)oxi)oct-7-in-2-ol (**45**) 113

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)oct-7-in-2-ona (**46**) 113

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)oct-1-en-7-in-2-il-trifluorometanosulfonato (**42**) 114

(1*R*,3a*R*,4*S*,7a*R*)-1-((*R*)-6-Hidroxi-6-metilheptan-2-il)-7a-metiloctahidro-1H-inden-4-ol (**47**) 115

(1*R*,3a*R*,7a*R*)-1-((*R*)-6-Hidroxi-6-metilheptan-2-il)-7a-metiloctahidro-4H-inden-4-ona (**48**) 116

(*R*)-6-((1*R*,3a*R*,7a*R*,E)-4-(Bromometilen)-7a-metiloctahidro-1H-inden-1-il)-2-metilheptan-2-ol (**49**) 116

(*R*)-2-Metil-6-((1*R*,3a*S*,7a*R*,E)-7a-metil-4-((4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) metilen)octahidro-1H-inden-1-il)heptan-2-ol (**41**)..... 117

[^{13}C (19, 23, 24, 25, 26, 27] 1,25-Dihidroxivitamina D_3 (**3**) 118

Conclusiones 121

Resumen 125

Resumen Capítulo I 127

Resumen Capítulo II 133

Resumen Capítulo III 137

Apéndices 141

Espectros de RMN 143

Espectros Capítulo I 145

Espectros Capítulo II 157

Espectros Capítulo III 175

Bibliografía 185

Índice de estructuras 191

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Abreviaturas

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

$1\alpha,25(OH)_2D_3$	1α,25-dihidroxivitamina D_3
$1\beta,25(OH)_2D_3$	1β,25-dihidroxivitamina D_3
1,25D	1α,25-dihidroxivitamina D_3
1α-OH-asa	25-Hidroxivitamina D_3 1α-hidroxilasa
24-OH-asa	25-Hidroxivitamina D_3 24-hidroxilasa
25-OH-asa	Vitamina D_3 25-hidroxilasa
25-OH-D_3	25-Hidroxivitamina D_3
acac	Acetilacetonato
Ar	Aromático
Arg	Arginina
bar	Bares
^{n}Bu	Butilo
^{t}Bu	*terc*-Butilo
^{13}C-RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
c	Cuadruplete
Cy	Ciclohexilo
d	Doblete
DBD	Dominio de unión al ADN (*DNA Binding Domain*)
DBP	Proteína transportadora de vitamina D
dd	Doble doblete
ddd	Doble doblete de dobletes
$(DHQ)_2PHAL$	1,4-Ftalacina-dieter-hidroquinina
DIBAL-H	Hidruro de diisobutilaluminio
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	*N*,*N*-Dimetilformamida
DMP	Peryodinano de Dess-Martin
DMSO	Dimetilsulfóxido
ADN	Ácido desoxirribonucleico
dppf	Difenilfosfinoferroceno
dt	Doblete de tripletes
ESI	Ionización por electrospray
Et	Etilo
^{1}H-RMN	Resonancia magnética nuclear de protón
His	Histidina
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
Hz	Hertz
Im	Imidazol
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
kDa	KiloDalton

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

LBD	Dominio de unión al ligando
LDA	Diisopropilamiduro de litio
Leu	Leucina
m	Multiplete
M	Ion molecular
MHz	MegaHertz
MPLC	Cromatografía líquida de media presión
MS	Espectrometría de masas
MTBE	*terc*-Butil metil éter
nm	Nanómetro
PDB	Protein Data Bank
PDC	Dicromato de piridinio
PF	Punto de fusión
Ph	Fenilo
Phe	Fenilalanina
pin	Pinacolato
pin_2B_2	*Bis*(pinacolato)diborano
Py	Piridina
^{i}Pr	Isopropilo
^{i}PrOH	Isopropanol
R_f	Factor de retención
RXR	Receptor nuclear X del ácido 9-*cis*-retinoico
s	Singulete
sa	Singulete ancho
Ser	Serina
t	Triplete
ta	Temperatura ambiente
TBHP	*terc*-Butilhidroperóxido
TBAF	Fluoruro de tetrabutilamonio
TBS	*terc*-Butildimetilsililo
TES	Trietilsililo
Tf	Trifluorometanosulfonilo
THF	Tetrahidrofurano
Trp	Triptófano
Tyr	Tirosina
UV	Ultravioleta
Val	Valina
VDR	Receptor nuclear de la vitamina D
VDREs	Elementos de respuesta a la vitamina D
z-VDR(LBD)	Dominio de unión al ligando del receptor de la vitamina D de pez cebra
W	Watts

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

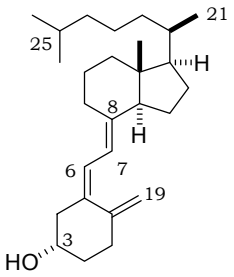
Introducción

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

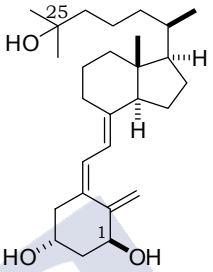
1 Introducción

En el año 1919 Mellanby relacionó el raquitismo con un factor nutricional, la vitamina A.[1] Pero no fue hasta tres años más tarde cuando McCollum *y col.* demostraron que este factor nutricional era realmente la vitamina D.[2] Posteriormente se descubrió que la forma activa de la vitamina D en el ser humano era la vitamina D_3 (Figura 1).

Figura 1. *Estructuras de la vitamina D_3 y de la 1α,25-dihidroxivitamina D_3 (calcitriol).*



Vitamina D_3



1α,25-dihidroxivitamina D_3
[$1\alpha,25(OH)_2D_3$, 1,25D o calcitriol]

La vitamina D necesita transformarse en la hormona 1α,25-dihidroxivitamina D_3 [$1\alpha,25(OH)_2D_3$, 1,25D o calcitriol] para ejercer sus actividades biológicas.[3] De esta hormona se sabe que es fundamental en la homeostasis del calcio y fósforo,[4] así como en el control de la proliferación y diferenciación celular y el sistema inmunológico.[5]

Como consecuencia de estas actividades biológicas se propuso el uso del calcitriol en diferentes tipos de enfermedades, pero desafortunadamente las dosis necesarias para producir la acción terapéutica provocan efectos calcémicos en el

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

---

(1) **(a)** Mellanby E. Cantag MD. Experimental investigation on rickets. *Lancet* **1919**, *196*, 407-412. **(b)** Mellanby E. Experimental rickets. Med Res. (G.B.), *Special Report Series* **1921**, *SRS-61*, 1-78.

(2) McCollum EV, Simmonds N, Becker IE, Shipley PG. Studies on experimental rickets: XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J. Biol. Chem.* **1922**, *53*, 293-312.

(3) Lund J, DeLuca HF. Biologically active metabolite of vitamin D_3 from bone, liver, and blood serum. *J. Lipid Res.* **1966**, *7*, 739-744.

(4) **(a)** Norman AW. *Vitamin D: The calcium homeostatic steroid hormone*. Academic Press: New York, **1979**. **(b)** Chen TC, Castillo L, Korycka-Dahl M, DeLuca HF. Role of vitamin D metabolites in phosphate transport of rat intestine. *J. Nutr.* **1974**, *104*, 1056-1060.

(5) **(a)** DeLuca HF, Zierold C. Mechanisms and functions of vitamin D. *Physiol. Rev.* **1998**, *56*, 54-75. **(b)** Bouillon R, Okamura WH, Norman AW. Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. *Endocr. Rev.* **1995**, *16*, 200-257.

organismo. Esto ha despertado en interés en el desarrollo de análogos del calcitriol, con efectos terapéuticos similares pero con bajos efectos calcémicos.[6]

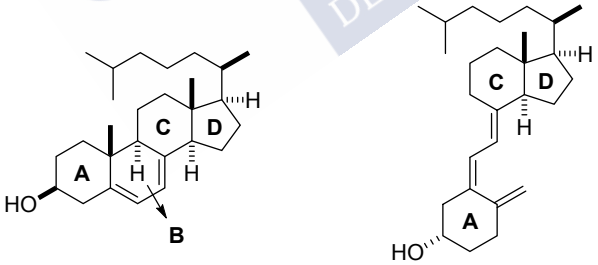
1.1 Estructura y nomenclatura

La vitamina D_3 pertenece a la familia de hormonas esteroidales. La estructura esteroidal se caracteriza por la presencia de tres anillos de seis miembros fusionados (anillos **A**, **B** y **C**) junto con otro anillo de cinco miembros (anillo **D**), formando un sistema conocido como ciclopentanoperhidrofenantreno.

En la estructura de la vitamina D_3 destacan cuatro elementos, la cadena lateral, el biciclo **CD**, el anillo **A** y el sistema triénico.

La presencia del sistema triénico característico de la vitamina D_3, derivado de la ruptura fotoquímica del anillo **B**, determina la clasificación de la vitamina D_3 como un *seco*-esteroide. En este tipo de estructuras los sustituyentes de la cara superior se denominan β, mientras que los de la cara inferior α. Como consecuencia de la apertura del anillo **B**, el anillo **A** de la vitamina D_3 se gira 180º con respecto a la orientación en el 7-deshidrocolesterol, por lo que los sustituyentes que quedan en la cara superior del anillo **A** se denominan α y los de la parte inferior β (Figura 2).[7]

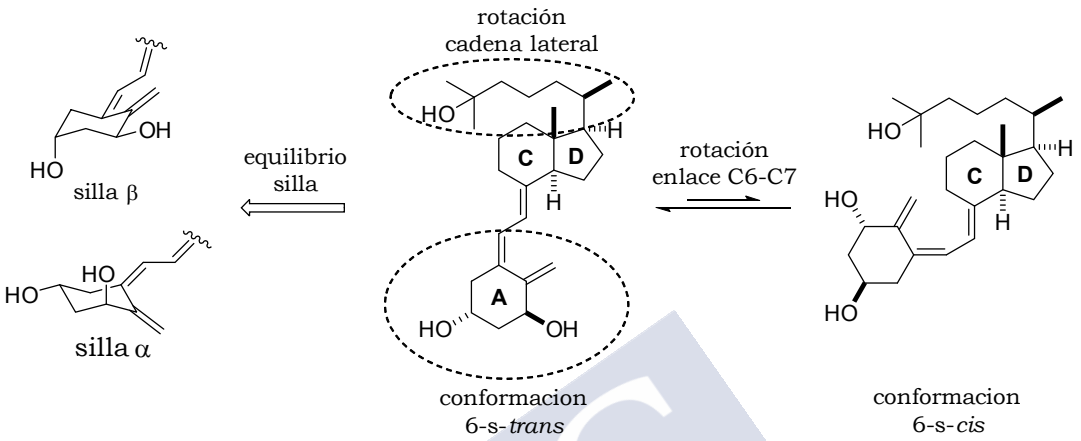
Figura 2. *Estructura de la vitamina D_3 y de su precursor esteroidal.*



(6) Calberg C, Mouriño A. New vitamin D receptor ligands. *Expert Opin. Ther. Patents* **2003**, *13*, 761-722.
(7) **(a)** Definitive rules of nomenclature of steroids. *Pure Appl. Chem.* **1972**, *31*, 283-322. **(b)** Nomenclature of vitamin D. *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 1511-1516.

Esta estructura *seco*-esteroidal, derivada de la ruptura del anillo **B** de su precursor, hace que la vitamina D_3 y sus metabolitos presenten una mayor flexibilidad conformacional que su precursor y que otras hormonas esteroidales (Figura 3).

Figura 3. *Flexibilidad conformacional de la hormona 1,25D.*



La cadena lateral posee cinco enlaces sencillos con libre giro. El sistema triénico también puede girar en el enlace sencillo C6-C7, presentando dos conformaciones planas en equilibrio, la 6-s-*trans* y la 6-s-*cis*. Además de esto, el anillo **A** presenta dos conformaciones de tipo silla en equilibrio, la silla α con el hidroxilo de la posición C1 en axial y el de la posición C3 en ecuatorial y la silla β con las orientaciones de los hidroxilos invertidas.[8]

2 Metabolismo de la vitamina D_3

2.1 Fuentes de vitamina D_3

Las vitaminas son nutrientes esenciales que no pueden ser sintetizados por el organismo, por lo que deben de ser obtenidos mediante la ingesta en la dieta. La vitamina D_3 puede obtenerse mediante dos vías, la exógena y la endógena. Según esto y la definición de vitamina, la vitamina D_3 no debería ser considerada como

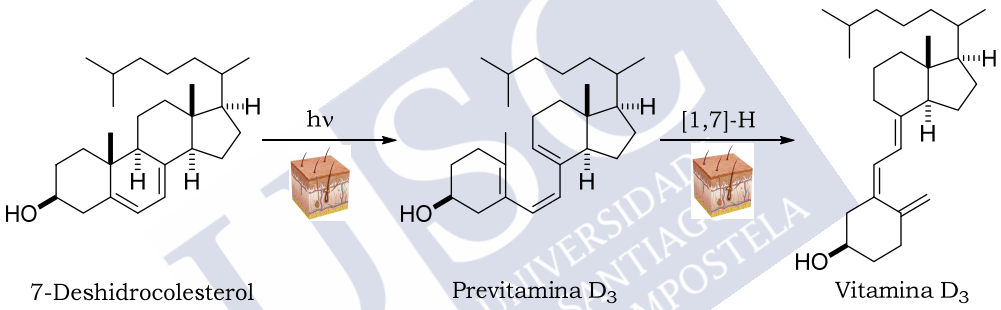
(8) Zhu GD, Okamura WH. Synthesis of vitamin D. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1877-1952.

una vitamina, pero por razones históricas y nutricionales se sigue considerando como tal.

La vitamina D_3 obtenida a través de la dieta proviene principalmente de aceites de pescado, aunque actualmente, muchos alimentos están enriquecidos con vitamina D_3, por lo que las cantidades mínimas recomendables son fácilmente obtenidas mediante esta vía.[9]

Sin embargo, la principal fuente de vitamina D_3 es la endógena. La ruta metabólica de biosíntesis de vitamina D_3 consiste en la apertura fotoquímica del anillo **B** del 7-deshidrocolesterol presente en la piel, mediante la acción de la radiación solar. La previtamina producida tras esta apertura se transforma en la vitamina D_3 mediante un desplazamiento sigmatrópico antarafacial [1,7] de hidrógeno (Esquema 1).[10]

Esquema 1. *Biosíntesis de la vitamina D_3.*



2.2 Activación de la vitamina D_3. Biosíntesis del calcitriol

En 1968 De Luca y *col.* demostraron que las actividades biológicas asociadas a la vitamina D_3 tenían lugar mediante metabolitos más polares. En este estudio se identificó la 25-hidroxivitamina D_3, como el metabolito más abundante de la vitamina D_3 y se relacionó con la regulación de la absorción de calcio y fósforo en

(9) Andersen R, Brot C, Ovensen L. Towards a strategy for optimal vitamin D fortification. *NMCD* **2001**, *11*, 74-77.

(10) **(a)** Holick MF, Schoes HK, DeLuca HF, Gray RW, Boyle IT, Suda T. Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry* **1971**, *10*, 2799-2805. **(b)** Holick MF, Tian XQ, Allen M. Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D_3 in the skin of poikilothermic animals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA **1995**, *92*, 3124-3126.

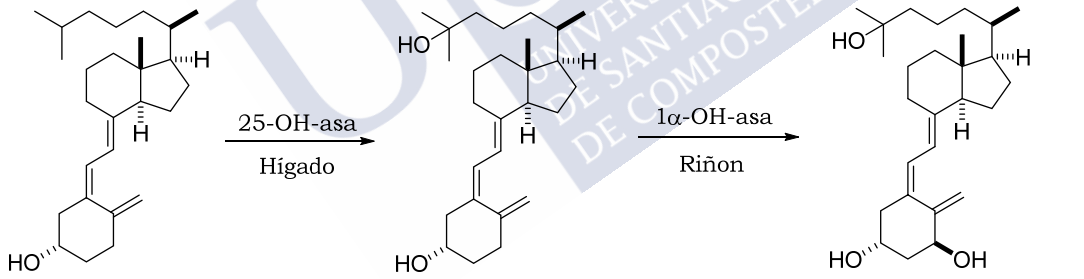
el intestino.[11] Sin embargo, a pesar de ser el metabolito más abundante de la vitamina D_3, no es su forma activa, sino que es transportada hacia el riñón unido a la proteína transportadora (DBP), en donde sufre una segunda hidroxilación en la posición C1, para formar la 1,25D.

La 25-hidroxivitamina D_3 se biosintetiza en el hígado (Esquema 2). Esta hidroxilación de la posición C25 está catalizada por la enzima vitamina D_3-25-hidroxilasa (CYP2R1).[12] Este proceso metabólico está regulado por los niveles de vitamina D_3 y de otros metabolitos mediante procesos de retroalimentación.

Esta segunda hidroxilación está catalizada por la 25OHD-1α-hidroxilasa (CYP27A1). La 1α,25-dihidroxivitamina D_3 (1,25D, calcitriol) es el metabolito más activo de la vitamina D_3 y actúa como las hormonas esteroidales.

La concentración de calcitriol en el plasma sanguíneo está también regulada por procesos de retroalimentación dependiente de las concentraciones de diferentes metabolitos de la vitamina D_3 y de la hormona paratiroidea.[13]

Esquema 2. *Activación metabólica de la vitamina D_3.*



Vitamina D_3 25-hidroxivitamina D_3 1α,25-dihidroxivitamina D_3

(11) **(a)** Blunt JW, DeLuca HF, Schnoes HK. 25-Hydroxycholecalciferol. A biologically active metabolite of vitamin D2. *Biochemistry* **1969**, *35*, 182-185. **(b)** Horsting M, DeLuca HF. In vitro production of 25-hydroxycholecalciferol. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1969**, *36*, 251-256.

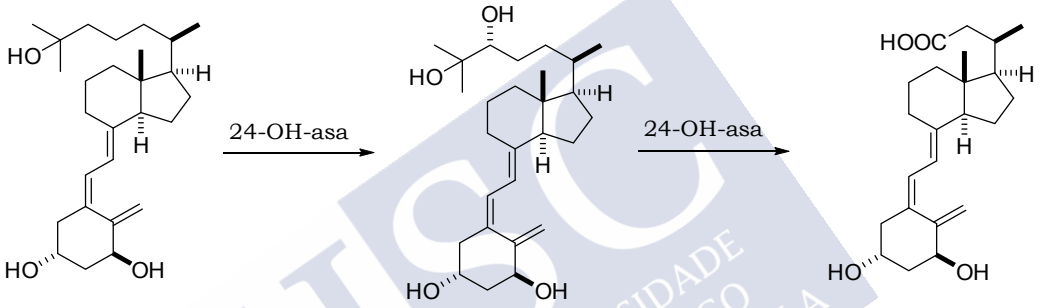
(12) Masumoto O, Ohyama Y, Okuda K. Purification and characterization of vitamin D 25–hydroxylase from rat liver mitocondria. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 14256-14260.

(13) Dean DD, Boyan BD, Schwart Z, Muniz OE, Carreno MR, Maeda S, Howell DS. Effect of 1α,25-dihydroxyvitamin D3 and 24*R*,25-dihydroxyvitamin D3 on metalloproteinase activity and cell maturation in growth plate cartilage *in vivo*. *Endocrine* **2001**, *14*, 311-323.

2.3 Degradación metabólica de la 1,25D

La degradación de la 1,25D en el organismo se lleva a cabo mediante la ruptura oxidativa de la cadena lateral. Esta ruta se inicia con una hidroxilación en la posición C-24, catalizada por la enzima 25-hidroxivitamina D_3-24-hidroxilasa (CYP24A1, 24-OH-asa), que se distribuye por los diferentes tejidos diana de la hormona. Esta enzima es capaz de oxidar tanto el calcitriol como la $25OHD_3$.[14] Esta enzima se cree que puede catalizar sucesivas hidroxilaciones en la cadena lateral, dando lugar a metabolitos con menor actividad, hasta llegar al ácido calcitroico, producto final de esta ruta de degradación, inerte biológicamente e hidrosoluble, por lo que su excreción resulta fácil a través de la orina[15] (Esquema 3).

Esquema 3. *Degradación del calcitriol a ácido calcitroico.*



1,25D $1\alpha,24R,25(OH)_3D_3$ Ácido calcitroico

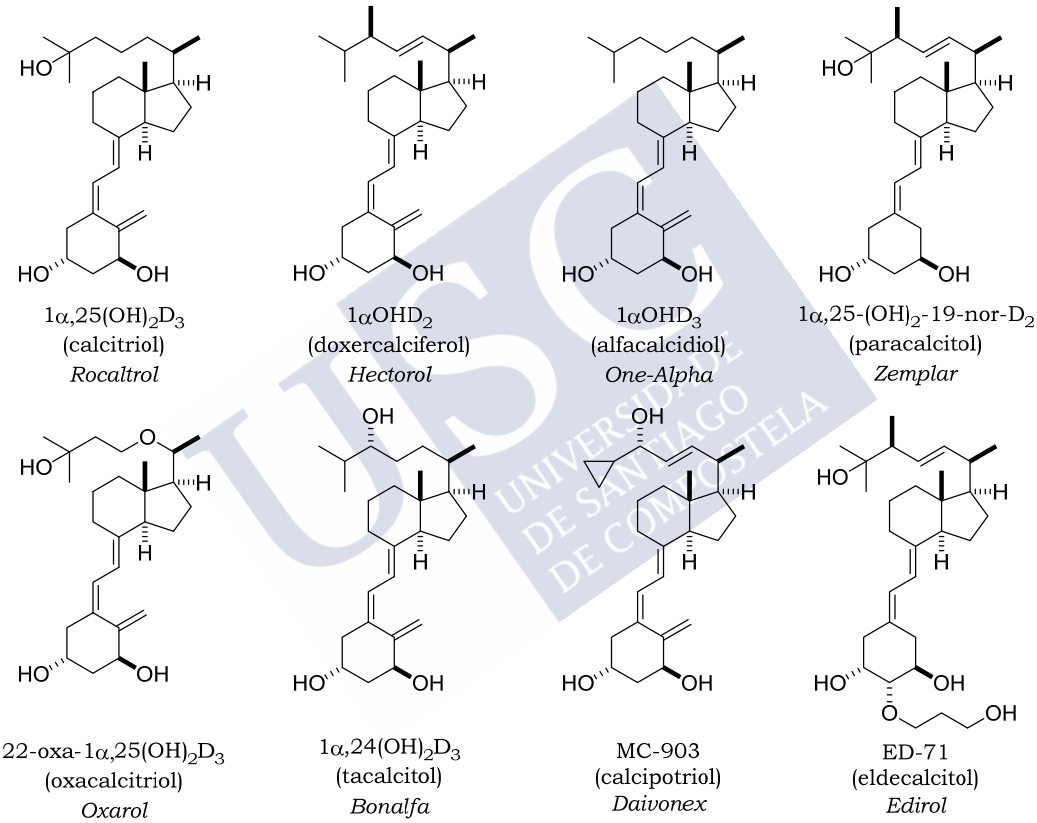
3 Actividad biológica de la 1α,25-dihidroxivitamina D_3. Aplicaciones

La vitamina D_3, a través de su metabolito más activo, la 1α,25-dihidroxivitamina D_3 (1,25D), regula numerosos procesos biológicos como la homeostasis mineral y varios procesos celulares como la diferenciación, la inhibición de la proliferación, la apoptosis, y también procesos inmunológicos.[16] Estas actividades han llevado a considerar a la hormona como un fármaco potencial en el tratamiento de

(14) **(a)** Tanaka Y, Castillo L, DeLuca HF, Ikekawa N. The 24-hydroxilation of 1,25-dihydoxyvitamin D_3. *J. Biol. Chem.* **1977**, *252*, 1421-1424. **(b)** Tanaka Y, Castillo L, De Luca HF, Ikekawa N. On the physiological role of 1,24,25-trihydroxyvitamin D_3. *Miner. Electrolyte Metab.* **1978**, *1*, 198-207.
(15) Ponchon G, DeLuca HF. Metabolism nd biologiacal activity of vitamin D. *Calc. Tiss. Res.* **1970**, *4*, 43-44.
(16) **(a)** Vitamin D. Feldman D, Glorieoux FH, Pike JW, (Eds.). Academic Press: New York, **2005**. **(b)** Dusso AS, Brown AJ, Slatopolski E. Vitamin D. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* **2005**, *289*, F8-F28.

diferentes tipos de canceres, psoriasis y osteoporosis. A pesar de esto, la utilidad de la 1,25D en este tipo de tratamientos está limitada debido a los efectos de hipercalcemia que provoca a las dosis farmacológicas requeridas.[17] El potencial terapéutico de la hormona 1,25D en diferentes tipos de enfermedades ha propiciado la síntesis de más de 3000 análogos modificados en diversas posiciones con el fin de mejorar sus propiedades. Desafortunadamente solo un pequeño número de análogos sintetizados ha encontrado aplicación clínica (Figura 4). Otros análogos se encuentran en fase preclínica para su posible uso en el tratamiento del cáncer y la osteoporosis (Figura 5).[18]

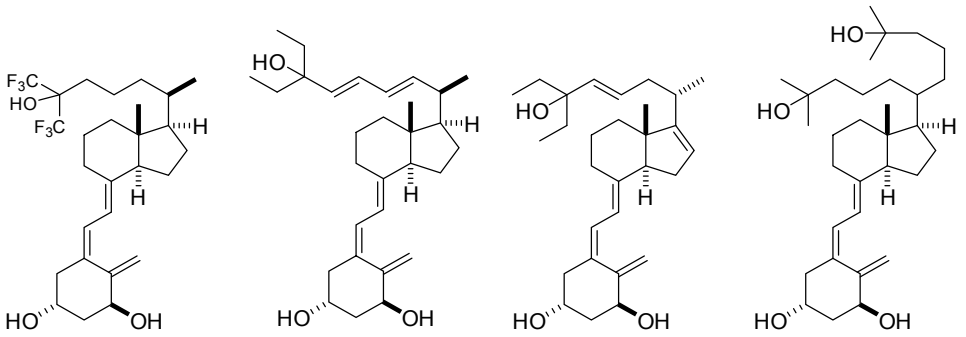
Figura 4. *Análogos de la vitamina D en fase clínica, incluida la propia hormona.*



(17) **(a)** Ettinger RA, DeLuca HF. The vitamin D endocrine system and its therapeutical potential. *Adv. Drug Res.* **1996**, *28*, 269-312. **(b)** Stein MS, Wark DL. An update on the therapeutic potential of the vitamin D analogues. *Expert. Opin. Invest. Drugs.* **2003**, *12*, 825-840. **(c)** Debb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 684-700.

(18) Calberg C, Molnar F. Current status of vitamin D signaling and its therapeutic applications. *Curr. Top. Med. Chem.* **2012**, *12*, 528-547.

Figura 5. *Análogos en fase preclínica para el tratamiento del cáncer.*



Falecalcitriol (Taisho-Sumitomo) | Seocalcitol (Leo) | Ro 26-9228 (Hoffman-La Roche) | Gemini (Uskokovic)

4 Transporte de la vitamina D_3

Las actividades de la vitamina D_3 tienen lugar mediante sus metabolitos más polares. Debido a su carácter lipofílico, es necesario que estos metabolitos [25OHD_3, 24*R*,25$(OH)_2D_3$ y 1,25D] se unan a la proteína transportadora de la vitamina D_3 (DBP, Vitamin D Binding Protein)

La DBP además de realizar las funciones de transporte de los metabolitos por el torrente sanguíneo hasta los órganos diana, cumple la función de protegerlos de la degradación metabólica.[19] Esta función de la proteína ayuda a aumentar el tiempo de vida media en el organismo, prolongando sus efectos biológicos. Este último aspecto es de especial interés para el diseño de análogos de la vitamina D, ya que las actividades biológicas de este tipo de compuestos dependen de su concentración libre. Además la DBP también está involucrada en la regulación de los niveles de la 25OHD_3, evitando el incremento de su concentración en el torrente sanguíneo y la consecuente intoxicación por vitamina D_3.[20]

Desde el año 2002 se conoce la estructura cristalina de la DBP unida a la 25-hidroxivitamina D_3, en forma de dímero, uniéndose una de las cadenas a una

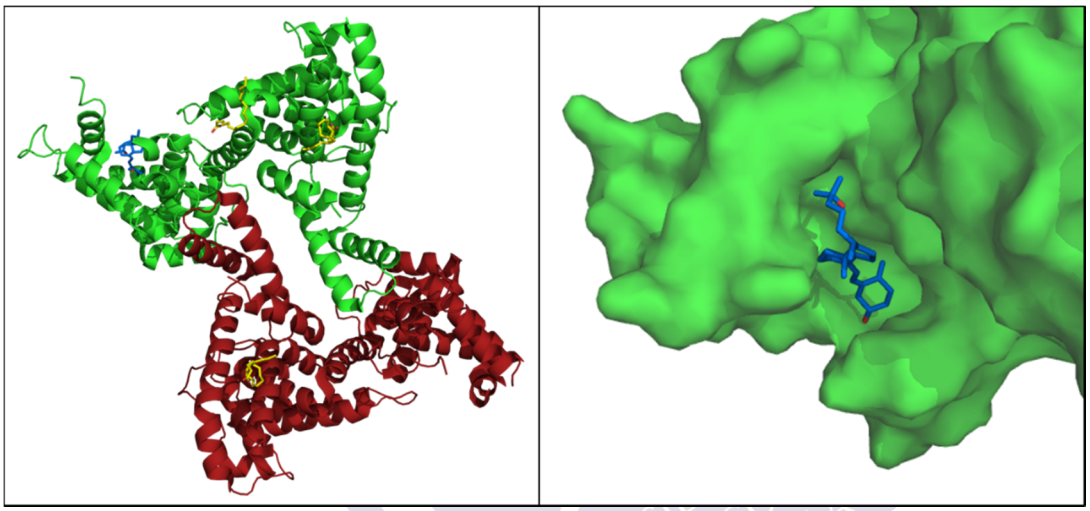
(19) White P, Cooke N. The multifunctional properties and characteristics of vitamin D binding protein. *Trends Endocr. Metab.* **2000**, *16*, 320-327.

(20) Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **2005**, *289*, F8-28.

molécula de ácido oleico y la otra a una molécula de 25OHD$_3$ y a dos moléculas de ácido oleico (Figura 6).

Esta estructura cristalina muestra que la 25OHD$_3$ se une en una hendidura hidrofóbica en la superficie de la proteína, quedando este metabolito en contacto con el medio acuoso exterior a la proteína, lo que es compatible con la función de transporte que realiza esta proteína.[21]

Figura 6. *Estructura cristalográfica de la DBP (código PDB: 1J78).*[22]



5 Mecanismo de acción

La vitamina D tiene dos mecanismos de acción, uno genómico y otro no genómico. El mecanismo de acción no genómico es de respuesta inmediata (del orden de minutos o segundos), por lo que la expresión de genes no permite explicar estas respuestas. Mientras que el mecanismo genómico es de respuesta tardía debido a la necesidad de activar la expresión genómica.

(21) Verboven C, Rabijns A, De Maeyer M, Van Baelen H, Bouillon R, Ranter C. A structural basis for the unique binding features of the human vitamin D-binding protein. *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 131-136.

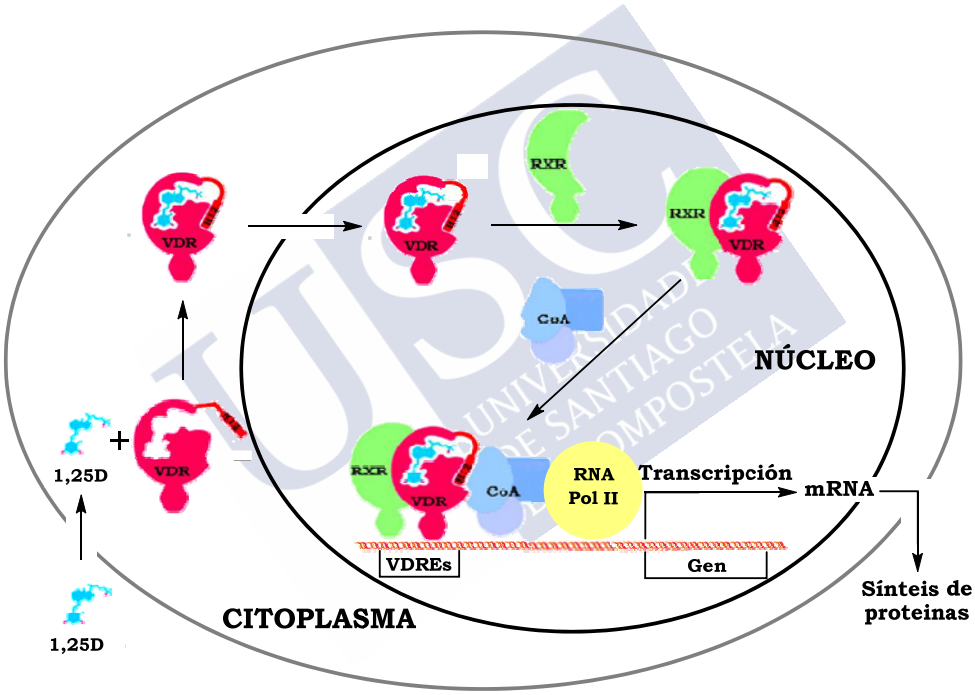
(22) **(a)** Las imágenes de estructuras cristalinas presentes en esta memoria se obtuvieron de la base de datos de estructuras cristalográficas RCSB PDB, www.rcsb.org. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliand G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 235-242. **(b)** Las representaciones tridimensionales de moléculas y proteínas se realizaron empleando el software PyMOL Molecular Graphics System, Versión 1.8 Schrödinger, LLC.

5.1 Modo de acción genómico

La mayoría de los procesos biológicos regulados por la 1,25D tienen lugar mediante este modo de acción, necesitando de la interacción con su receptor nuclear, el receptor nuclear de la vitamina D_3 (VDR).

De este modo la 1,25D transportada por la DBP, atraviesa la membrana celular y llega al citoplasma. Una vez dentro de la célula diana la 1,25D se une rápidamente al VDR que puede estar tanto en el citoplasma como en el núcleo de la célula. En cualquiera de los casos, la 1,25D pasa rápidamente al núcleo celular, que es donde realiza sus funciones (Esquema 4).[23]

Esquema 4. *Mecanismo de acción genómico.*



La unión del ligando al receptor provoca un cambio conformacional importante en el extremo C-terminal del dominio de unión al ligando (LBD) del VDR, cerrándose la hélice 12 sobre la hormona. El complejo formado por la unión de la hormona al VDR se une al receptor X del ácido 9-*cis*-retinoico (RXR), ya que por sí mismo el complejo no es capaz de

(23) Kawata M. Subcellular steroid/nuclear receptor dynamics. *Arch. Histol. Cytol.* **2001**, *64*, 353-368.

inducir la transcripción genética. El heterodímero resultante, formado por ambos receptores nucleares, con ayuda de cofactores, interacciona con zonas específicas del ADN para poner en marcha la maquinaria transcripcional responsable de la formación de proteínas que inducen las respuestas biológicas.

5.2 Modo de acción no genómico

El modo de acción genómico se caracteriza por dar lugar a respuestas rápidas, del orden de segundos o minutos. Dentro de este tipo de respuestas se encuentran la regulación de la transcaltaquia (estimulación de la absorción rápida de Ca^{2+} intestinal), la secreción de insulina por parte de las células pancreáticas, la apertura de los canales de Ca^{2+} y Cl^- en osteoblastos o la migración de células endoteliales.[24]

La imposibilidad de explicar este tipo de respuestas generadas por la 1,25D mediante un mecanismo de transcripción y expresión génica ha llevado a la propuesta de la existencia de un receptor localizado en la membrana plasmática o cerca de ella, capaz de explicar este tipo de respuestas rápidas de la hormona.[25]

Para intentar elucidar el mecanismo de acción de las respuestas rápidas se han llevado a cabo diferentes estudios con diferentes análogos de la vitamina D_3 con actividad agonista para las respuestas rápidas. De estos estudios se saca la conclusión de que la conformación 6-s-*cis* (Esquema 5) es más apropiada para desencadenar las respuestas rápidas.[26]

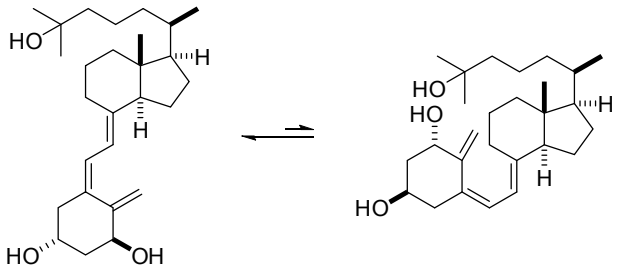
USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(24) **(a)** Norman AW, Mizwicki MT, Norman DP. Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2004**, *3*, 27-41. **(b)** Norman AW. Vitamin D receptor: New assignments for an already busy receptor. *Endocrinology* **2006**, *147*, 5542–5548. **(c)** Zanello LP, Norman AW. Stimulation by 1α,25(OH)$_2$-vitaminD$_3$ of whole cell chloride currents in osteoblastic ROS 17/2.8 cells: a structure-function study. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 22617–22622.

(25) Huhtakangas JA, Olivera CJ, Bishop JE, Zanello LP, Norman AW. The vitamin D receptor is present in caveolae-enriched plasma membranes and binds 1α,25(OH)$_2$-vitamin D$_3$ in vivo and in vitro. *Mol. Endocrinol.* **2004**, *18*, *2660–2671*.

(26) Norman AW, Okamura WH, Hammond MW, Bishop JE, Dormanen MC, Bouillon R, Van Baelen H, Ridall AL, Daane E, Khoury R, Farach-Carson MC. Comparison of 6-s-*cis* and 6-s-*trans* locked analogs of 1α,25(OH)$_2$-vitamin D$_3$ indicates that the 6-s-*cis* conformation is preferred for rapid nongenomic biological responses and that neither 6-s-*cis* nor 6-s-*trans* locked analogs are preferred for genomic biological responses. *Mol. Endocrinol.* **1997**, *11*, 1518–1531.

Esquema 5. *Diferentes conformaciones de la 1,25D.*



Conformación 6-s-*trans* Conformación 6-s-*cis*

Los intentos de identificación del receptor que regula las respuestas rápidas de la 1,25D indican que es el propio receptor nuclear el que regula estas actividades, llevando a cabo las respuestas por un mecanismo diferente.[27]

En el año 2004 Mizwiki y *col.* basándose en los indicios de que el VDR modula las respuestas no genómicas, decidieron llevar a cabo estudios de *docking* con ligandos específicos para las respuestas no genómicas. De estos cálculos se propuso la existencia de un bolsillo de unión del ligando alternativo al clásico. En esta zona del receptor nuclear se estabilizan los ligandos con una conformación diferente a la clásica. Además se propuso que la cinética favorece la ocupación de este bolsillo, mientras que el bolsillo clásico está favorecido termodinámicamente.[28]

6 Receptor nuclear de la vitamina D (VDR)

El receptor nuclear de la vitamina D humano es una proteína compuesta por 427 aminoácidos (48 kD), que pertenece a la familia de los receptores nucleares, o factores de transcripción, cuya forma activa está estabilizada por la unión a un

(**27**) **(a)** Nguyen TM, Lieberherr M, Fritsch J, Guillozo H, Alvarez ML, Fitouri Z, Jehan F, Garabedian M. The rapid effects of 1,25-$(OH)_2D_3$ require the VDR and influence 24-hydroxylate activity: studies in human skin fibroblasts bearing vitamin D receptor mutations. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 7591–7597. **(b)** Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol–vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci. Signal.* **2009**, *2*, 1-14.

(28) Mizwicki MT, Keidel D, Bula CM, Bishop JE, Zanello LP, Wurtz JM, Moras D, Norman AW. Identification of an alternative ligand-binding pocket in the nuclear vitamin D receptor and its functional importance in 1α,25$(OH)_2$-vitamin D_3 signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101*, 12876-12881.

ligando especifico.[29] El VDR es un factor transcripcional, el cual es activado por la 1,25D y otros metabolitos de la vitamina D_3. Estas características hacen del receptor de la vitamina D_3 una interesante diana farmacéutica para diferentes tipos de enfermedades.

Como se describe en el modo de acción genómico, el receptor nuclear de la vitamina D tiene un papel esencial en los procesos que regula la vitamina D_3, como la homeostasis del calcio, la diferenciación y proliferación celular.[30]

El receptor nuclear de la vitamina D posee una estructura en la cual se diferencian dos dominios, el dominio de unión al ADN y el dominio de unión al ligando.

6.1 Dominio de unión al ADN (DBD, DNA Binding Domain)

En el 2004, se determinó la estructura cristalográfica del heterodímero formado por el fragmento correspondiente al DBD del VDR y el DBD del RXR unido a un elemento de respuesta de la vitamina D (Figura 7).[31]

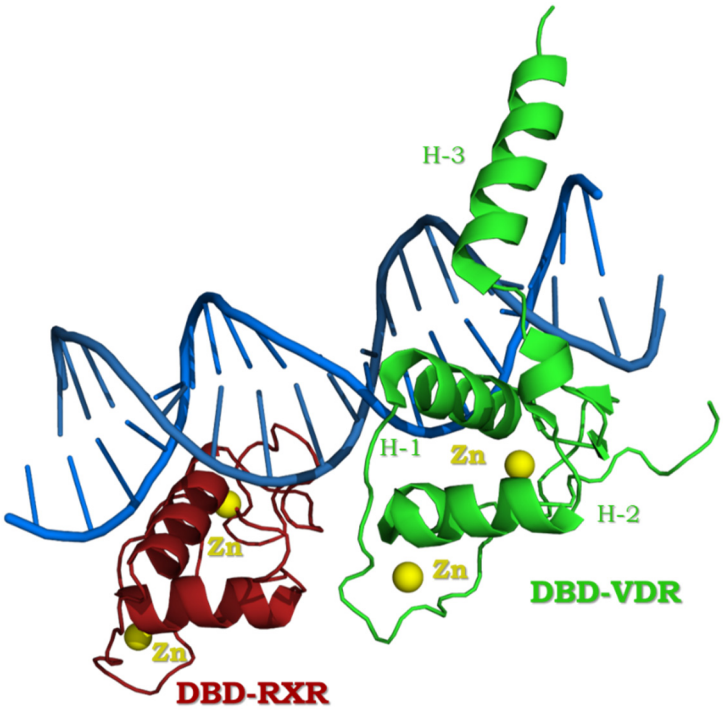
Este dominio de unión al ADN tiene como función principal anclar el VDR a determinadas zonas del ADN, denominadas elementos de respuesta de la vitamina D (VDREs). Además es el responsable de la dimerización del receptor. Esta dimerización puede darse consigo mismo o con el RXR pero solamente el heterodímero con el RXR es biológicamente activo.

(29) Evans RM, The steroid and thyroid hormone suprafamily. *Science* **1988**, *240*, 889-895.

(30) Jurutka PW, Whitfield GK, Hsieh JC, Thompson PD, Haussler CA, Haussler MR. Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **2001**, *2*, 203-216.

(31) Shaffer PL, Gewirth DT. Structural analysis of RXR-VDR interactions on DR3 DNA. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2004**, *89-90*, 215-219.

Figura 7. *Estructura cristalográfica del heterodímero DBD-RXR y el DBD-VDR unido a un fragmento de ADN (Código PDB: 1YNW).*



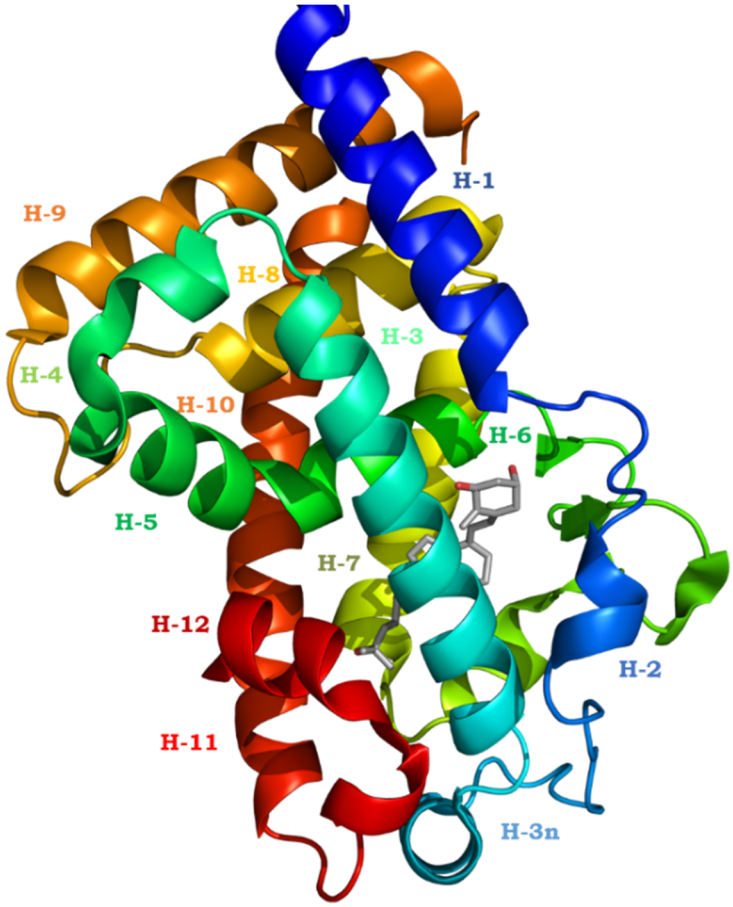
6.2 Dominio de unión al ligando (LBD, Ligand Binding Domain)

Esta parte del VDR es la responsable de la alta especificidad y afinidad con la que la hormona 1,25D se une a la proteína. Se encuentra situado en el extremo *C*-terminal de la proteína.

La estructura cristalina del VDR-(LBD) posee trece hélices que se intercalan en tres capas y tres hebras que forman una lámina. La nomenclatura se basa en la utilizada para la estructura del RXR-(LBD) humano. Las hélices se enumeran de H1 a H12 comenzando por el extremo *N*-terminal. La hélice H12 contiene una región conocida como función de activación dependiente de ligando que permite la interacción del VDR con otras proteínas nucleares.

En el año 2000, Moras *y col.* publicaron la estructura cristalográfica del complejo formado entre la hormona 1,25D y un LBD mutado del VDR[32] (Figura 8). La mutación en el LBD consistió en la eliminación de los residuos 165-215 del dominio de inserción del VDR natural. El VDR-(LBD) mutado demostró ser plenamente funcional, manteniendo sus propiedades de unión, transactivación y heterodimerización.

Figura 8. *Estructura cristalográfica del VDR-(LBD) unido al calcitriol (Código PDB: 1DB1).*



(32) Rochel N, Wurtz JM, Mitschler BK, Moras D. The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. *Mol. Cell.* **2000**, *5*, 173-179.

6.3 Interacciones de la 1,25D con el VDR

Debido a que la mayoría de las actividades de la vitamina D_3 siguen el mecanismo genómico, es de especial interés el conocimiento de las interacciones de su forma activa con el receptor nuclear.

La unión de la 1,25D a su receptor nuclear (VDR) provoca un cambio conformacional en la hélice 12 (H-12), cerrándose sobre el ligando. Esta modificación de la conformación provoca la activación de la región AF-2, una función de activación dependiente del ligando. Esta activación posibilita la interacción del VDR con otras proteínas nucleares, coactivadores y correpresores de la transcripción.[33]

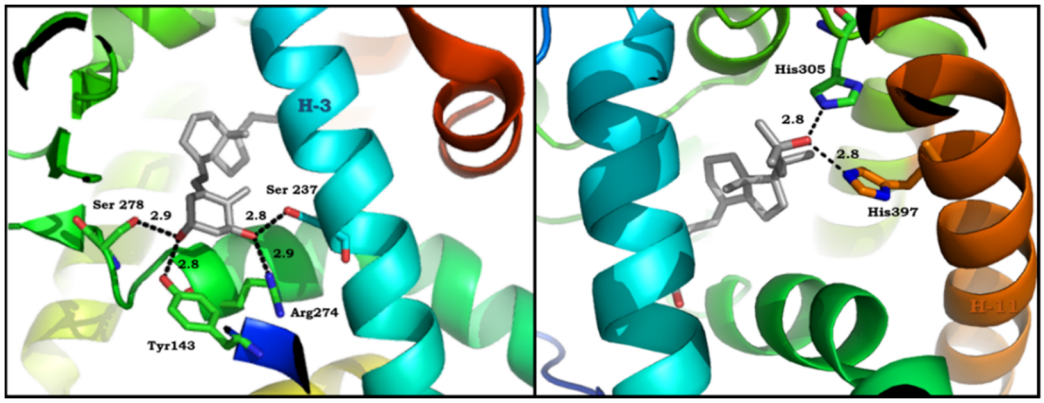
El análisis de las estructuras cristalinas de los complejos ligando-VDR posibilita la determinación de parámetros relativos a las interacciones ligando-receptor. Así, en el caso de la estructura cristalina del 1,25D-VDR se pueden observar las principales interacciones entre el ligando y el receptor.[34]

Las principales interacciones que estabilizan el ligando dentro del receptor son las de tipo polar, formadas a través de los hidroxilos del ligando. De este modo se observa como el hidroxilo de la posición C1 interacciona mediante enlaces de hidrógeno con la Ser237 (H3) y la Arg274 (H5). El hidroxilo de la posición C3 establece dos enlaces de hidrógeno con la Ser278 (H5) y la Tyr143, mientras que el hidroxilo de la posición C25 posee enlaces de hidrógeno con las His305 (bucle H6-H7) e His397 (H11) (Figura 9).

(33) Yamada S, Shimizu MN, Yamamoto K. Structure-function relationships of vitamin D including ligand recognition by the vitamin D receptor. *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 89-115.

(34) Rochel N, Moras D. Ligand binding domain of vitamin D receptor. *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, *6*, 1229-1241.

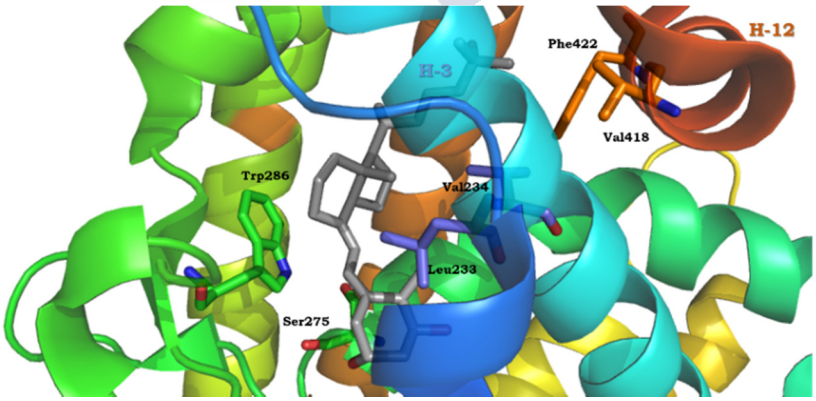
Figura 9. *Interacciones polares entre la 1,25D y el VDR.*



El ligando además está estabilizado por otras interacciones con diferentes partes del ligando. El sistema triénico de la 1,25D se encuentra ubicado en un canal hidrofóbico, rodeado por los aminoácidos Ser275 y Trp286 por una de las caras y con la Leu233 (H3) por la cara opuesta. El metilo C18 interacciona con la Val234 (H3), además de con otros residuos apolares que ayudan a la estabilización del biciclo **CD** y de la cadena lateral.

Las interacciones de van der Waals adquieren gran importancia ya que permiten a la hélice H12, en su posición activa, establecer dos interacciones directas entre el metilo C27 de la cadena lateral de la 1,25D y los residuos de Val418 y Phe422 (Figura 10).

Figura 10. *Principales aminoácidos que poseen interacciones apolares con la 1,25D.*



7 Rutas de síntesis de la 1,25D y análogos

La importancia de la 1,25D en diferentes procesos biológicos ha propiciado el desarrollo de rutas de síntesis de la hormona y sus análogos. La mayoría de estas rutas conllevan la unión en los últimos pasos de dos fragmentos, uno correspondiente al biciclo **CD** y otro correspondiente al anillo **A**[35] (Esquema 6).

Ruta A: *Ruta de Wittig-Horner*. Inicialmente desarrollada por Lythgoe y *col.*[36] y mejorada posteriormente por Hoffmann-La Roche.[37] Esta ruta es útil en la síntesis de análogos de la vitamina D modificados en la cadena lateral, en el biciclo **CD** y para la obtención de derivados 19-*nor*. Tiene el inconveniente del elevado número de pasos necesarios para la obtención del óxido de fosfina correspondiente al fragmento del anillo **A**.

Ruta B: *Ruta de Wittig-Horner alternativa*. Es una variante de le ruta A, en la que el óxido de fosfina se introduce en el fragmento del biciclo **CD** y se utiliza la cetona en el anillo **A**. Es útil en la síntesis de análogos 19-*nor*.[38]

Ruta C: *Aproximación 5,6-trans.* Desarrollada inicialmente por Hesse[39] y posteriormente mejorada por el grupo de Calverley.[40] Se obtienen análogos de vitamina D a través del aldehído 5,6-*trans* como intermedio clave, que se obtiene fácilmente a partir de la vitamina D_2, comercialmente disponible.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(35) Dai H, Posner GH, Synthetic approaches to vitamin D. *Synthesis* **1994**, *12*, 1383-1398.

(36) **(a)** Lythgoe B. Synthetic approaches to vitamin D and its relatives. *Chem. Soc. Rev.* **1980**, *9*, 449-475. **(b)** Lythgoe B, Moran T, Nambudiry M, Ruston S. Allylic phosphine oxides as precursors of dienes of defined geometry: synthesis of 3-deoxyvitamin D_2. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *44*, 3863-3866. **(c)** Kocienski P, Lythgoe B, Waterhouse I. The influence of chain-branching on the steric outcome of some olefin forming reactions. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1980**, 1045-1050.

(37) Kabat MM, Radinov R. The practical synthesis of vitamin D analogs: a challenge for process research. *Curr. Opin Drug. Discov. Devel.* **2001**, *4*, 808-833.

(38) Schering Aktiengesellshaft: WO00107405 (**2000**).

(39) Andrews DR, Barton D, Hesse RH. Synthesis of 25-hydroxy-and 1α,25-dihydroxy-vitamin D_3 from vitamin D_2. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4819-4828.

(40) Calverley MJ. Synthesis of MC903, a biologically active vitamin D metabolite analogue. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *43*, 4609-4619.

Ruta D: *Ruta vinilalénica*. Es una ruta convergente desarrollada por el grupo de Okamura.[41] El intermedio clave un vinilaleno, que se isomeriza térmicamente formando el sistema triénico de la vitamina D_3.

Ruta E: *Ruta dienínica*. Método desarrollado originalmente por Lythgoe[42] y posteriormente mejorado en este grupo[43] y en el grupo de Okamura.[44] El intermedio clave es un dienino cuya hidrogenación parcial seguida de una transposición sigmatrópica térmica conduce al sistema triénico de la vitamina D_3.

Ruta F: *Método de Julia*. Desarrollado por el grupo de Kittaka[45] para la obtención de análogos 19-*nor* de la vitamina D.

Ruta G: *Ruta de ciclación-acoplamiento catalizado por Pd(0). Método de Trost.*[46] Ruta consistente en el acoplamiento catalizado por Pd(0) entre un enino y un bromuro vinílico para la formación del sistema triénico de la vitamina D.

Ruta H: *Ruta de carbociclación-acoplamiento de Suzuki catalizada por Pd(0).* Ruta desarrollada en Santiago de Compostela. La metodología consiste en una ciclación del anillo **A** seguida del acoplamiento de Suzuki con ésteres de boro en el fragmento correspondiente al biciclo **CD**.[47]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(41) Hammond ML, Mouriño A, Okamura WH. Sigmatropic rearrangement of vinylallenes: a novel route to the 1-hydroxyvitamin D system. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4907-4908.

(42) Dixon J. Littlewood PS, Lythgoe B, Saksena AK. Total synthesis of Precalciferol$_3$. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1970**, *0*, 993-994.

(43) Mascareñas JL, Sarandeses LA, Castedo L, Mouriño A. Palladium catalyzed coupling of vinyl triflates with enynes and its application to the synthesis of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3. *Tetrahedron* **1991**, *20*, 3485-3489.

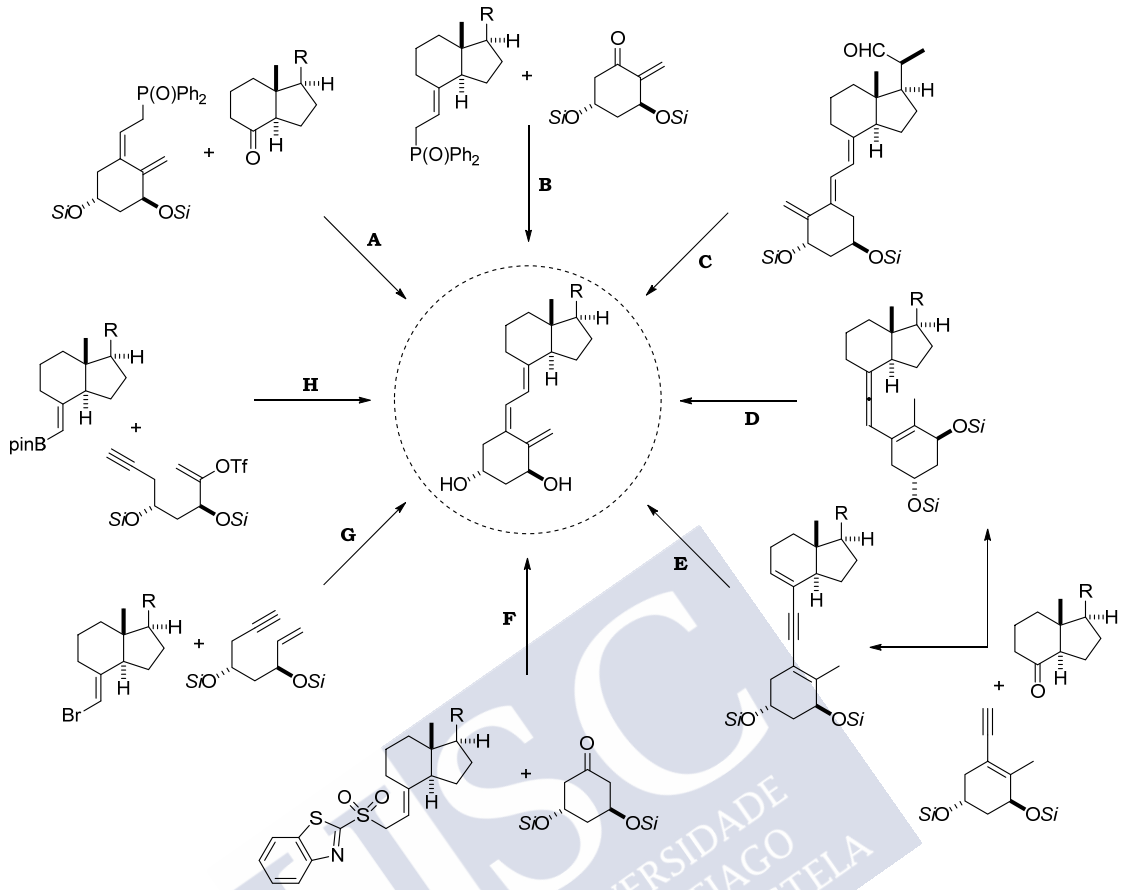
(44) Okamura WH, Aurrecoechea JM, Gibbs RA, Norman AW. Synthesis and biological activity of 9,10-dehydrovitamin D_3 analogues: stereoselective preparation of 6β-vitamin D vinylallenes and a concise enynol synthesis for preparing the A-ring. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4072-4083.

(45) Ono K, Yoshida A, Saito N, Fujishima T, Honzawa S, Suhara Y, Kishimoto S, Sugiura T, Waku K, Takayama H, Kittaka A. Efficient synthesis of 2-modified 1α,25-dihydroxy-19-nor-vitamin D_3 with Julia olefination: high potency in induction of differentiation on HL-60 cells. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7407-7415.

(46) Trost BM, Dumas J, Villa M. New strategies for the synthesis of vitamin D metabolites via Pd-catalyzed reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9836-9845.

(47) Gogoi P, Sigüeiro R, Eduardo S, Mouriño A. An expeditious route to 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by an aqueous tandem palladium catalyzed A-ring closure and Suzuki coupling to the C/D unit. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1432-1435.

Esquema 6. *Principales rutas de síntesis de la 1,25D y análogos.*



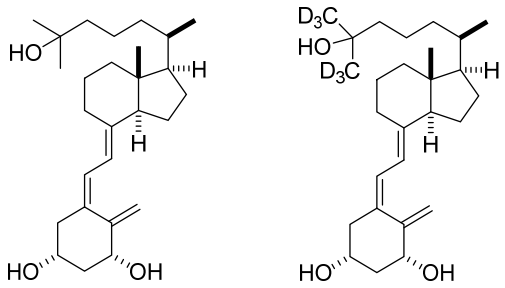
USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Objetivos

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Objetivo I:

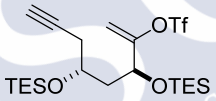
Síntesis del metabolito 1β,25-dihidroxivitamina D_3 (**1a**), de su análogo 26,27-hexadeuterado (**1b**) y estructura del complejo ligando-VDR(LBD) para entender la actividad antagonista de este metabolito frente a las actividades no genómicas de la vitamina D_3 (Capítulo I).



1a **1b**

Objetivo 2:

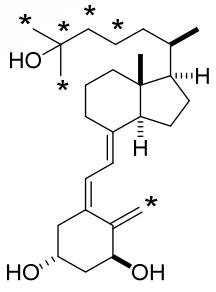
Síntesis del enol-triflato **2**, precursor del sistema triénico de derivados 1α-hidroxilados de la vitamina D_3 vía reacción en tándem de carbociclación-acoplamiento de Suzuki-Miyaura catalizada por Pd (Capítulo II).



2

Objetivo 3:

Síntesis de la hormona 1,25D_3 marcada con ^{13}C en el anillo **A** y en la cadena lateral para estudiar detalles conformacionales de la hormona en el centro activo del complejo 1,25D-VDR(LBD) (Capítulo III).



3

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Discusión y resultados

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Capítulo I:

Síntesis de la 1β,25(OH)$_2$D$_3$ y de su análogo hexadeuterado y estudio del complejo ligando-VDR(LBD)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

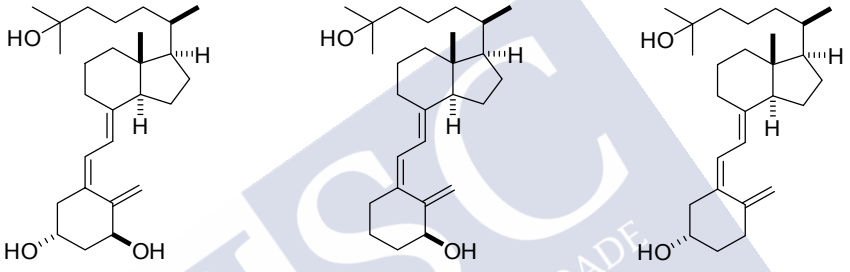
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1 Antecedentes y justificación

El anillo **A** del calcitriol posee dos grupos hidroxilo, que son los responsables de las interacciones polares con residuos de su receptor nuclear (Tyr143, Ser237, Arg274 y Ser278).

La presencia de estos hidroxilos es de gran importancia en la afinidad de los metabolitos por su receptor nuclear. Por ejemplo, la 3-desoxi-1α,25-dihidroxivitamina D_3 y la 25-hidroxivitamina D_3 (Figura 11) muestran una afinidad por el VDR de un 5,7% y un 0,15% respectivamente, muy reducidas en comparación con el calcitriol (100%).[48]

Figura 11. *Estructuras de la 1,25D, 3-desoxi-1α,25(OH)D_3 y 25(OH)D_3.*



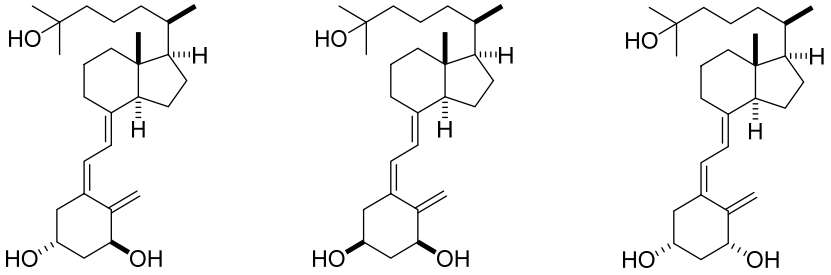
1,25D (calcitriol) 3-desoxi-1α,25(OH)D_3 25(OH)D_3

Un cambio en la orientación de los hidroxilos también disminuye la afinidad por el receptor nuclear. Por ejemplo, la afinidad por el VDR de la 3-epi-1α,25$(OH)_2D_3$ es del 24% en comparación con la hormona natural 1,25D (100%). Otro ejemplo es la 1β,25$(OH)_2D_3$ (Figura 12), cuya afinidad por el receptor nuclear es del 0.8 % con respecto a la afinidad de la hormona natural.

Por lo tanto la posesión y la orientación de los hidroxilos influyen en la afinidad del ligando por el receptor (VDR).

(48) Norman, AW, Koeffler HP, Bishop JE, Collins ED, Sergeev, IN, Zhou LX, Nemere, I, Zhou, J, Henry HL, Okamura WH. Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system for 1,25$(OH)_2D_3$ analogs. Vitamin D: Gene regulation, struc ture-function analysis and clinical application. Walter de Gruyter, **1991**, 146-154.

Figura 12. *Estructuras de la 1,25D, 3-epi-1α,25-(OH)$_2$D$_3$, y 1β,25(OH)$_2$D$_3$.*



1,25D (calcitriol) 3-epi-1α(OH)$_2$D$_3$ 1β,25(OH)$_2$D$_3$

La 1β,25(OH)$_2$D$_3$, además de su baja afinidad por el VDR, apenas muestra actividad agonista de las respuestas genómicas inducidas por la hormona natural (menos del 0.1% para la absorción de Ca^{2+} intestinal y para la movilización de Ca^{2+} óseo). Por otra parte este metabolito actúa como antagonista de las acciones no genómicas reguladas por la 1,25D, como la apertura de los canales de Ca^{2+}.[49]

La 1β,25(OH)$_2$D$_3$ ya ha sido previamente sintetizada, primero por el grupo de Okamura en 1993 mediante la ruta de Lythgoe[50] y posteriormente por el grupo de Sato *vía* acoplamiento de Suzuki-Miyaura.[51]

Conocidas las características de agonista parcial de las respuestas genómicas y de antagonista de las respuestas rápidas o no genómicas se postula que este metabolito pueda adoptar una conformación de tipo 6-s-*cis*, que permita explicar su actividad en las respuestas genómicas.[26] Dadas las propiedades de este metabolito descritas anteriormente, y la posibilidad de unión a un bolsillo alternativo al clásico propuesto por Mizwicki y *col*[28] mediante cálculos teóricos, se

(49) Norman AW, Bouillon R, Farach-Carson MC, Bishop JE, Zhou LX, Nemere I, Zhao J, Muralidharan KR, Okamura WH. Demonstration that 1β,25-dihydroxyvitamin D$_3$ is an antagonist of the nongenomic but not genomic biological responses and profile of the three A-ring diasteromers of 1α,25-dihydroxyvitamin D$_3$. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 20022-20030.

(50) Muralidharan KR, DeLera AR, Issaef SD, Norman AW, Okamura WH. Studies on the A-ring diastereomers of l,25-dihydroxyvitamin D$_3$, *J. Org. Chem.* **1993** *58* 1895–1899.

(51) Hanzawa T, Koyama A, Nakata K, Okamoto S, Sato F. New convergent synthesis of 1, 25-dihydroxyvitamin D$_3$ and its analogues by Suzuki–Miyaura coupling between A-ring and CD-ring parts, *J. Org. Chem.* **2003**, *68,* 9767– 9772.

(26) Norman AW, Okamura WH, Hammond MW, Bishop JE, Dormanen MC, Bouillon R, Van Baelen H, Ridall AL, Daane E, Khoury R, Farach-Carson MC. Comparison of 6-s-*cis* and 6-s-*trans* locked analogs of 1α,25(OH)$_2$-vitamin D$_3$ indicates that the 6-s-*cis* conformation is preferred for rapid nongenomic biological responses and that neither 6-s-*cis* nor 6-s-*trans* locked analogs are preferred for genomic biological responses. *Mol. Endocrinol.* **1997**, *11*, 1518–1531.

(28) Mizwicki MT, Keidel D, Bula CM, Bishop JE, Zanello LP, Wurtz JM, Moras D, Norman AW. Identification of an alternative ligand-binding pocket in the nuclear vitamin D receptor and its functional importance in 1α,25(OH)$_2$-vitamin D$_3$ signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101*, 12876-12881

decidió llevar a cabo la síntesis de este metabolito de la vitamina D_3 con el fin de obtener su estructura cristalográfica en el complejo ligando-VDR(LBD).

El objetivo de este capítulo consiste en la síntesis de la 1β,25$(OH)_2D_3$, y de su derivado hexadeuterado en las posiciones C26 y C27 para su posterior estudio de unión al receptor nuclear de la vitamina D. La cristalización permitirá evidenciar el lugar de unión al receptor, así como la conformación que adopta y estudiar el modo de acción de este metabolito y posibilitar la demostración de la existencia del bolsillo alternativo propuesto por Mizwicki.

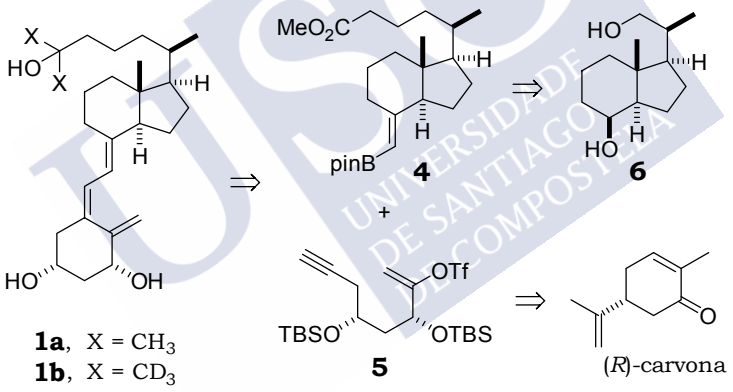
USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2 Análisis retrosintético de 1a y 1b

Siguiendo la estrategia sintética desarrollada en estos laboratorios para la síntesis de análogos de la vitamina D,[47] se planteó la obtención de la 1β,25-dihidroxivitamina D_3 (**1a**) y de su análogo hexadeuterado **1b** (Esquema 7). Este método se basa en la carbociclación catalizada por Pd(0) del enol-triflato **5** (precursor del anillo **A**), seguido del acoplamiento de Suzuki-Miyaura en medio acuoso del intermedio resultante con el éster borónico **4** (fragmento **CD**) para la obtención del sistema triénico. A su vez, el éster borónico **4** procedería del diol de Inhoffen-Lythgoe (**6**), obtenido por degradación de la vitamina D_2.[52] El enol-triflato **5** se obtendría a partir de la (*R*)-Carvona.

Esquema 7. *Análisis retrosintético planteado para la obtención del metabolito **1a** y su análogo deuterado **1b**.*



(47) Gogoi P, Sigüeiro R, Eduardo S, Mouriño A. An expeditious route to 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by an aqueous tandem palladium catalyzed A-ring closure and Suzuki coupling to the C/D unit. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1432-1435.

(52) Lythgoe B, Roberts DA, Waterhouse I. Calciferol and its relatives. Part 20. A synthesis of Windaus and Grundmann's C19 ketone, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1977**, *0*, 2608–2612.

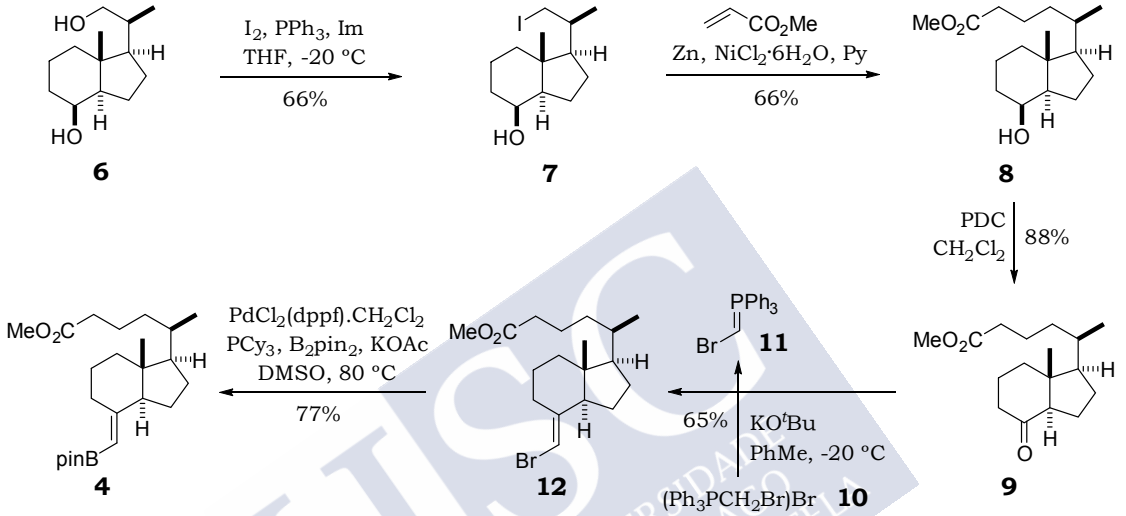
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

3 Trabajo realizado

3.1 Síntesis del éster borónico 4

La síntesis del éster borónico **4**, necesario para la reacción de carbociclación-acoplamiento de Suzuki-Miyaura se realizó a partir del diol de Inhoffen-Lythgoe (**6**) en 5 pasos (55% rendimiento global), siguiendo el procedimiento previamente desarrollado en estos laboratorios (Esquema 8).[47]

Esquema 8. *Preparación del éster borónico **4**.*



A partir del diol de Inhoffen-Lythgoe, obtenido mediante una ozonólisis reductora de la vitamina D_2,[53] se procedió a la elongación de la cadena lateral. En primer lugar se convirtió el alcohol **6** en el yoduro **7**,[54] que mediante el tratamiento con acrilato de metilo, Zn y $NiCl_2$ en piridina proporcionó el éster **8**. El compuesto **8** se

(47) Gogoi P, Sigüeiro R, Eduardo S, Mouriño A. An expeditious route to 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by an aqueous tandem palladium catalyzed A-ring closure and Suzuki coupling to the C/D unit. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1432-1435.

(53) Mouriño A, Sardina J. Studies on the synthesis of side-chain hydroxylated metabolites of vitamin D_2. Stereocontrolled synthesis of 25-hydroxyvitamin D_2. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1264-1269.

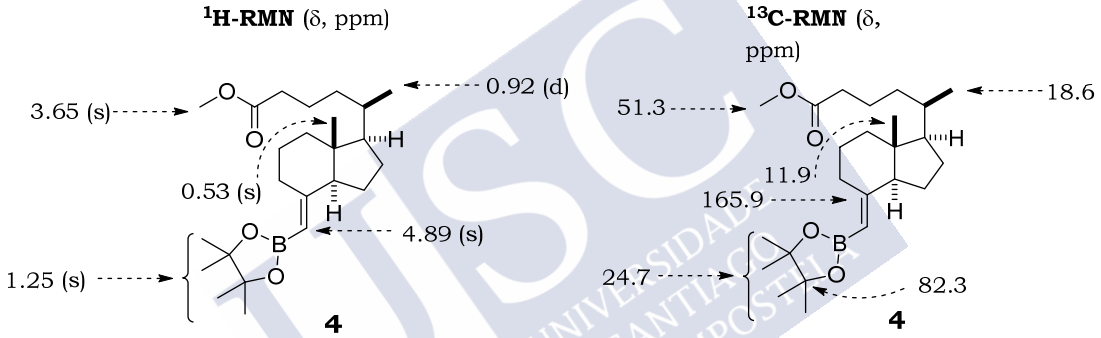
(54) Garegg PJ, Samuelson B. Novel reagent system for converting a hydroxy-group into an iodo-group in carbohydrates with inversión of configuration. *Chem. Comm.* **1979**, 978-980.

oxidó a la cetona **9**, siguiendo el procedimiento desarrollado en estos laboratorios.[55]

Siguiendo la ruta de Trost,[46] se utilizó la reacción de Wittig sobre la cetona **9** con el iluro de fósforo **11**, generado *in-situ* a partir de la sal de fosfónio **10**, mediante tratamiento con KO^{t}Bu en tolueno a baja temperatura, para formar el bromuro vinílico **12**. Este bromuro se convirtió en el éster borónico **4**, por tratamiento con B_2pin_2 en presencia de $PdCl_2(dppf)\cdot CH_2Cl_2$ como catalizador, siguiendo las condiciones de Miyaura.[56]

En la Figura 13 se muestran las principales señales de RMN del éster borónico **4** correspondiente al fragmento del biciclo **CD** obtenido, observándose la presencia de los metilos del pinacol incorporado.

Figura 13. *Principales señales de RMN del compuesto **4**.*



3.2 Síntesis del enol-triflato 5

3.2.1 Obtención del epóxido 17

La síntesis del enol-triflato **5**, precursor del anillo **A** de la 1β,25(OH)$_2$D$_3$, se llevó a cabo a partir de la (*R*)-carvona. La reducción de la cetona–β,α insaturada con

(55) Pérez-Sestelo J, Mascareñas JL, Castedo L, Mouriño A. Ultrasonically induced conjugate addition of iodides to electron-deficient olefins and its application to the synthesis of side-chain analogs of the hormone 1α,25-dihydroxyvitamin D$_3$. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 118-123.

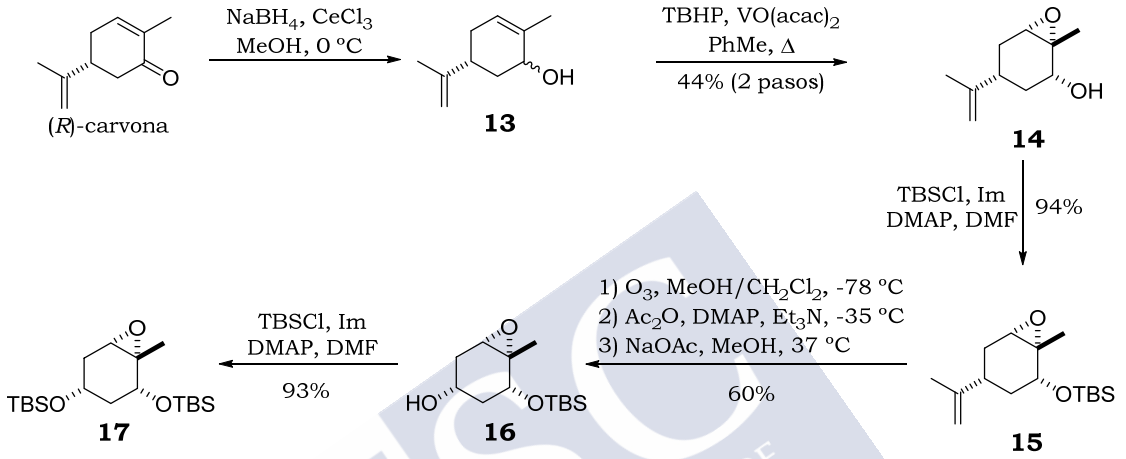
(46) Trost BM, Dumas J, Villa M. New strategies for the synthesis of vitamin D metabolites via Pd-catalyzed reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9836-9845.

(56) **(a)** Ishiyama T, Murata M, Miyaura N. Palladium(0)-catalyzed cross-coupling reaction of alkoxydiboron with haloarenes: A direct procedure for arylboronic esters. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508 –7510. **(b)** Ishiyama T, Ishida K, Miyaura N. Synthesis of pinacol arylboronates via cross-coupling reaction of bis(pinacolato)diboron with chloroarenes catalyzed by palladium (0)-tricyclohexylphosphine complexes. *Tetrahedron* **2001**, 57, 9813-9816.

$NaBH_4$ bajo las condiciones de Luche,[57] condujo a la mezcla de alcoholes alílicos **13**, que se trató con TBHP y $VO(acac)_2$ para dar el epóxido **14**.[58] El alcohol alílico con orientación α se transformó en la (*R*)-carvona de partida vía oxidación del hidroxilo en las mismas condiciones de reacción.

A continuación se protegió el hidroxilo de **14** y se procedió a la degradación de la cadena isopropenilica (Esquema 9).

Esquema 9. *Obtención del epóxido **17**.*



Para la degradación de la cadena isopropenilica se siguió el procedimiento de Daniewski.[59] La ozonólisis de **15** en $MeOH/CH_2Cl_2$, seguido de acetilación y posterior tratamiento con NaOAC, condujo a la obtención de **16**, que se protegió con TBSCl para dar **17**.

Los detalles de la transposición de Criegee[60] se ilustran en el Esquema 10. En primer lugar se forma el hidroperóxido **18** que se acetaló y la cetona correspondiente sufre la transposición de Criegee para dar el acetal **19**. El

(57) Luche JL. Lanthanides in organic chemistry. Selective 1,2 reductions of conjugated ketones. *J Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2226-2227.

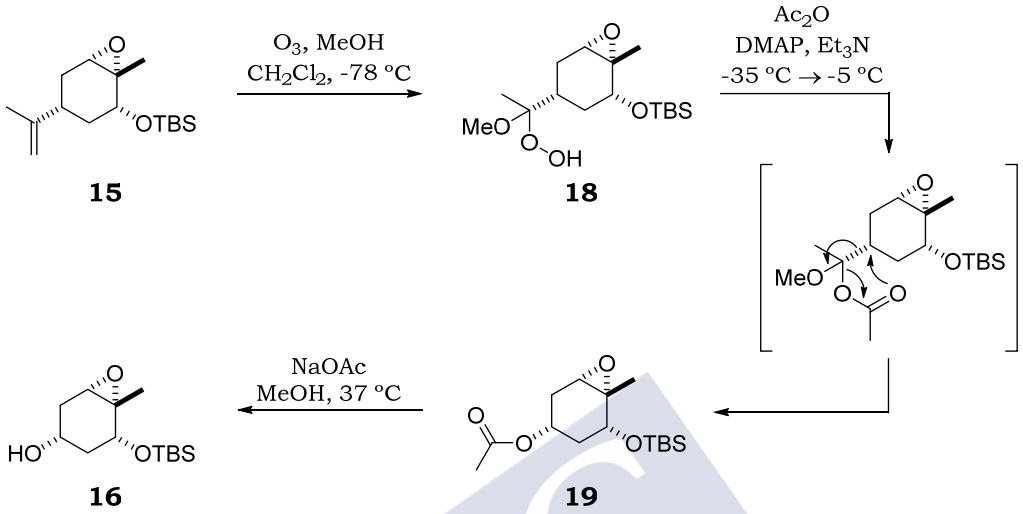
(58) Sharpless KB, Michaelson RC. High stereo and regioselectivities in the transition metal catalyzed epoxidations of olefinic alcohols by *tert*-buthyl hydroperoxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *5*, 6139-6137.

(59) Daniewski AR, Garofalo LM, Hutching SD, Kabat MM, Liu W, Okabe M, Radinov R. Efficient synthesis of the A-ring phosphine oxide building block useful for 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and analogues. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1580-1587.

(60) Schreiber SL, Liew WF. Criegee rearrangement of α-alkoxy hydroperoxides a synthesis of esters and lactones that complements the Baeyer-Villiger oxidation of ketones. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *23*. 2363-2366.

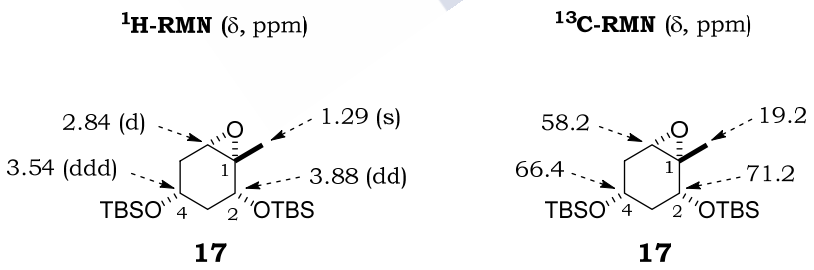
tratamiento de **19** con acetato sódico proporcionó la generación del hidroxilo deseado obteniéndose **16**.

Esquema 10. *Transposición de Criegee a partir del epóxido **16**.*



En la Figura 14 se muestran las principales señales de RMN del epóxido **17**, apareciendo una señal a 3.54 ppm correspondiente al H unido al C4, y desapareciendo las señales olefínicas correspondientes a la cadena isopropenilica.

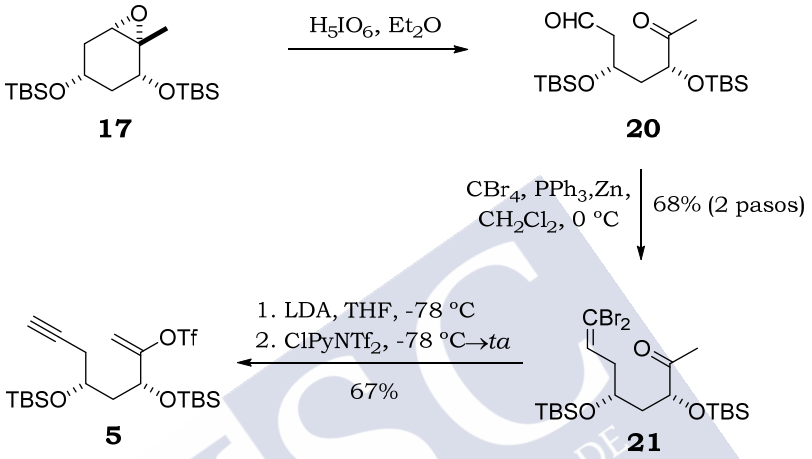
Figura 14. *Principales señales de RMN del epóxido **17**.*



3.2.2 Obtención del enol-triflato 5

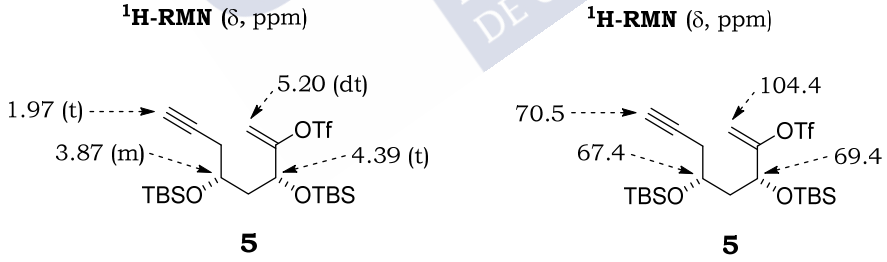
La ruptura del epóxido **17** por tratamiento con ácido peryódico proporcionó el compuesto dicarbonílico **20**, que se trató con CBr_4 en presencia de Zn y PPh_3 para generar el dibromuro **21**.[61] El posterior tratamiento de **21** con LDA y atrapado del enolato resultante con el reactivo de Comins[62] permitió obtener el enol-triflato **5** deseado (Esquema 11).

Esquema 11. *Obtención del enol-triflato **5**.*



En la Figura 14 se muestran las señales características del enol-triflato **5**.

Figura 15. *Principales señales de RMN del enol-triflato **5**.*



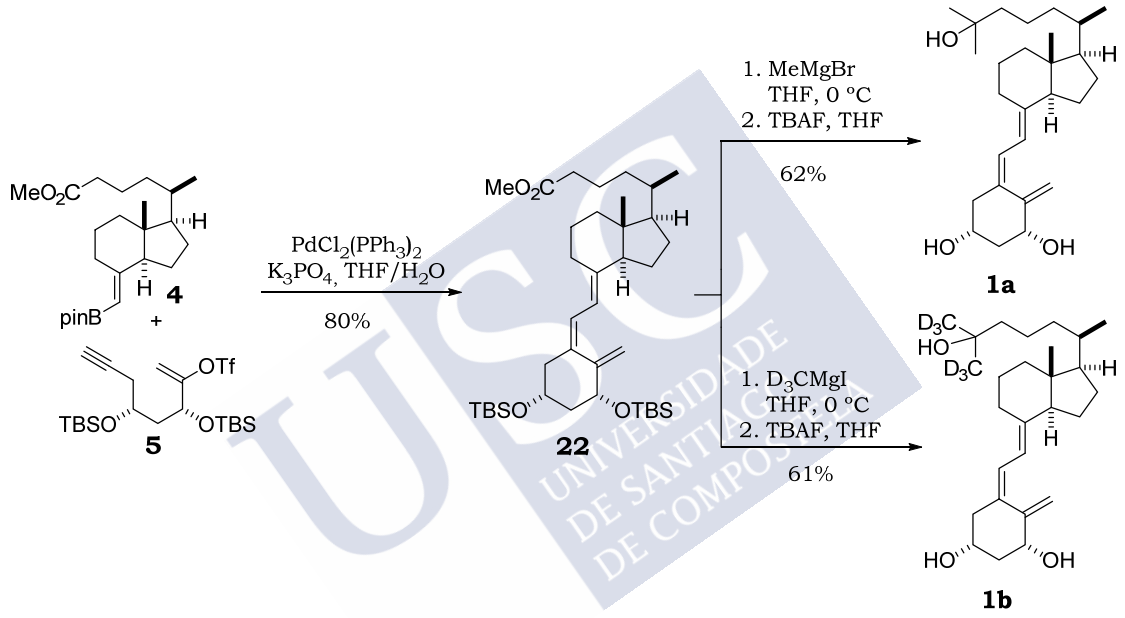
(61) Corey EJ, Fuchs PL. Synthetic method for conversion of formyl groups into ethynyl groups. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3769-3772.

(62) Comins DL, Dehghani A. Pyridine derived triflating reagents: an improved preparation of vinyl triflates from metallo enolates. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6299-6302.

3.3 Síntesis de la 1β,25-dihidroxivitamina D_3 (1a) y de su derivado 26,27-hexadeuterado (1b)

Una vez obtenidos los fragmentos clave, se procedió a la síntesis de **1a** y **1b** mediante carbociclación-acoplamiento de Suzuki-Miyaura[63] entre el éster borónico **4** y el enol-triflato **5**. El enol-triflato **5**, en presencia de $PdCl_2(PPh_3)_2$ en medio acuoso genera un intermedio de Pd (II), que reacciona vía acoplamiento de Suzuki-Miyaura con el éster de boro **4**, para dar el sistema triénico de la vitamina D en un 80% de rendimiento (Esquema 12).

Esquema 12. *Obtención de los análogos **1a** y **1b** mediante la carbociclación-acoplamiento de Suzuki Miyaura.*



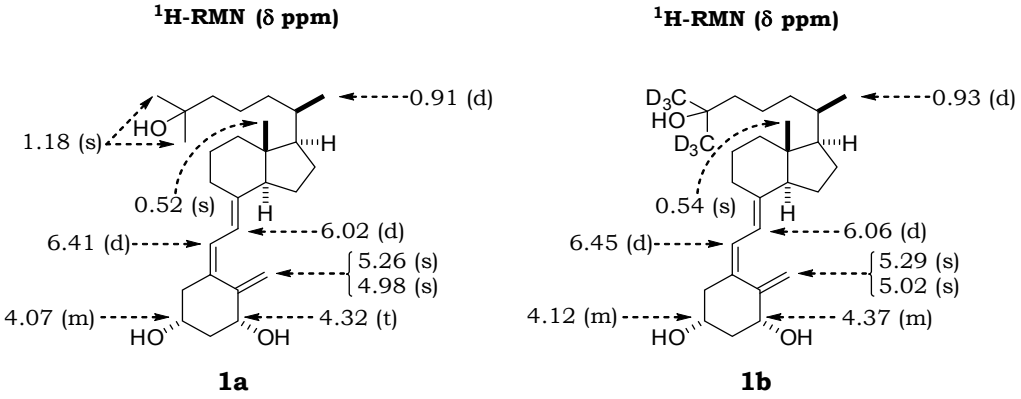
El éster **22** obtenido en esta reacción se trató con bromuro de metil magnesio para introducir los metilos C26 y C27. La desprotección final con TBAF proporcionó la 1β,25-dihidroxivitamina D_3 (**1a**).

El éster **22**, permite la síntesis del análogo hexadeuterado **1b** en las posiciones C26 y C27 por tratamiento con yoduro de metil magnesio deuterado.

(63) Miyaura N, Suzuki A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.

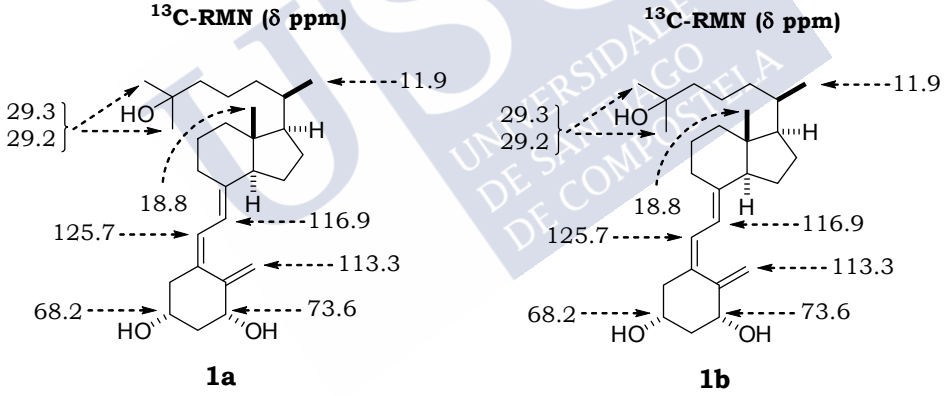
En la Figura 16 se muestran las principales señales de ^{1}H-RMN de los análogos **1a** y **1b**.

Figura 16. *Principales señales de ^{1}H-RMN de los metabolitos **1a** y **1b**.*



En la Figura 17 se muestran las principales señales de ^{13}C-RMN de los análogos **1a** y **1b**.

Figura 17. *Principales señales de ^{13}C-RMN de los compuestos **1a y 1b**.*



4 Estudio del complejo ligando-VDR(LBD)

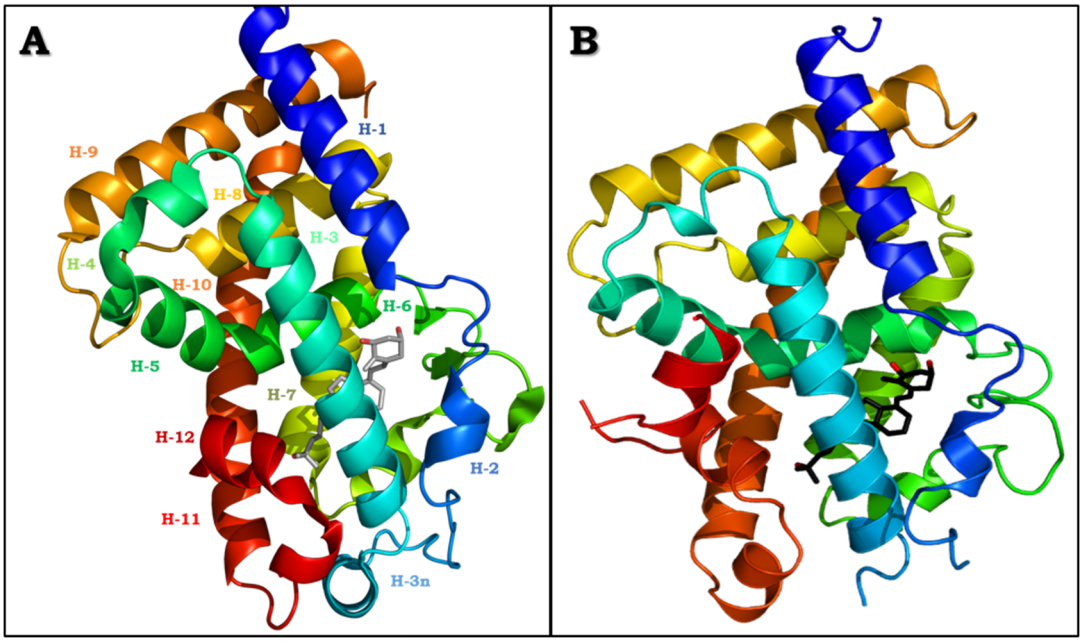
La 1β,25 dihidroxivitamina D_3 obtenida se envió al IGBMC (Instituto de Genética y Biología Molecular y Celular-Illkirch, Francia) dónde se trató con el receptor mutado de Moras, *z*-VDR(LBD) (Δ165-453) para formar y cristalizar el complejo 1β,25$(OH)_2D_3$-*z*VDR. Los resultados de rayos X, obtenidos en el ESRF (European

Synchrotron Radiation Facility, Grenoble), se procesaron utilizando los programas BUSTER[64] (versión 2.11.2. Cambridge, United Kingdom: Global Phasing Ltd), PHENIX[65] y COOT.[66]

La difracción de rayos X del complejo ligando-VDR(LBD) ha permitido obtener la estructura del metabolito dentro del receptor nuclear de la vitamina D, con una resolución de 1.9 Å.

La estructura del complejo 1β,25(OH)$_2$D$_3$-*z*-VDR (Figura 18), revela que este metabolito se une en el bolsillo de unión clásico del VDR. Además de unirse en el mismo lugar, el ligando adopta una conformación similar a la hormona natural, manteniéndose la misma conformación de la cadena lateral y del biciclo **CD**.

Figura 18. *Estructuras cristalinas del calcitriol-VDR* ***(A)*** *y de la 1β,25-(OH)$_2$D$_3$-zVDR* ***(B)***.



La modificación en la orientación del hidroxilo de la posición C1 provoca que el anillo **A** adopte una conformación diferente a la hormona natural, quedando en

(64) Bricogne G, Blanc E, Brandl M, Flensburg C, Keller P, Paciorek W, Roversi P, Sharff A, Smart OS, Vonrhein C, Womack WO. BUSTER version 2.11.2. Cambridge, United Kingdom: Global Phasing Ltd **2011**.

(65) PHENIX: building new software for automated crystallographic structure determination. Adams PD, Grosse-Kunstleve RW, Hung LW, Ioerger TR, McCoy AJ, Moriarty NW, Read RJ, Sacchettini JC, Sauter NK, Terwilliger TC. *Acta Cryst.*, **2002**, *58*, 1948-1954.

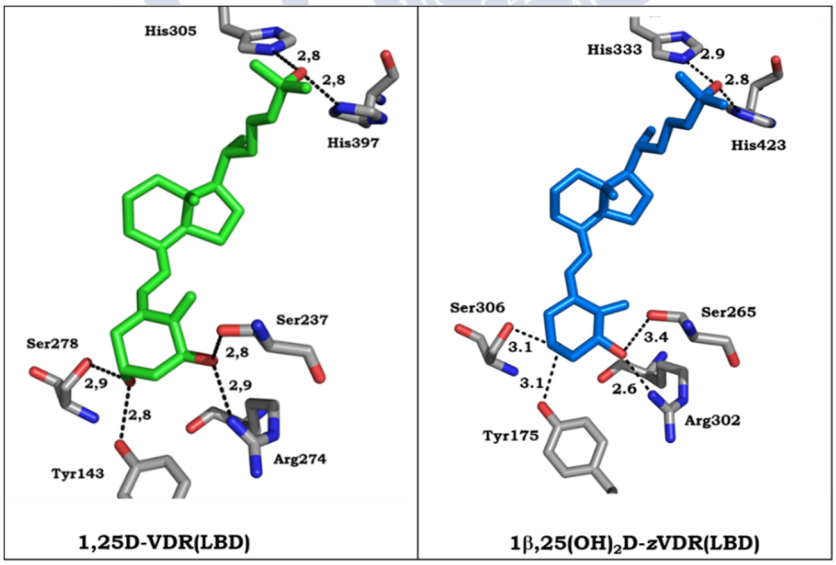
(66) Emsley P, Lohkamp B, Scott WG. Features and development of Coot. *Acta. Cryst.* **2010**, *66*, 486-501.

una conformación de tipo bote, provocando una variación en la orientación del metileno de la posición C19. El hidroxilo de la posición C3 se orienta en disposición axial y el de la posición C1 queda en disposición ecuatorial.

La orientación de los hidroxilos de las posiciones C25 y C3 en el complejo son similares a las de la hormona natural (Figura 19). El hidroxilo de la posición C25 se enlaza mediante enlaces de hidrogeno con la His333, y con la His423, al igual que la hormona natural. Asimismo, el hidroxilo de la posición C3 se enlaza con la Ser306 y la Tyr175.

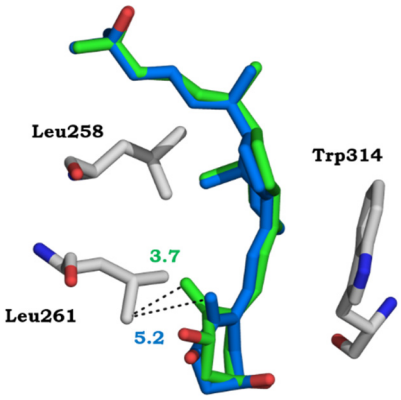
En la Figura 19 se indican las distancias de enlace polares obtenidas por difracción de rayos X del complejo ligando-VDR(LBD). En la figura se puede observar que el hidroxilo de la posición C25 como el de la posición C3 mantienen unas distancias de enlace similares a las de la 1,25D. Por otra parte el hidroxilo de la posición C1 solo muestra enlaces de hidrógeno con la Arg302, quedando la Ser265 a una distancia de 3.40 ppm, demasiado alejada del ligando para poder estabilizarlo mediante enlaces de hidrógeno. Estos datos obtenidos de la estructura cristalina demuestran que la $1\beta,25(OH)_2D_3$ posee menores interacciones de tipo polar con los aminoácidos del receptor, lo que explica su menor afinidad por el VDR.

Figura 19. *Interacciones polares de la hormona natural (verde) y de* ***1a*** *(azul) en el complejo.*



En el complejo **1a**-*z*VDR(LBD) se observa una orientación diferente del metileno C19, que pierde la interacción con la Leu261 (Figura 20). La pérdida de interacciones de van der Waals indicadas y la débil interacción del 1βOH con la Ser265 podrían explicar la desestabilización de la hélice H3, que conllevaría una menor interacción con el coactivador, necesario para desencadenar las respuestas genómicas.

Figura 20. *Superposición de la hormona natural (verde) y de **1a** (azul) e interacciones apolares en el complejo ligando-VDR(LBD).*



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo II:

Síntesis del enol-triflato 2 precursor de la 1,25D

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

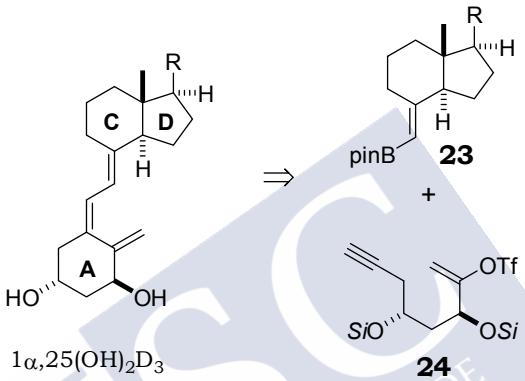
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1 Antecedentes y justificación

Las propiedades de análogos de la vitamina D_3 de interés farmacológico ha propiciado el desarrollo de varias rutas de síntesis de este tipo de compuestos, como ya se mencionó en la introducción de esta memoria.

En este grupo de investigación se ha desarrollado una ruta de síntesis de la hormona 1,25D basada en la reacción en tándem de carbociclación y acoplamiento de Suzuki-Miyaura catalizada por paladio (Esquema 13).[47]

Esquema 13. *Esquema retrosintético general para la obtención del calcitriol vía carbociclación-acoplamiento de Suzuki.*



Esta ruta permite modificaciones tanto en el anillo **A** como en el biciclo **CD** o la cadena lateral. Como se puede observar, para construir el sistema triénico son necesarios el derivado de boro **23** para el fragmento del biciclo **CD** y el enol-triflato **24** correspondiente al anillo **A**. El enol-triflato utilizado tanto en la síntesis de análogos como metabolitos de la vitamina D_3,[67] se obtiene a partir de la (*R*)-carvona,[68] pero algunos de los pasos son difíciles de reproducir cuando se llevan a cabo a escala de varios gramos.

En este capítulo se describe la síntesis del enol-triflato **2**, precursor de la 1,25D, con el propósito de mejorar la ruta anterior, en particular el escalado del proceso.

---

(47) Gogoi P, Sigüeiro R, Eduardo S, Mouriño A. An expeditious route to 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by an aqueous tandem palladium catalyzed A-ring closure and Suzuki coupling to the C/D unit. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1432-1435.

(67) López-Pérez B, Maestro MA, Mouriño A. Total synthesis of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 (calcitriol) through a Si-assisted allylic substitution. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 8144-8147.

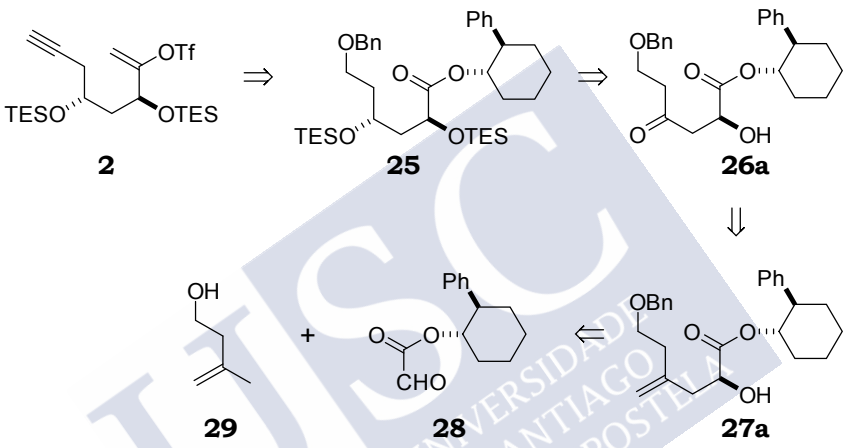
(68) Mouriño A, Torneiro M, Vitale C, Fernández S, Pérez-Sestelo J. Anné S, Gregorio C. Efficient and versatile synthesis of A-ring precursors of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and analogues. Application to the synthesis of Lythgoe-Roche phosphine oxide. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4713-4716.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2 Análisis retrosintético para la obtención de 2

El plan de síntesis (Esquema 14) conlleva una reacción énica entre el alqueno **29** y el glioxilato quiral **28** en presencia de un ácido de Lewis para producir el alcohol **27a**. Esta transformación clave llevaría a la introducción del hidroxilo 1α. La introducción del otro hidroxilo y las otras funcionalidades se realizaría vía química convencional a través de **26a** y **25**.

Esquema 14. *Análisis retrosintético planteado para la obtención de* ***2****.*



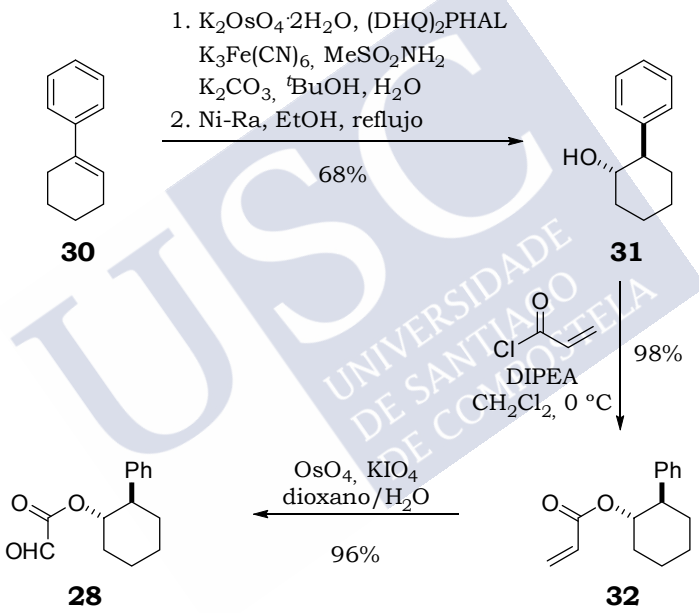
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

3 Trabajo realizado

3.1 Preparación del glioxilato quiral 28

El glioxilato quiral **28** se preparó a partir del fenilciclohexeno **30** (Esquema 15). En primer lugar se procedió a la obtención del fenilciclohexanol **31**, siguiendo procedimientos conocidos, cristalizándose posteriormente de Et_2O.[69] La adición de **31** sobre cloruro de acroilo proporcionó el éster **32**, que se trató con tetróxido de osmio para formar el hidrato de **28** vía ruptura oxidativa.[70] La posterior destilación azeotrópica de **28** hidratado obtenido con tolueno condujo a **28** en buen rendimiento.

Esquema 15. *Obtención del glioxilato quiral **28**.*



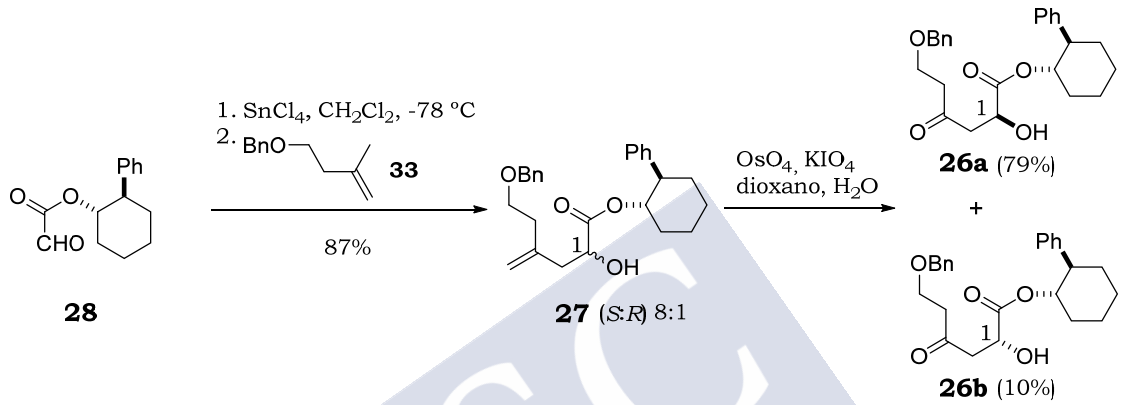
(69) Gonzalez J, Aurigemma C, Truesdale L, Denmark SE, Tymonko SA, Cottell JJ, Gomez L. Synthesis of (+)-(1*S*,2*R*)- and (-)-(1*R*,2*S*)-*trans*-2-phenylcyclohexanol via Sharpless asymmetric dihydroxylation (AD): [Cyclohexanol, 2-phenyl-, (1*S*-*trans*)- and cyclohexanol, 2-phenyl-, (1*R*-*trans*)-]. *Org. Synth.* **2002**, *79*, 93-98.

(70) Pappo R, Allen DS, Lemieux RU, Johnson WS. Osmium tetroxide-catalyzed periodate oxidation of olefinic bonds. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478-479.

3.2 Obtención de la cetona 26a

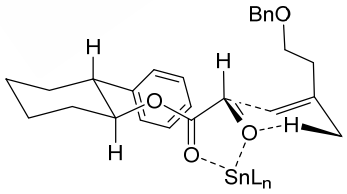
La introducción del grupo bencilo para la protección del hidroxilo se debe a su mejor funcionamiento en la reacción énica posterior y a la posibilidad de desprotección selectiva frente a grupos de silicio. El tratamiento del glioxilato **28** con tetracloruro de estaño a baja temperatura, seguido de la adición lenta del alqueno **33**, preparado por bencilación de **29**, condujo a la mezcla de alcoholes **27** (Esquema 16).[71]

Esquema 16. *Obtención de las cetonas* ***26*** *y separación de diastereoisómeros.*



En la Figura 21 se muestra el posible estado de transición de la reacción énica que conduce a la obtención de **27**, obteniéndose mayoritariamente uno de los diastereoisómeros. La asignación de la estereoquímica de la posición C1 se determinó en etapas posteriores por comparación con una muestra auténtica del enol-triflato obtenido **2**.

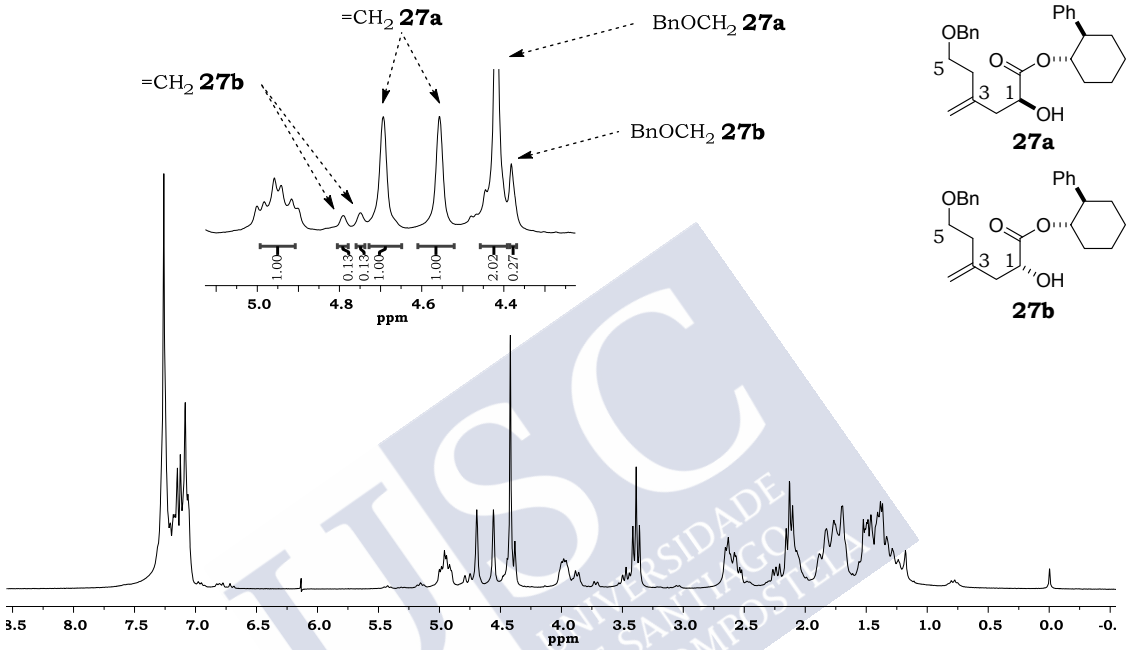
Figura 21. *Estado de transición planteado en la reacción énica.*



(71) **(a)** Mikami K, Loh TP, Nakai T. Diastereocontrol via lewis acid-promoted ene reaction with glyoxylates and its application to stereocontrolled synthesis of a 22R-hydroxy-23-carboxylate steroid side chain. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *48*, 6305-6308. **(b)** Whitesell JK, Lawrence RM, Chen HH. Auxiliary structure and asymmetric induction in the ene reactions of chiral glyoxylates. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4779-4784.

En la Figura 22 se puede observar el espectro de ^{1}H-RMN de la mezcla de alcoholes **27**, en el que se detalla la zona donde se observa la presencia mayoritaria del diastereoisómero **27a** en relación con el **27b**. Esta mezcla de alcoholes **27** se consiguió separar con dificultad mediante HPLC, por lo que se decidió proseguir con la mezcla para su separación cromatográfica posterior.

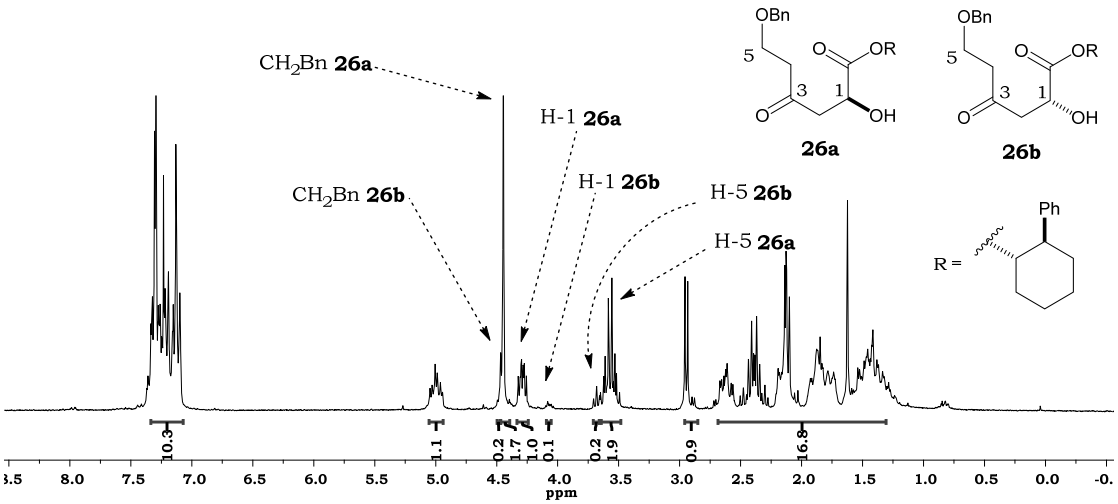
Figura 22. *Espectro de ^{1}H-RMN (250 MHz, $CDCl_3$) de la mezcla de alcoholes **27** obtenida de la reacción énica.*



La mezcla de alcoholes **27** se sometió a la ruptura oxidativa del doble enlace utilizando las mismas condiciones de reacción anteriormente descritas,[70] para formar las β-hidroxicetonas **26**, que pudieron separarse por cromatografía líquida de media presión para dar **26a** (79%) y **26b** (11%). En la Figura 23 se muestra el espectro de ^{1}H-RMN de la mezcla de cetonas **26**. Una vez conseguida la orientación 1α del hidroxilo deseada se procedió a continuar la ruta sintética propuesta.

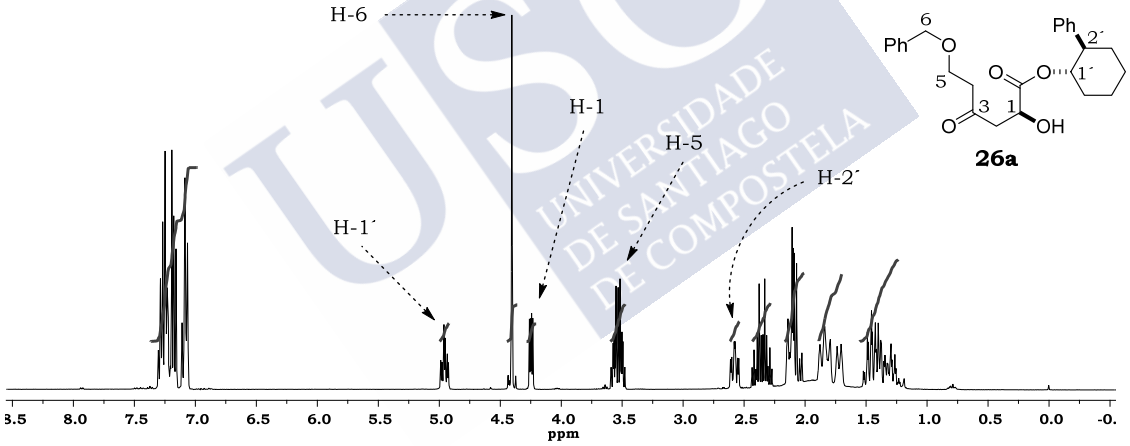
(70) Pappo R, Allen DS, Lemieux RU, Johnson WS. Osmium tetroxide-catalyzed periodate oxidation of olefinic bonds. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478-479.

Figura 23. *Espectro de ^{1}H-RMN (250 MHz, $CDCl_3$) de la mezcla de cetonas* ***26****.*



En la Figura 24 se muestra el espectro de la cetona **26a**.

Figura 24. *Espectro de ^{1}H-RMN (400MHz, $CDCl_3$) de la cetona* ***26a****.*



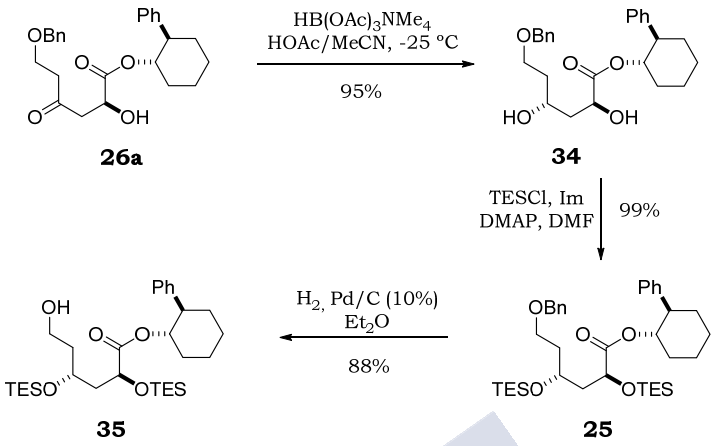
3.3 Obtención del enol-triflato 2

La reducción dirigida por el hidroxilo de la 1β-hidroxicetona **26a**, mediante el reactivo de Evans,[72] proporcionó el diol **34** en un 95% de rendimiento

(72) **(a)** Saksena AK, Mangiaracina P. Recent studies on vertrum alkaloids: a new reaction of sodium triacetoxyborhydryde [$NaBH(OAc)_3$]. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 273-276. **(b)** Evans DA, Chapman KT. The directed reduction of β-hydroxy ketones employing $Me_4NHB(OAc)_3$. *Tettrahedron Lett.* **1986**, *27*, 5939-5942.

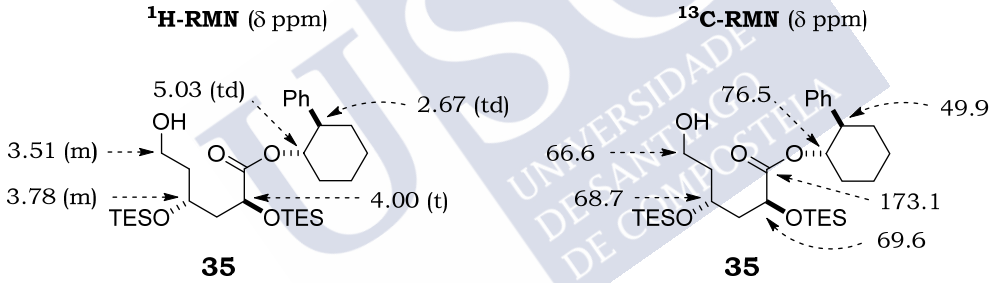
(Esquema 17), que se protegió con cloruro de trietilsililo, obteniéndose **25** (99%). La hidrogenación de **25** condujo al alcohol **35**.

Esquema 17. *Obtención del alcohol **35**.*



En la Figura 25 se muestran las principales señales de RMN del alcohol **35**.

Figura 25. *Principales señales de RMN del compuesto **35**.*



La oxidación de **35** con peryodinano de Dess-Martin proporcionó el aldehído **36** (Esquema 18), que se trató con el iluro de Corey-Fuchs,[61] formándose el dibromuro **37**. La reducción con DIBAL-H de **37** a baja temperatura[73] condujo a la eliminación del auxiliar quiral, recuperándose el alcohol **31** y obteniéndose el aldehído **38**. La obtención de este compuesto fue de especial interés, ya que

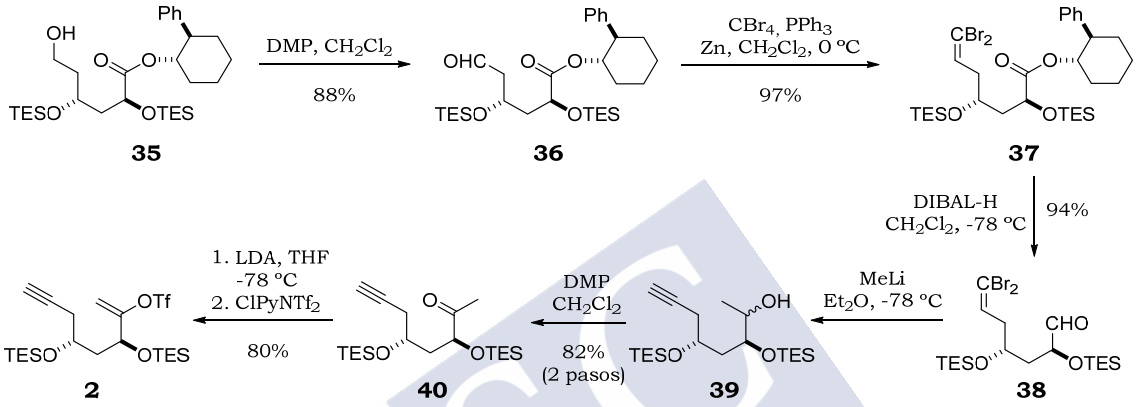
(61) Corey EJ, Fuchs PL. Synthetic method for conversion of formyl groups into ethynyl groups. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3769-3772.

(73) Webb D, Jamison TF. Diisobutylaluminum hydride reductions revitalized: A fast, robust, and selective continuous flow system for aldehyde synthesis. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 568-571.

permite el marcaje isotópico y la introducción del metileno de la posición C19 de la vitamina D_3.

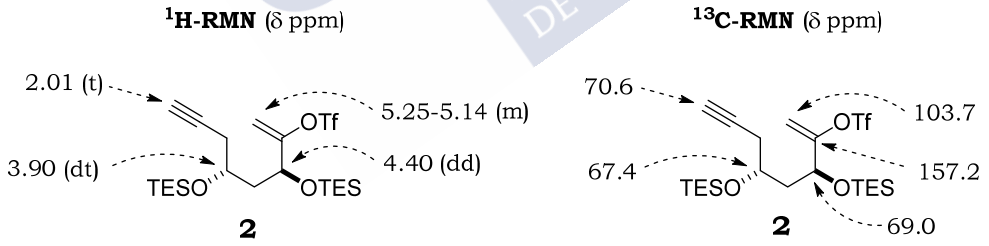
El tratamiento de **38** con MeLi provocó la eliminación de los bromos y la adición de un metilo sobre el carbonilo, generándose los alcoholes **39**, cuya oxidación con peryodinano de Dess-Martin proporcionó la cetona **40**. El tratamiento de la cetona **40** con LDA a baja temperatura condujo a la formación del enolato termodinámico que se atrapó con el reactivo de Comins[62] para proporcionar el enol-triflato **2**.

Esquema 18. *Obtención del enol-triflato **2**.*



En la Figura 26 se muestran las principales señales de RMN del enol-triflato **2**, cuya estructura se corroboró por comparación (^{1}H-RMN, ^{13}C-RMN, HRMS, IR, rotación especifica) con una muestra auténtica obtenida por otra ruta.[47]

Figura 26. *Principales señales de ^{1}H-RMN y ^{13}C-RMN del enol-triflato **2** obtenido.*



(62) Comins DL, Dehghani A. Pyridine derived triflating reagents: an improved preparation of vinyl triflates from metallo enolates. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6299-6302

(47) Gogoi P, Sigüeiro R, Eduardo S, Mouriño A. An expeditious route to 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by an aqueous tandem palladium catalyzed A-ring closure and Suzuki coupling to the C/D unit. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1432-1435

En este capítulo se ha conseguido llevar a cabo la síntesis del enol-triflato **2** partiendo del 3-metil-3-buten-1-ol (**29**) y del glioxilato **28** en 11 pasos y un rendimiento global del 29%.

La ruta previa de obtención del enol-triflato **2** consistía en 8 pasos y un rendimiento global del 33%.[68] La nueva ruta es similar a la ruta anterior a partir de la carvona, pero ofrece la posibilidad de escalado a multigramo en algunos pasos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(68) Mouriño A, Torneiro M, Vitale C, Fernández S, Pérez-Sestelo J. Anné S, Gregorio C. Efficient and versatile synthesis of A-ring precursors of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and analogues. Application to the synthesis of Lythgoe-Roche phosphine oxide. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4713-4716.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Capítulo III

Síntesis de la 1,25D$_3$ marcada con ^{13}C

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1 Antecedentes y justificación

El análisis de las interacciones ligando-receptor es una herramienta clave en el diseño racional de nuevos fármacos. La obtención de estructuras cristalográficas de complejos ligando-receptor permite el conocimiento de la conformación que adopta un ligando en el centro activo de su receptor, facilitando el diseño de análogos. Además del estudio mediante cristalografía, en el que los datos obtenidos de las interacciones son en estado sólido, existen técnicas de RMN que permiten un conocimiento más dinámico de estas interacciones, permitiendo analizar aspectos como la flexibilidad conformacional de los ligandos en el centro activo.[74]

Los estudios de interacciones ligando-receptor más comunes se realizan marcando las proteínas con isótopos estables. Los casos de marcaje de ligandos son menos habituales debido a la mayor dificultad de síntesis de ligandos marcados isotópicamente.[75]

El marcaje isotópico de ligandos es una herramienta útil para analizar la conformación que estos adoptan unidos a un receptor, así como para poder comparar estas conformaciones con las posibles estructuras cristalinas de estos complejos.[76]

Previamente se ha sintetizado la hormona 1,25D y algún metabolito marcado en diferentes posiciones. En 1991 se sintetizó la 1α-hidroxivitamina D_3, marcada con ^{13}C en la posición C19.[77] En el año 2002 el grupo de Okamura sintetizó tres metabolitos de la vitamina D marcados en las posiciones C9, C7 y C19 (Figura 27).[78]

---

(74) Canales A, Angulo J, Ojeda R, Bruix M, Fayos R, Lozano R, Giménez-Gallego G, Martín-Lomas M, Nieto PM, Jiménez-Barbero J. Conformational flexibility of a synthetic glycosylaminoglycan bound to a fibroblast growth factor. FGF-1 recognizes both the (1)C(4) and (2)S(O) conformations of a bioactive heparin-like hexasaccharide. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127,* 5778-5779.

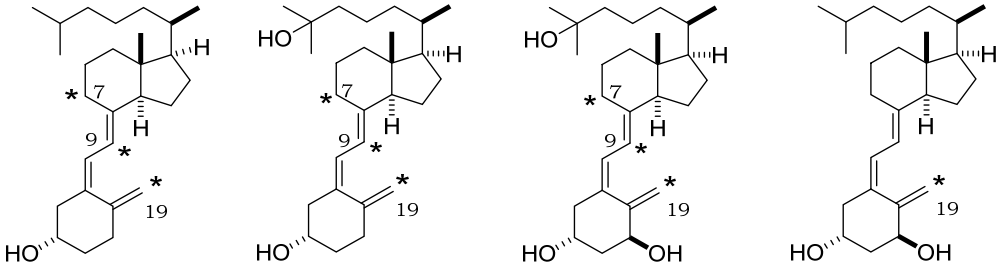
(75) Nestor G, Anderson T, Oscarson S, Gronenborn AM. Exploiting uniformly ^{13}C-labeled carbohydrates for probing carbohydrate-protein interactions by NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 6210-6216.

(76) De Graaf RA, Chowdhurry GMI, Behar KL. Quantification of high-resolution ^{1}H[^{13}C] NMR spectra from rat brain extracts. *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 5032−5038.

(77) Eguchi T, Kakinuma K, Ikekawa N. Synthesis of 1α-[19-^{13}C]-hydroxyvitamin D_3 and ^{13}C NMR analysis of the conformational equilibrium of the A-ring. *Bioorg. Chem.* **1991**, *19*, 327-332.

(78) Okamura WH, Zhu GD, Hill DK, Thomas RJ, Ringe K, Borchardt DB, Norman AW, Mueller LJ. Synthesis and NMR studies of ^{13}C-labeled vitamin D metabolites. *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 1637-1650.

Figura 27. *Ejemplos de análogos marcados con ^{13}C.*



[7, 9, 19-^{13}C]-vitamina D_3 | [7, 9, 19-^{13}C]-25(OH)D_3 | [7, 9, 19-^{13}C]-1α,25(OH)$_2D_3$ | [19-^{13}C]-1α(OH)D_3

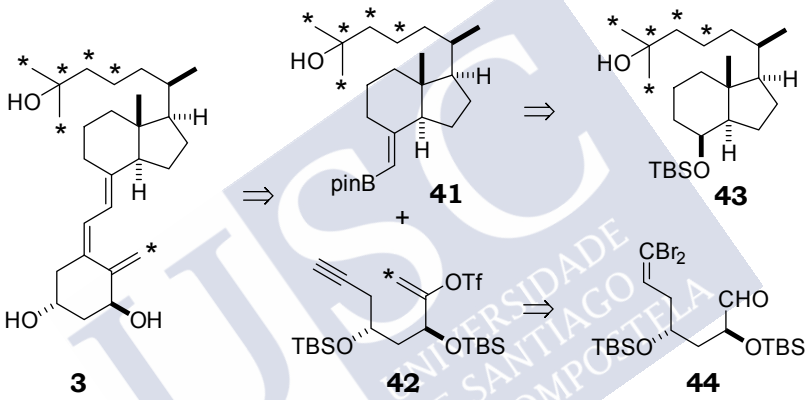
Para mejorar el conocimiento de detalles conformacionales de la hormona 1,25D en el centro activo del complejo 1,25D-VDR(LBD) mediante estudios de RMN, se propuso realizar la síntesis de la hormona 1,25D marcada en la cadena lateral y en C19.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2 Análisis retrosintético de 3

El plan de síntesis propuesto para la obtención de **3** (Esquema 19) sigue la ruta anteriormente descrita y desarrollada en estos laboratorios.[47] Se propuso la obtención de **3** mediante la reacción de carbociclación-acoplamiento de Suzuki-Miyaura entre el éster borónico **41** y el enol-triflato **42**. El éster borónico **41** se obtendría a partir del alcohol terciario **43**, obtenido en estos laboratorios por la Dra. Rita Sigüeiro a partir del diol de Inhoffen-Lythgoe. El enol-triflato **42** se obtendría a partir del dibromuro **44**, homólogo al dibromuro **38**, preparado previamente utilizando trietilsililo como grupo protector (Esquema 19).

Esquema 19. *Análisis retrosintético de **3**.*



(47) Gogoi P, Sigüeiro R, Eduardo S, Mouriño A. An expeditious route to 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by an aqueous tandem palladium catalyzed A-ring closure and Suzuki coupling to the C/D unit. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1432-1435.

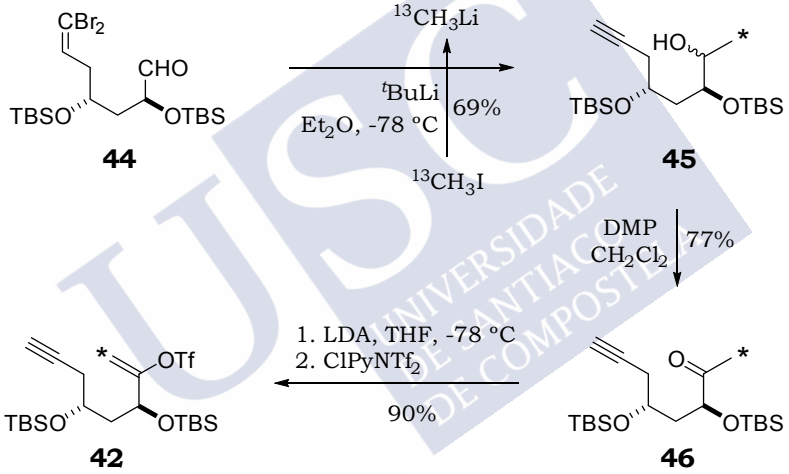
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

3 Trabajo realizado

3.1 Obtención del enol-triflato 42

La introducción del ^{13}C en la posición C19 se realizó a partir del aldehído **44**. La ruta de obtención del triflato **2** explicada en el Capítulo II de esta memoria permitió una fácil introducción del marcaje isotópico en la posición C19. El aldehído **44** se trató con metillitio marcado con ^{13}C, obtenido *in situ* por tratamiento de yoduro de metilo marcado con ^{13}C con *terc*-butillitio a baja temperatura, obteniéndose la mezcla de alcoholes **45**. Esta mezcla de alcoholes se oxidó a la cetona **46** por tratamiento con peryodinano de Dess-Martin. El enol-triflato **42** se obtuvo tratando el enolato generado a partir de **45** con el reactivo de Comins (Esquema 20).[62]

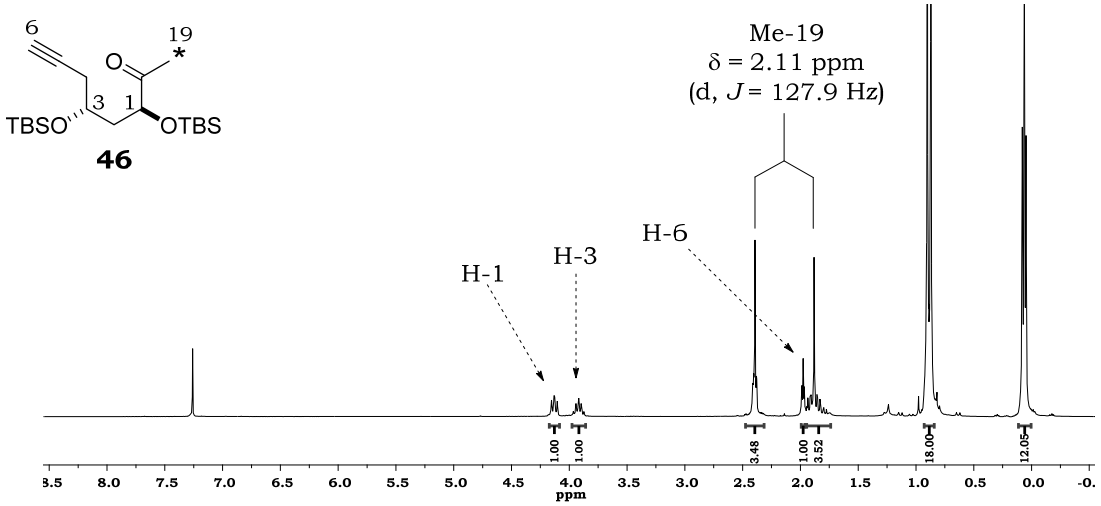
Esquema 20. *Obtención del enol-triflato **42**.*



En la Figura 28 se muestra el espectro de ^{1}H-RMN de la cetona **46**, en el cual se observan dos señales a 2.36 ppm y 1.85 ppm, correspondientes al desdoblamiento del metilo unido al carbonilo. Estos picos corresponden a un doblete a 2.11 ppm que integra por 3 hidrógenos con una constante de acoplamiento *J* de 127.9 Hz, resultado del acoplamiento ^{1}H-^{13}C.

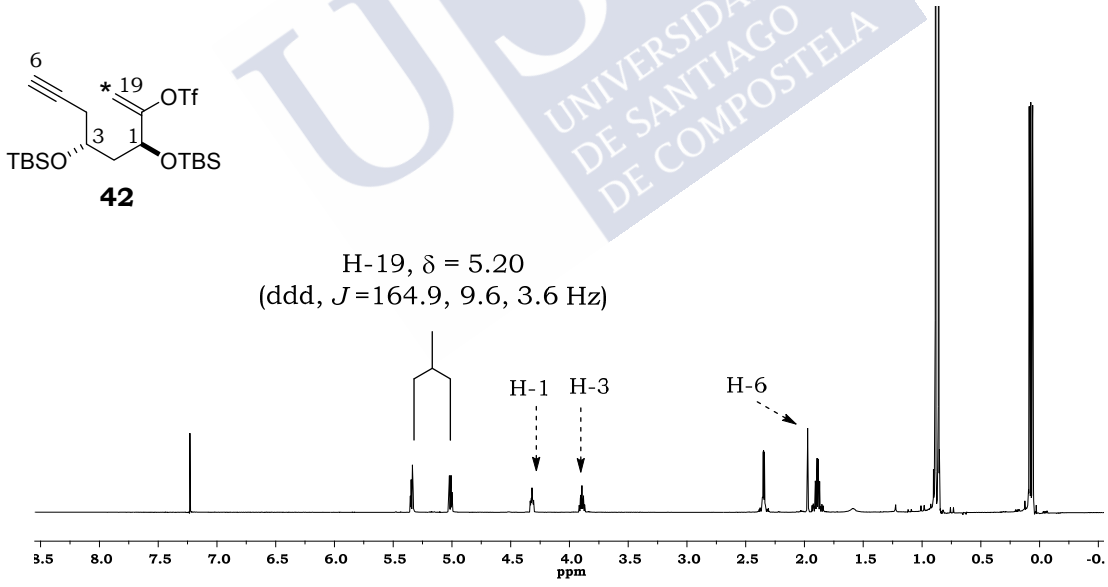
(62) Comins DL, Dehghani A. Pyridine derived triflating reagents: an improved preparation of vinyl triflates from metallo enolates. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6299-6302.

Figura 28. *Espectro de ^{1}H-RMN (250 MHz, $CDCl_3$) de la cetona* ***46****.*



En la Figura 29 se muestra el espectro de protón del enol-triflato **42**. En el espectro se observan las señales del alquino terminal (H-6) y las señales correspondientes a las posiciones C1 y C3. En el caso de la señal del metileno de la posición C19 se produce un desdoblamiento de su señal como consecuencia del acoplamiento ^{1}H-^{13}C.

Figura 29. *Espectro de ^{1}H-RMN (500MHz, $CDCl_3$) del enol-triflato* ***42****.*

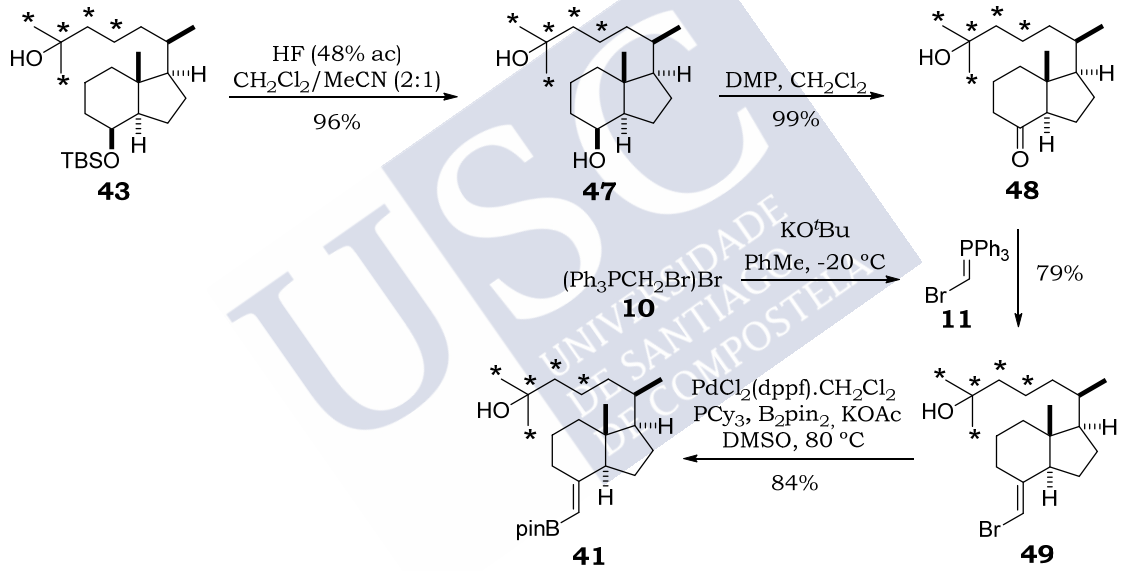


3.2 Síntesis del éster borónico 41

La obtención del éster borónico **41** partió del alcohol terciario **47**, previamente sintetizado por la Dra. Rita Sigüeiro en estos laboratorios. Este compuesto presenta marcaje isotópico en los carbonos C23, C24, C25, C26 y C27. Los átomos de ^{13}C proceden de $K^{13}CN$ y $(^{13}CH_3)_2{}^{13}CO$, ambos disponibles comercialmente.

La desprotección de **43** condujo al diol **47** que se trató con peryodinano de Dess-Martin para dar la cetona **48**. La reacción de la sal de fosfónio **10** con KO^{t}Bu proporcionó el iluro de fosforo **11**, que por reacción con la cetona **48** generó el bromuro vinílico **49**.[46] Utilizando las condiciones de borilación de Miyaura,[56] el bromuro vinílico **49** se convirtió en el éster de boro **41** (Esquema 21).

Esquema 21. *Obtención del éster borónico **41**.*

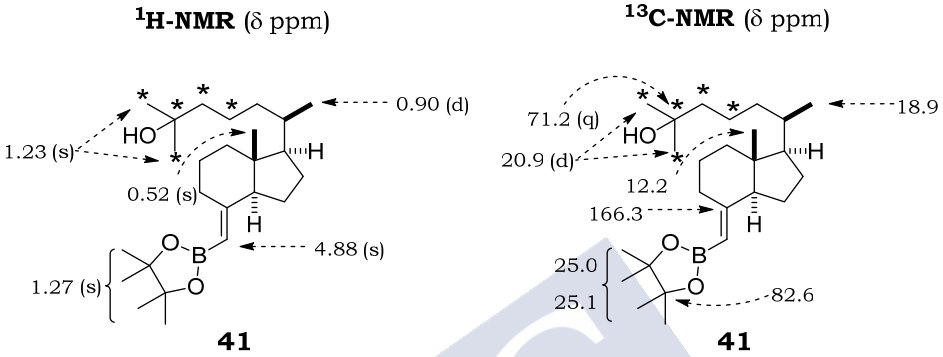


(46) Trost BM, Dumas J, Villa M. New strategies for the synthesis of vitamin D metabolites via Pd-catalyzed reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9836-9845.

(56) **(a)** Ishiyama T, Murata M, Miyaura N. Palladium(0)-catalyzed cross-coupling reaction of alkoxydiboron with haloarenes: A direct procedure for arylboronic esters. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508 –7510. **(b)** Ishiyama T, Ishida K, Miyaura N. Synthesis of pinacol arylboronates via cross-coupling reaction of bis(pinacolato)diboron with chloroarenes catalyzed by palladium (0)-tricyclohexylphosphine complexes. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9813-9816.

En la Figura 30 se muestran las principales señales de RMN del éster borónico **41**. Se puede observar la presencia de los metilos del pinacol en el espectro de protón como un singulete intenso a 1.27 ppm, así como la presencia del protón vinílico a 4.88 ppm. En el espectro de ^{13}C-RMN se observan dos picos correspondientes a los metilos del pinacol, así como los carbonos cuaternarios de este mismo grupo a 82.6 ppm.

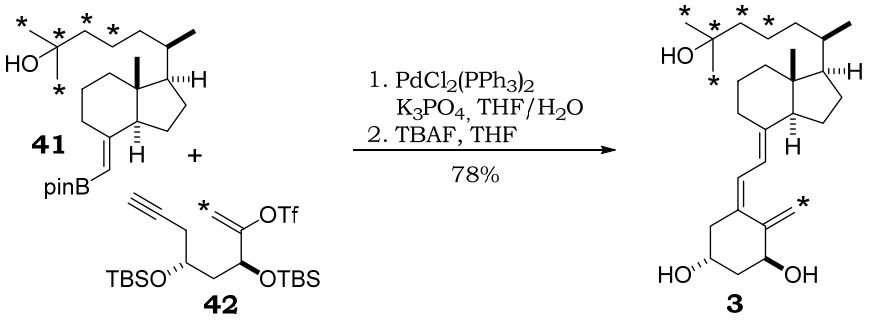
Figura 30. *Principales señales de RMN del éster borónico **41**.*



3.3 Síntesis de la 1,25D

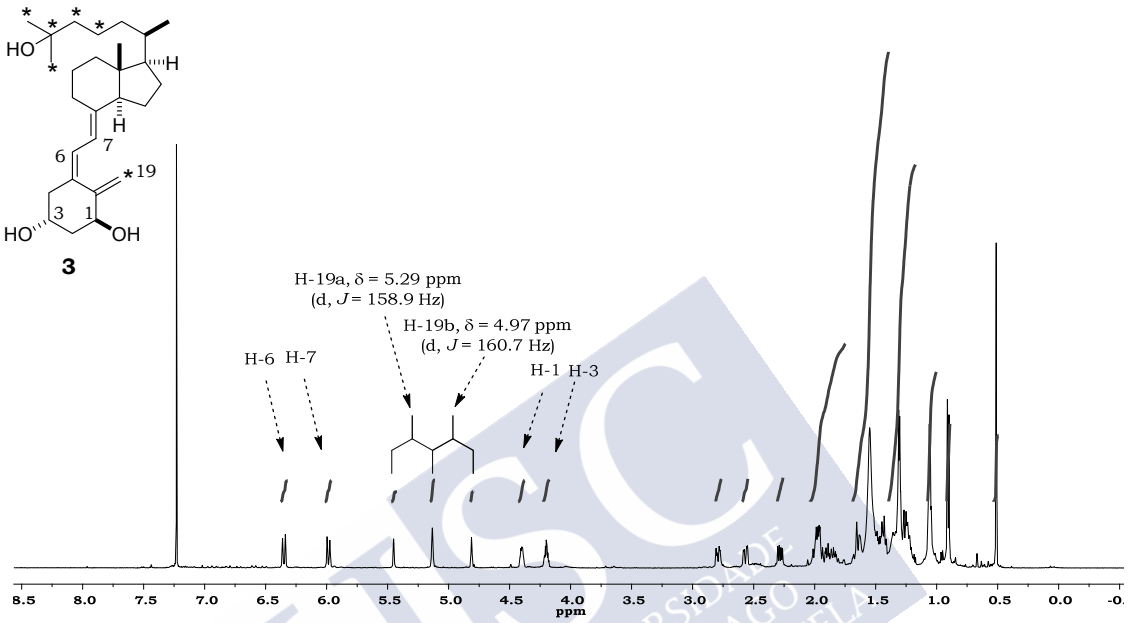
En el Esquema 22 se muestran las condiciones usadas para la obtención de la hormona 1,25D marcada **3**. La carbociclación del enol-triflato **42** seguido del acoplamiento del intermedio de paladio resultante con el éster de boro **41** condujo al correspondiente derivado marcado, cuya desprotección llevó a la obtención de la hormona 1,25D marcada **3** (8 pasos, 30% de rendimiento global).

Esquema 22. *Obtención de la hormona marcada **3**.*



En la Figura 31 se muestra el espectro de protón de 3, en el que se observa la presencia de los hidrógenos de la posición C19 como dos dobletes a 5.29 ppm y 4.97 ppm. Los hidrógenos de las posiciones C6 y C7 aparecen como dos dobletes clásicos.

Figura 31. *Espectro de ^{1}H-RMN (500MHz, $CDCl_3$) del compuesto* ***3****.*



USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Parte experimental

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Procedimientos generales

Las reacciones con compuestos o mezclas sensibles al oxígeno o a la humedad se llevaron a cabo bajo atmósfera de argón desoxigenado y seco (Argón Alphagaz-1). Los matraces utilizados para las reacciones se secaron en una estufa a 150 ºC, al menos durante 12 h o se flamearon o calentaron con un decapador y enfriaron bajo corriente de argón.

Los disolventes utilizados se purificaron según las indicaciones de Brown[79] y se destilaron bajo atmósfera de argón, utilizando un agente desecante adecuado. Et_2O y THF se destilaron de Na-benzofenona, tolueno de Na, piridina, $^{i}Pr_2NH$, Et_3N, $^{i}Pr_2NEt$ y CH_3CN de CaH_2, CH_2Cl_2 de P_2O_5, MeOH de Mg/I_2, DMSO se destiló de CaH_2 a presión reducida y luego se almacenó sobre tamices moleculares de 4 Å y la DMF de calidad de síntesis se secó sobre tamices moleculares de 4 Å.

Las disoluciones comerciales de ^{n}BuLi (disolución en hexanos, Aldrich) ^{t}BuLi (disolución en pentano, Aldrich), MeLi (disolución en Et_2O, Aldrich) se valoraron con *N*-bencilbenzamida (Aldrich) antes de su uso.[80]

Para las extracciones se utilizaron CH_2Cl_2, Et_2O, hexanos, EtOAc o MTBE (*terc*-butilmetiléter).

El dicromato de piridinio (PDC) se preparó según las indicaciones de Corey.[81]

El bromuro de bromometiltrifenilfosfonio (Ph_3PCH_2Br)Br **8** y la *N*-(5-cloro-2-piridil) triflimida ($ClPyNTf_2$) se prepararon siguiendo la bibliografía. [82,83,]

Para las reacciones a baja temperatura se utilizaron baños de hielo seco en acetona o metanol enfriados con una sonda de refrigeración Inmersión Cooler EK-90 de Thermo Fisher Scientific, provista de un controlador de temperatura. Para las reacciones a alta temperatura se utilizaron baños de silicona provistos de

(79) Brown HC. Organic synthesis via boranes. *John Wiley & Sons*. New York, 1975.
(80) Burchat AF, Chong JM, Nielsen N. Titration of alkyllithiums with a simple reagent to a blue endpoint. *J. Organomet. Chem.* **2007**, *542*, 284-283.
(81) Corey EJ, Schmidt G. Useful procedures for the oxidation of alcohols involving pyridinium dichromate in approtic media. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 399-402.
(82) Vassilikogiannakis G, Hatzimarinaki M, Orfanopoulos M. Mechanism of the [2 + 2] photocycloaddition of fullerene C60 with styrenes. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8180-8187.
(83) Comins DL, Dehghani A, Foti, CJ, Joseph, SP. Pyridine-derived triflating reagents: N -(2-pyridyl)triflimide and N -(5-chloro-2-pyridyl)triflimide. *Organic Syntheses* **1997**, *74*, 77-83.

termómetro de contacto en el baño. Las temperaturas indicadas se refieren a la temperatura del baño externo.

Las jeringas utilizadas fueron de plástico (Discardit) y de vidrio (Hamilton), con agujas con acoplamiento Luer. La adición de disoluciones o disolventes se realizó con jeringa o cánula. Se utilizó agitación magnética.

Las fases orgánicas procedentes de la elaboración de las diversas reacciones se secaron con Na_2SO_4 anhidro. La concentración de disolventes a presión reducida se realizó en un rotavapor Büchi modelo R-114.

El progreso de las reacciones se siguió mediante cromatografía en capa fina. Se utilizaron placas de aluminio con una capa de gel de sílice GF-254 Merck. Después de observar la fluorescencia a la luz ultravioleta de 254 nm, las placas se revelaron tratándolas con distintas disoluciones reveladoras: **(a)** disolución de *p*-anisaldehído en etanol y **(b)** disolución de molibdato cérico amónico en etanol y posterior calentamiento con un decapador.

Para la cromatografía rápida en columna se utilizaron las condiciones de Still.[84] Se utilizó gel de sílice (230-400 mesh, Merck). Los disolventes (hexanos, EtOAc y CH_2Cl_2) utilizados para la cromatografía rápida se destilaron antes de su uso. El Et_2O y el *terc*-butilmetiléter (MTBE) se utilizaron sin destilar.

Las separaciones por MPLC (cromatografía liquida de media presión) se realizó en un equipo Supelco VersaFlash® (97732-U), utilizando columnas de SiO_2 (40-75 µm, 40x75 mm, VersaPak®).

Las separaciones por HPLC se realizaron en un equipo SHIDMADZU modelo LC-8A equipado con un detector de UV THERMO SP modelo Spectra 100 utilizando una columna Phenomenex-LUNA 5µ Silica (2), 10x250 mm. Los disolventes utilizados fueron de grado HPLC (hexanos, EtOAc e ^{i}PrOH) y se desoxigenaron a vacío antes de su uso.

(84) Still WC, Khan MY, Mitra A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolutions. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro Bruker AMX-500 (11.74 T, 500 MHz para ^{1}H), Varian Inova-400 (9.39 T, 400 MHz para ^{1}H y 101 MHz para ^{13}C) y Bruker DPX-250 (5.87 T, 250 MHz para ^{1}H y 63 MHz para ^{13}C) pertenecientes al servicio de RMN de la Universidad de Santiago de Compostela. Los espectros se realizaron utilizando $CDCl_3$ como disolvente. Los desplazamientos químicos se expresan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ = 0.0 ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. Se utilizó como referencia interna la señal residual del disolvente; $CDCl_3$: 7.26 ppm (^{1}H) y 77.0 ppm (^{13}C, triplete).

Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas de sector magnético Thermo MAT95XP (EI^+) y en un espectrómetro de masas en tándem (MS/MS) LC-Q-q-TOF Applied Biosystems QSTAR Elite (ESI) de los Servicios de Apoyo a la Investigación de la Universidad de A Coruña. Los espectros IR se registraron en un espectrofotómetro de infrarrojo, BRUKER VECTOR 22 de los Servicios de Apoyo a la Investigación de la Universidad de A Coruña.

Los compuestos se nombraron y numeraron siguiendo la nomenclatura sistemática propuesta por la IUPAC utilizando el programa ChemDraw y los análogos de la vitamina D_3 se han nombrado utilizando las normas asignadas para derivados de la vitamina D.[7,85]

A continuación se recogen las referencias y la casa comercial correspondiente para cada uno de los reactivos utilizados en este trabajo.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(7) **(a**) Definitive rules of nomenclature of steroids. *Pure Appl. Chem.* **1972**, *31*, 283-322. **(b)** Nomenclature of vitamin D**.** *Pure Appl. Chem***. 1982,** *54***,** 1511-1516**.**

(85) Coffey S. Rodd's chemistry of carbon compounds. Vol II. Part D*: Steroids*. Elsevier. London **1970**.

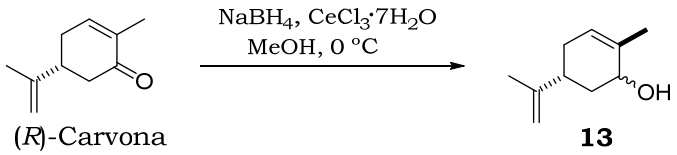
$(DHQ)_2PHAL$, Aldrich, Ref. 101618603
$(Ph_3P)_2PdCl_2$, Fluka, Ref. 15253
(*R*)-carvona, Sigma-Aldrich, Ref. 124931
$^{13}CH_3I$, Aldrich, Ref. 277185
3-Metil-3-buten-1-ol, Aldrich, Ref. 101539606
Ac_2O, Acros, Ref. 149490010
Acrilato de metilo, Aldrich, Ref. M27301
B_2pin_2, Aldrich, Ref. 473294
Benzofenona, Fluka, Ref. 12750
BnCl, Sigma-Aldrich, Ref. 18558
CBr_4, Acros, Ref. 325151000
$CDCl_3$, Aldrich, Ref. 151823
$CeCl_3{\cdot}7H_2O$, Fluka, Ref. 22300
CH_2Cl_2, Sigma-Aldrich, Ref. 32222
$CHCl_3$, Fischer, Ref. 10102190
Cloruro de acroilo, Aldrich, Ref. 401543924
D_3CMgI, Aldrich, Ref. 293091
DIBAL-H, hexanos, Aldrich, Ref. 190306
Dioxano, Acros, Ref. 177110025
DIPEA, Acros, Ref. 115225000
DIPEA, Acros, Ref. 115225000
DMAP, Fluka, Ref. 29224
DMF, Sigma-Aldrich, Ref. 33120
DMP, Carbolution, Ref. CC03024
DMSO, Acros, Ref. 295520025
Et_2O, Sigma-Aldrich, Ref. 32703
Et_3N, Sigma-Aldrich, Ref. T0886
EtOH, Panreac, Ref. 1310851612
Fenilciclohexeno, Aldrich, Ref. 1001431895
H_5IO_6, Aldrich, Ref. 375810
$HB(OAc)_3NMe_4$, ABCR, AB173758
HCl, 37%, Quimipur, Ref. 146
HF, 48-51%, Acros, Ref. 223335000
HOAc Merck, Ref. K30802863
Imidazol, Fluka, Ref. 56750
K_2CO_3, Quimipur, Ref. 584087
$K_2OsO_4.2H_2O$, Acros, Ref. 197665000
$K_3Fe(CN)_6$, Grüssing, Ref. 120271000
$K_3PO_4{\cdot}3H_2O$, Aldrich, Ref. P5629
KOH, Quimipur, Ref. 408
KO^{t}Bu, Acros, Ref. 865474
$Me_2SO_2NH_2$, Acros, Ref. 296110250
MeCN Panreac, Ref. 3618111612
MeLi, Aldrich, Ref. 197343
MeMgBr, Aldrich, Ref. 269549
MeOH, Sigma-Aldrich, Ref. 32213
Na, Prolabo, Ref. 27637230
$Na_2S_2O_3$, Acros, Ref. 450620010
Na_2SO_4, Quimipur, Ref. 276
$NaBH_4$, Fluka, Ref. 71320
NaH, Aldrich, Ref. 45291
$NaHCO_3$, Quimipur, Ref. 711
NaOH, Sharlan, Ref. S004251000
^{n}BuLi, Acros, Ref. 81278000
NH_4Cl, Quimipur, Ref. 87
Ni-Ra, Acros, Ref. 395925000
OsO_4, Sigma-Aldrich, Ref. 251755
P_2O_5, Panreac, Ref. 131154
PCy_3, Aldrich, Ref. 261971
PCy_3, Aldrich, Ref. 261971
Pd/C, Aldrich, Ref. 520888
$PdCl_2(dppf){\cdot}CH_2Cl_2$, Aldrich, Ref. 379670
Ph_3P, Aldrich, Ref. T84409
PhMe, Sigma-Aldrich, Ref. 32249
Silica Gel 60, Merck, Ref.109385
$SnCl_4$, Aldrich, Ref. 249955
TBAF, Aldrich, Ref. 216143
TBHP, Aldrich, Ref. 416665
TBSCl, ABCR, Ref. AB110655
^{t}BuLi, Aldrich, Ref. 186198
^{t}BuOH, Acros, Ref. 107710010
TESCl, Aldrich, Ref. 235067
THF, Fluka, Ref. T070017
$VO(acac)_2$, Aldrich, Ref. 550787
Zn, Strem, Ref. 933056

Parte experimental

Capítulo I

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

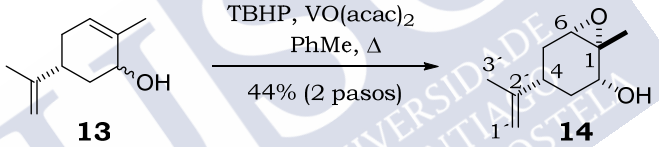
(1,5*R*)-2-Metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohex-2-en-1-ol (13)



(*R*)-Carvona **13**

$CeCl_3 \cdot 7H_2O$ (27.3 g, 73.3 mmol, 1.1 equiv) se añadió sobre una disolución de la (*R*)-carvona (10 g, 66.6 mmol, 1 equiv) en MeOH (100 mL). La mezcla se enfrió a 0 °C. $NaBH_4$ (2.77 g, 73.3 mmol, 1.1 equiv) se añadió en 3 porciones sobre la mezcla anterior. La mezcla se agitó durante 30 min. Se añadió agua (20 mL). La mezcla se concentró a medio volumen. Se añadió EtOAc. La mezcla se lavó sucesivamente con una disolución de HCl (20 mL, 10%), una disolución saturada de NH_4Cl (20 mL) y agua (20 mL). La fase orgánica se secó, filtró y concentró. La mezcla de alcoholes alílicos **13** se utilizó directamente para el siguiente paso sin purificación.

(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-1-Metil-4-(prop-1-en-2-il)-7-oxabiciclo[4.1.0]heptan-2-ol (14)

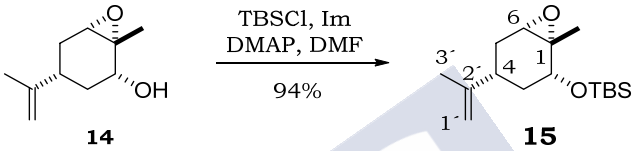


13 **14**

$VO(acac)_2$ (174 mg, 6.66 mmol, 0.02 equiv) se añadió sobre una disolución del residuo anterior (5 g, 32.8 mmol, 1 equiv) en PhMe (100 mL). La disolución verde se calentó a reflujo durante 5 min. Se añadió gota a gota TBHP (10.9 mL, 3.3 M, 36.1 mmol, 1.1 equiv). La mezcla se agitó 30 min, observándose un cambio de color de verde a rojo. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (50 mL). La mezcla se extrajo con Et_2O (3x30 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 4x10 cm, 10% EtOAc/hexanos) para dar el epoxialcohol **14** [2.43 g, 44% (2 pasos), aceite incoloro R_f = 0.4 (20% EtOAc/hexanos, $[\alpha]_D^{25}$ = -18.0 (c = 1.4, $CHCl_3$)].

^{1}H RMN (250 MHz, $CDCl_3$) δ 4.61 (s, 2H, H-1´), 3.78 (dd, *J* = 10.7, 5.4 Hz, 1H, H-2), 3.09 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, H-6), 2.54 (sa, 1H, H-OH), 1.92 (m, 1H, H-4), 1.76 – 1.64 (m, 2H), 1.60 (s, 3H, Me-1), 1.38 (s, 3H, H-3´), 1.36 – 1.06 (m, 2H). **^{13}C RMN** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 147.5 (C, C-2´), 109.6 (CH_2, C-1´), 72.0 (CH, C-2), 62.1 (CH, C-6), 60.4 (C, C-1), 40.3 (CH, C-4), 33.7 (CH_2), 29.0 (CH_2) 20.0 (CH_3), 19.0 (CH_3).). **IR** (film, cm^{-1}): 3432 (ν_{O-H}), 1645 ($\nu_{C=C}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: (m/z): calculado para $[C_{10}H_{16}O_2]^+$: 168.1145 $[M]^+$; encontrado: 168.1495.

(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-1-Metil-4-(prop-1-en-2-il)-7-oxabiciclo[4.1.0]heptan-2-ol *terc*-butildimetil éter (15)

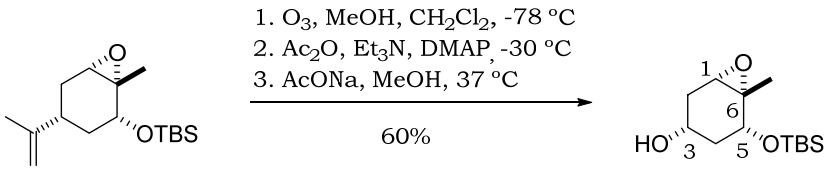


14 **15**

Im (4.04 g, 59.4 mmol, 2 equiv), DMAP (360 mg, 2.97 mmol, 0.1 equiv) y TBSCl (6.7 g, 44.6 mmol, 1.5 equiv) se añadieron sucesivamente sobre una disolución del alcohol **14** (5 g, 29.7 mmol, 1 equiv) en DMF (50 mL). La mezcla se agitó a *ta* durante 12 h. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (50 mL). La mezcla se extrajo con hexanos (3x50 mL). La fase orgánica combinada de secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 4x10 cm, hexanos) para dar **15** [7.9 g, 94%, sólido blanco, PF = 26.5-27.5 ºC, R_f = 0.9 (10% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = -39.2 (c = 1.1, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz $CDCl_3$) δ, 4.64 (s, 2H, H-1´), 3.88 (dd, *J* = 8.7, 7.0 Hz, 1H, H-2), 3.00 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, H-6), 2.09 – 1.86 (m, 2H), 1.63 (m, 4H, H-4 + Me-3´), 1.57 – 1.38 (m, 2H), 1.32 (s, 3H, Me), 0.88 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.06 (d, *J* = 4.7 Hz, 6H, 2xMe-Si). **^{13}C RMN** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 148.0 (C, C-2´), 109.6 (CH_2, C-1´), 73.1 (CH, C-2), 60.9 (CH, C-6), 60.1 (C, C-1), 40.9 (CH, C-4), 33.7 (CH_2), 29.1 (CH_2), 25.8 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 20.0 (CH_3), 19.7 (CH_3), 18.1 (C, C-Si), -4.08 (CH_3, Me-Si), -4.75 (CH_3, Me-Si). **IR** (film, cm^{-1}): 1646 ($\nu_{C=C}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: calculado para $[C_{16}H_{31}O_2Si]$, $[M]^+$: 283.2087; encontrado: 283.2091.

(1*S*,3*R*,5*R*,6*S*)-5-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)-6-metil-7-oxabiciclo [4.1.0]heptan-3-ol (16)



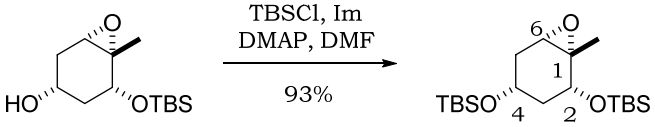
15 **16**

Una mezcla de O_3/O_2 (0.7 bar, 0.1 nL/h. 50 W) se burbujeó a través de una disolución enfriada a -78 ºC de **15** (5.1 g, 18.1 mmol, 1 equiv) en una mezcla de CH_2Cl_2 (100 mL) y MeOH (4 mL) hasta coloración azul. El exceso de O_3 se eliminó pasando una corriente de Ar durante 20 min. La mezcla se dejó alcanzar *ta* y se añadió PhMe (25 mL). El residuo obtenido después de concentrar a vacío se disolvió en CH_2Cl_2 (40 mL) y la disolución obtenida se enfrió a -35 ºC. Se añadió sucesivamente Et_3N (24.7 g, 180 mmol, 10 equiv), DMAP (0.44 g, 3.6 mmol, 0.2 equiv) y Ac_2O (17 mL, 180.5 mmol, 10 equiv). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h en baño de hielo. La reacción se detuvo por adición de MeOH (5 mL). La mezcla se concentró a medio volumen y se añadió EtOAc (20 mL). La fase orgánica se lavó con una disolución de ácido cítrico (2x20 mL, 10%) y disolución saturada de $NaHCO_3$ (20 mL). La fase orgánica se secó, filtró y concentró. El residuo se disolvió en MeOH (60 mL) y se añadió NaOAc (0.3 g, 3.6 mmol, 0.2 equiv). La mezcla se calentó a 37 ºC durante 12 h y luego se concentró a medio volumen. Se añadió EtOAc (20 mL). La fase orgánica se lavó con una disolución saturada de NH_4Cl (50 mL), se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 3x10 cm, 20% EtOAc/hexanos) para dar **16** [2.8 g, 60%, aceite incoloro, R_f = 0.20 (20% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = -21.1 (c = 1.0, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 3.95 (dd, *J* = 9.3, 5.3 Hz, 1H, H-5), 3.64 (m, 1H, H-3), 2.94 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, H-1), 2.24 – 2.12 (m, 1H), 1.86 – 1.70 (m, 2H), 1.67 – 1.56 (m, 1H), 1.31 (s, 3H, Me), 0.88 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.07 (d, *J* = 2.9 Hz, 6H, 2xMe-Si). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 70.8 (CH, C-5), 65.6 (CH, C-3), 60.3 (C, C-6), 58.7 (CH, C-1), 38.1 (CH_2), 33.4 (CH_2), 25.9 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 19.8 (CH_3), 18.2 (C, ^{t}Bu-Si),

-4.1 (CH_3, Me-Si), -4.6 (CH_3, Me-Si). **IR** (film, cm^{-1}): 3422 (ν_{O-H}). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{13}H_{27}O_3SiNa]^+$: 259.1723 [M+Na]$^+$; encontrado: 259.1733.

(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-1-Metil-7-oxabiciclo[4.1.0]heptan-2,4-diol *terc*-butildimetil éter (17)

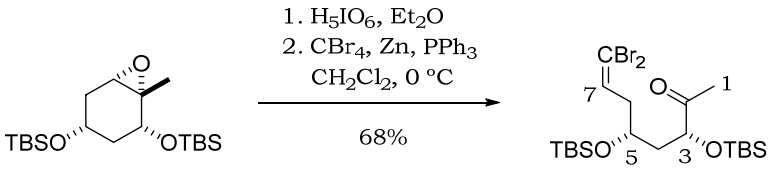


16 **17**

Im (2.63 g, 38, 7 mmol, 2 equiv), DMAP (236 mg, 1.9 mmol, 0.1 equiv) y TBSCl (4.36 g, 29.09 mmol, 1.5 equiv) se añadieron sucesivamente sobre una disolución del alcohol **16** (5 g, 19.35 mmol, 1 equiv) en DMF (50 mL). La mezcla se agitó a *ta* durante 14 h. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (50 mL). La mezcla se extrajo con hexanos (3x30 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 4x10 cm, hexanos) para dar **17** [6.7 g, 96%, aceite incoloro, R_f = 0.60 (10% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = -16.8 (c = 1.2, $CHCl_3$)].

^{1}H RMN (250 MHz, $CDCl_3$) δ 3.88 (dd, *J* = 10.2, 5.7 Hz, 1H, H-2), 3.54 (ddd, *J* = 16.9, 8.9, 5.6 Hz, 1H, H-4), 2.84 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, H-6), 2.13 – 1.99 (m, 1H), 1.79 – 1.58 (m, 3H), 1.29 (s, 3H, Me-1), 0.88 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.83 (s, 9H, ^{t}Bu-Si)), 0.06 (d, *J* = 3.2 Hz, 6H, 2xMe-Si), 0.00 (s, 6H, 2xMe-Si). **^{13}C NMR (**63 MHz, $CDCl_3$) δ 71.2 (CH, C-2), 66.4 (CH, C-4), 60.1 (C, C-1), 58.2 (CH, C-6), 38.5 (CH_2), 34.0 (CH_2), 25.8 (CH_3, 2x^{t}Bu-Si), 19.2 (CH_3), 18.1 (C, 2xC-Si), -4.2 (CH_3, Me-Si) -4.7 (CH_3, 3xMe-Si). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{19}H_{41}O_3Si_2Na]^+$: 373.2588 [M+Na]$^+$; encontrado: 373.2589.

(3*R*,5*R*)-8,8-Dibromo-3,5-bis((*terc*-butildimetilsilil)oxi)oct-7-en-2-ona (21)

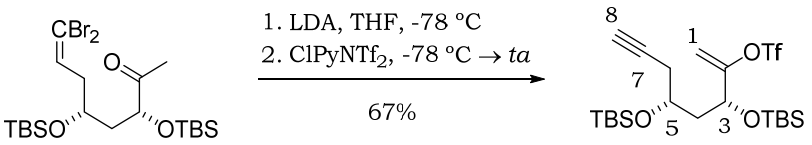


17 **21**

H_5IO_6 (2.77 g, 12.1 mmol, 3 equiv) se añadió sobre una disolución del epóxido **17** (1.51 g, 4.05 mmol, 1 equiv) en Et_2O (30 mL). La mezcla se agitó a *ta* durante 4 h. Se añadió una disolución saturada de $Na_2S_2O_3$ (30 mL). La mezcla se extrajo con Et_2O (3x20 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. CBr_4 (4.02 g, 12.15 mmol, 3 equiv) se añadió sobre una suspensión de PPh_3 (3.18 g, 12.15 mmol, 3 equiv) y Zn (0.8 g, 12.15 mmol, 3 equiv) en CH_2Cl_2 (40 mL) enfriada a 0 ºC. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 2 min y a *ta* durante 1.5 h. Sobre esta suspensión se añadió vía cánula una disolución del crudo anterior (1.52 g, 4.05 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (10 mL). La mezcla se agitó a *ta* durante 1 h y luego se filtró sobre sílica, lavando con una mezcla de EtOAc/hexanos (10%). El filtrado se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 3x10 cm, hexanos) para dar **21** [1.5 g, 68% (2 pasos), aceite incoloro, R_f = 0.80 (10% EtOAc/hexanos)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 6.45 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-7), 4.08 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, H-3), 3.90 (tt, *J* = 11.5, 5.8 Hz, 1H, H-5), 2.33 (qt, *J* = 8.4, 4.2 Hz, 2H, H-6), 2.15 (s, 3H, H-1), 1.82 – 1.68 (m, 2H, H-4), 0.91 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.88 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.07 (s, 12H, 4xMe-Si). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 210.9 (C, C=O), 135.0 (CH, C-7), 90.4 (C, C-8), 76.5 (CH, C-3), 67.6 (CH, C-5), 42.4 (CH_2), 40.9 (CH_2), 25.9 (CH_3, 2x^{t}Bu-Si), 25.1(CH_3, C-1), 18.2 (C, ^{t}Bu-Si), 18.1 (C, ^{t}Bu-Si), -4.1 (CH_3, Me-Si), -4.4 (CH_3, Me-Si), -4.5 (CH_3, Me-Si), -4.6 (CH_3, Me-Si). **IR** (film, cm^{-1}): 1645 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: calculado para [$C_{20}H_{41}Br_2O_3Si_2$]: 543.0961 [M+H]$^+$; encontrado: 543.0973.

(3*R*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)oct-1-en-7-in-2-il trifluorometano sulfonato (5)

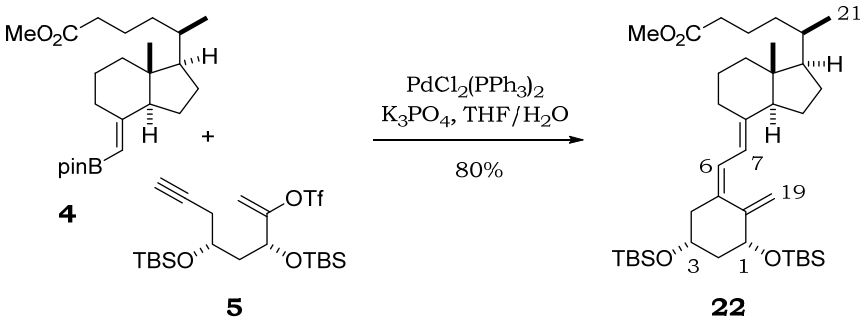


21 **5**

Una disolución del dibromuro **21** (1.7 g, 3.12 mmol, 1 equiv) en THF (20 mL) se añadió *vía* cánula sobre una disolución enfriada a -78 ºC de LDA (1.1 mL, 0.9 M, 9.4 mmol, 3 equiv). La mezcla se agitó durante 1h. $ClPyNTf_2$ (3.7 g, 9.4 mmol, 3 equiv) se añadió sobre la disolución anterior. La mezcla se dejó agitando hasta *ta*. Se añadió una disolución saturada de NaCl (50 mL). La mezcla se extrajo con MTBE (3x30 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 3x10 cm, hexanos) para dar **5** [1.1 g, 67%, aceite incoloro, R_f = 0.50 (5% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = 0.5 (c = 1.5, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5.20 (dt, *J* = 3.5, 2.0 Hz, 1H, H-1), 4.39 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H, H-3), 3.90 – 3.84 (m, 1H, H-5), 2.43 – 2.33 (m, 2H), 2.10 – 2.04 (m, 1H), 1.99 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-8), 1.85 (dt, *J* = 14.2, 6.2 Hz, 1H), 0.92 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.90 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.11 (s, 3H, Me-Si), 0.09 (s, 3H, Me-Si), 0.08 (s, 3H, Me-Si), 0.06 (s, 3H, Me-Si). **^{13}C RMN** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 156.4 (C, C-2), 104.4 (CH_2, C-1), 80.7 (C, C-7), 70.5 (CH, C-8), 69.4 (CH, C-3), 67.4 (CH, C-5), 41.6 (CH_2), 27.4 (CH_2), 25.7 (CH_3, 2x^{t}Bu-Si), 18.0 (C, 2xC-Si), -4.31 (CH_3, Me-Si), -4.67 (CH_3, Me-Si) –4.52 (CH_3, Me-Si) -5.39 (CH_3, Me-Si). **IR** (film, cm^{-1}): 3315 ($\nu_{\equiv C-H}$), 1670 ($\nu_{C=C}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{21}H_{40}O_5NF_3Si_2SNa]^+$: 517.2081 $[M+Na]^+$; encontrado: 517.2092.

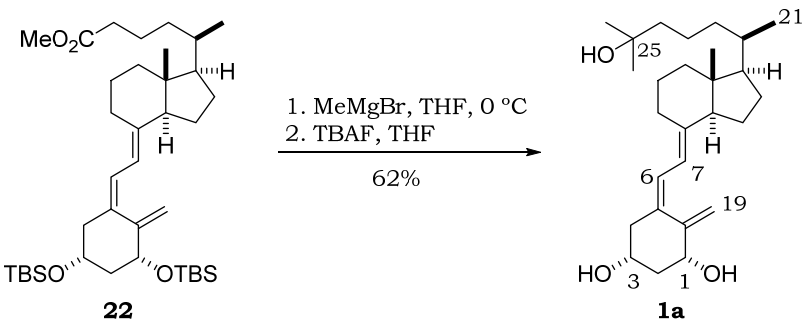
(*R*)-5-((1*R*,3a*S*,7a*R*,*E*)-4-((*Z*)-2-((3*R*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Butildimetilsilil) oxi)-2-metilen ciclohexiliden)etiliden)-7a-metiloctahidro-1H-inden-1-il)hexanoato de metilo (22)



Una disolución acuosa de K_3PO_4 (4 mL, 2M) y $PdCl_2(PPh_3)_2$ (24 mg, 0.035 mmol, 0.05 equiv) se añadieron sobre una disolución del enol-triflato **5** (356 mg, 0.77 mmol, 1.1 equiv) y del éster borónico **4** (280 mg, 0.69 mmol, 1 equiv) en THF (5 mL). La mezcla se agitó vigorosamente durante 1 h. La reacción se detiene por adición de agua (10 mL). La mezcla se extrajo con MTBE (3x10 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x8 cm, 5% EtOAc/hexanos) para dar **22** [356 mg, 80%, aceite incoloro, R_f = 0.50 (5% EtOAc/hexanos)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 6.25 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, H-6), 5.93 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H-7), 5.35 (s, 1H, H-19), 4.87 (s, 1H, H-19), 4.00 – 3.92 (m, 1H, H-1), 3.84 – 3.69 (m, 1H, H-3), 3.66 (s, 3H, Me-O), 2.81 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 2.43 (dd, *J* = 12.5, 2.9 Hz, 1H), 2.34 – 2.14 (m, 5H), 1.94 (dd, *J* = 20.1, 10.5 Hz, 5H), 1.61-1.28 (m, 14H), 0.94 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.89 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.52 (s, 3H, Me-18), 0.09 (s, 6H, 2xMe-Si), 0.07 (s, 6H, 2xMe-Si). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 174.3 (C, C=O), 148.0 (C, C-10), 142.2 (C, C-8), 134.3 (C, C-5), 122.9 (CH, C-6), 117.6 (CH, C-7), 109.6 (CH_2, C-19), 70.1 (CH, C-1), 68.5 (CH, C-3), 56.2 (CH), 51.4 (CH_3, Me-O), 46.9(CH_2), 46.6 (CH_2), 45.7 (C), 40.5 (CH_2), 35.8 (CH), 35.3(CH_2), 34.5(CH_2), 28.9 (CH_2), 27.6(CH_2), 25.9 (CH_3,^{t}Bu-Si), 25.9 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 23.4(CH_2), 22.0(CH_2), 21.6 (CH_2), 18.7 (CH_3, C-21), 18.5 (C, C-Si), 18.2 (C, C-Si), 12.0 (CH_3, C-18), -4.6 (CH_3, 2xMe-Si), -5.0 (CH_3, Me-Si), -5.1 (CH_3, Me-Si).

1β,25-Dihidroxivitamina D_3 (1a)



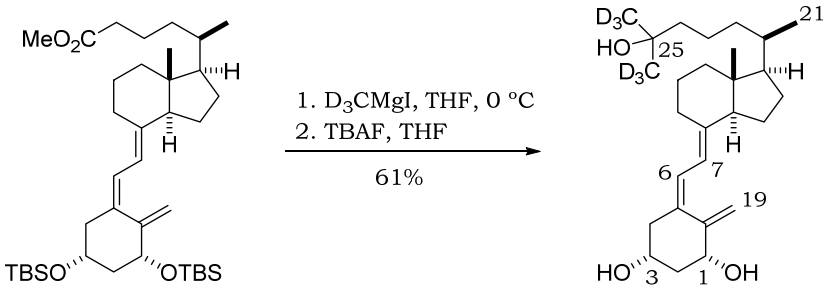
22 **1a**

Una disolución de MeMgBr en Et_2O (0.29 mL, 0.87 mmol, 3M, 4 equiv) se añadió sobre una disolución enfriada a 0 °C del éster **22** (140 mg, 0.22 mmol, 1 equiv) en THF (4 mL). La mezcla se agitó durante 30 min. Una disolución de TBAF en THF (0.62 mL, 0.62 mmol, 1M, 4 equiv) se añadió sobre la mezcla anterior. La mezcla se agitó durante 14 h. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (10 mL). La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x10 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x8 cm, 20% ^{i}PrOH/hexanos) para dar **1a** [57 mg, 62%, espuma blanca, R_f = 0.20 (60% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = 0.5 (c = 1.5, $CHCl_3$)].[50]

^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.42 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, H-6), 6.03 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, H-7), 5.26 (s, 1H, H-19), 4.98 (s, 1H, H-19), 4.32 (t, *J* = 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.07 (s, 1H, H-3), 2.87 – 2.76 (m, 1H), 2.47 (dt, *J* = 13.6, 8.8, 3H), 2.10 – 2.03 (m, 1H), 2.01 – 1.94 (m, 3H), 1.88 – 1.62 (m, 4H), 1.49 – 1.22 (m, 13H), 1.18 (s, 6H, Me-26 + Me-27), 1.06 – 0.99 (m, 1H), 0.91 (d, *J* = 6.3, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18). **^{13}C RMN** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 147.1 (C, C-10), 143.2 (C, C-8), 131.6 (C, C-5), 125.7 (CH, C-6), 116.9 (CH, C-7), 113.3 (CH_2, C-19), 73.6 (CH, C-1) 71.1 (C, C-25), 68.2 (CH, C-3), 56.5 (CH), 56.3 (CH), 45.9 (C), 45.4 (CH_2), 44.4 (CH_2), 40.4 (CH_2), 39.9 (CH_2), 36.3 (CH_2), 36.1 (CH), 29.3 (CH_3), 29.2 (CH_3), 29.1 (CH_2), 27.6 (CH_2), 23.6 (CH_2), 22.3 (CH_2), 20.8(CH_2), 18.8 (CH_3, Me-21), 11.9 (CH_3, Me-18). **IR** (film, cm^{-1}): 3364 (ν_{O-H}), 1630 ($\nu_{C=C}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{27}H_{44}O_3Na]^+$: 439.3182 $[M+Na]^+$; encontrado: 439.3185.

(50) Muralidharan KR, de Lera AR, Issaef SD, Norman AW, Okamura WH. Studies on the A-ring diastereomers of l,25-dihydroxyvitamin D_3, *J. Org. Chem.* **1993**, *58,* 1895–1899.

26,27-Hexadeutero-1β,25-dihidroxivitamina D_3 (1b)



22 **1b**

Una disolución de CD_3MgBr en Et_2O (0.29 mL, 0.87 mmol, 3M, 4 equiv) se añadió sobre una disolución enfriada a 0 °C del éster **22** (140 mg, 0.22 mmol, 1 equiv) en THF (4 mL). La mezcla se agitó durante 30 min. Una disolución de TBAF en THF (0.62 mL, 0.62 mmol, 1M, 4 equiv) se añadió sobre la mezcla anterior., La mezcla se agitó durante 14 h. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (10 mL). La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x10 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x8 cm, 20% ^{i}PrOH/hexanos) para dar **1b** [57 mg, 62%, espuma blanca, R_f = 0.20 (60% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = 0.5 (c = 1.5, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 6.45 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H-6), 6.06 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H-7), 5.29 (s, 1H, H-19), 5.02 (s, 1H, H-19), 4.37 (m, 1H, H-1), 4.12 (m, 1H, H-3), 2.84 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 2.53 (s, 2H), 2.08 – 1.87 (m, 6H), 1.67 (d, *J* = 10.3 Hz, 3H), 1.45 – 1.25 (m, 11H), 0.93 (d, *J* = 5.9 Hz, 3H, Me-21), 0.88 – 0.82 (m, 2H), 0.54 (s, 3H, Me-18). **^{13}C RMN** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 147.1 (C, C-10), 143.2 (C, C-8), 131.6 (C, C-5), 125.7 (CH, C-6), 116.9 (CH, C-7), 113.3 (CH_2, C-19), 73.6 (CH, C-1) 71.1 (C, C-25), 68.2 (CH, C-3), 56.5 (CH), 56.3 (CH), 45.9 (C), 45.4 (CH_2), 44.4 (CH_2), 40.4 (CH_2), 39.9 (CH_2), 36.3 (CH_2), 36.1 (CH), 29.3 (CH_3), 29.2 (CH_3), 29.1 (CH_2), 27.6 (CH_2), 23.6 (CH_2), 22.3 (CH_2), 20.8(CH_2), 18.8 (CH_3, Me-21), 11.9 (CH_3, Me-18). **IR** (film, cm^{-1}): 3364 (ν_{O-H}), 1630 ($\nu_{C=C}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{27}H_{38}{}^2H_6O_3Na]^+$: 445.3559 $[M+Na]^+$; encontrado: 445.3555.

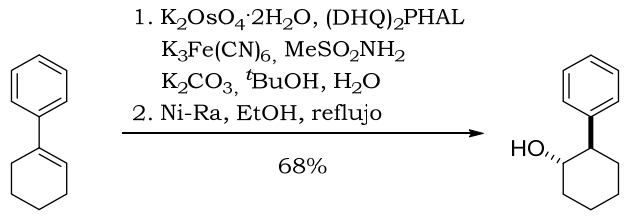
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Parte experimental

Capítulo II

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

(1*S*,2*R*)-2-Fenilciclohexan-1-ol (31)



30 **31**

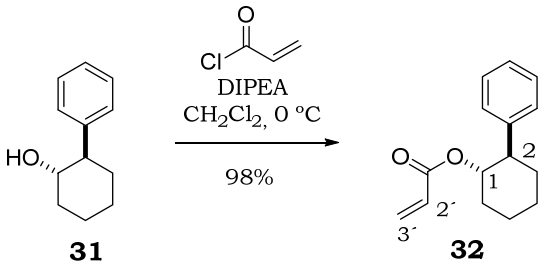
$K_3Fe(CN)_6$ (72.86 g, 221.25 mmol, 3 equiv), K_2CO_3 (30.68 g, 221.25 mmol, 3 equiv), $Me_2SO_2NH_2$ (7.02 g, 73.75 mmol, 1 equiv), $K_2OsO_4.2H_2O$ (14 mg, 0.037 mmol, 0.0005 equiv), $(DHQ)_2PHAL$ (143 mg, 0.184 mmol, 0.0025 equiv) y **30** (11.63 g, 73.75 mmol, 1 equiv) se añadieron sobre una mezcla de ^{t}BuOH (74 mL) y H_2O (110 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 48 h. La mezcla se extrajo con EtOAc (200 mL). La fase orgánica se lavó con una disolución acuosa KOH (2x100 mL, 2M) y se secó, filtró y concentró. El crudo se utilizó directamente en el siguiente paso.

Una suspensión acuosa de Ni-Ra (150 mL, 50%) se añadió sobre EtOH (150 mL). Se añadió el crudo anterior en EtOH (50 mL). La mezcla se calentó a reflujo durante 3h y luego se dejó alcanzar *ta*, se filtró sobre celita lavando con EtOH y se concentró. El residuo se disolvió en EtOAc y la disolución se lavó con una disolución saturada de NaCl (100 mL). La fase orgánica se secó, filtró y concentró, obteniéndose un sólido blanco. El sólido se disolvió en Et_2O para su recristalización. Los cristales obtenidos se lavaron con pentano enfriado a 0 ºC para dar **31** [8.8 g, 68%, sólido cristalino, PF = 63-66 ºC, R_f = 0.75 (30% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = +59.2 (c = 1.0, MeOH)].[69]

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.38 – 7.15 (m, 5H, H_{ar}), 3.64 (td, *J* = 9.9, 4.4 Hz, 1H, H-1), 2.48 – 2.34 (m, 1H, H-2), 2.09 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 1.90 – 1.70 (m, 3H), 1.49 – 1.20 (m, 4H). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 143.4 (C, C_{ar}), 128.6 (CH, 2xCH_{ar}), 127.9 (CH, 2xCH_{ar}), 126.7 (CH, CH_{ar}), 74.3 (CH, C-1), 53.1 (CH, C-2), 34.4 (CH_2), 33.3 (CH_2), 26.0 (CH_2), 25.0 (CH_2).

(69) Gonzalez J, Aurigemma C, Truesdale L, Denmark SE, Tymonko SA, Cottell JJ, Gomez L. Synthesis of (+)-(1*S*,2*R*)- and (-)-(1*R*,2*S*)-*trans*-2-phenylcyclohexanol via Sharpless asymmetric dihydroxylation (AD): [Cyclohexanol, 2-phenyl-, (1*S*-*trans*)- and cyclohexanol, 2-phenyl-, (1*R*-*trans*)-]. *Org. Synth.* **2002**, *79*, 93-98.

Acrilato de (1*S*,2*R*)-2-fenilciclohexilo (32)



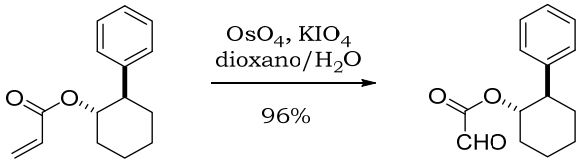
31 **32**

DIPEA (7.1 mL, 40.8 mmol, 2 equiv) y cloruro de acroilo (2.15 mL, 26.5 mmol, 1.3 equiv) se añadieron sucesivamente sobre una disolución enfriada a 0ºC de **31** (3.6 g, 20.4 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (45 mL). La mezcla se agitó durante 4 h. Se añadió una disolución saturada de $NaHCO_3$ (50 mL). La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x25 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 5x7 cm, 15% EtOAc/hexanos) para dar **32** [4.7 g, 98 %, aceite incoloro, R_f = 0.80 (20% EtOAc/hexanos)].[71]

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.30 – 7.16 (m, 5H. H_{ar}), 6.17 (dd, *J* = 17.2, 1.6 Hz, 1H, H-3´), 5.88 (dd, *J* = 17.2, 10.3 Hz, 1H, H-2´), 5.63 (dd, *J* = 10.3, 1.6 Hz, 1H, H-3´), 5.06 (td, *J* = 10.5, 4.4 Hz, 1H, H-1), 2.73 (td, *J* = 11.5, 3.7 Hz, 1H, H-2), 2.19 (dd, *J* = 9.4, 3.7 Hz, 1H), 2.02 – 1.77 (m, 3H), 1.66 – 1.34 (m, 4H). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 165.5 (C, C=O), 143.1 (C, C_{ar}), 130.1 (CH_2, C-3´), 128.7 (CH, C-2´), 128.3 (CH, 2xCH_{ar}), 127.5 (CH, 2xCH_{ar}), 126.4 (CH, CH_{ar}), 76.2 (CH, C-1), 49.7 (CH, C-2), 33.9 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.9 (CH_2), 24.8 (CH_2).

(71) **(b)** Whitesell JK, Lawrence RM, Chen HH. Auxiliary structure and asymmetric induction in the ene reactions of chiral glyoxylates. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4779-4784

2-Oxoacetato de (1*S*,2*R*)-2-fenilciclohexilo (28)



32 **28**

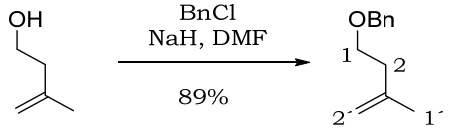
KIO_4 (9.79 g, 42.55 mmol, 2 equiv) y OsO_4 (5 gotas, 4% en agua) se añadieron sobre una disolución de **32** (4.9 g, 21.28 mmol, 1 equiv) en dioxano/H_2O (100 mL, 3:1). La mezcla se agitó a *ta* durante 12 h. Se añadió una disolución saturada de $Na_2S_2O_3$ (50 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc (3x50 mL).

El residuo hidratado se destiló azeotrópicamente con PhMe para dar el glioxilato La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO2, Φ 3x6 cm, 50% EtOAc/hexanos) para dar **28** [4.7 g, 96 %, aceite incoloro, R_f = 0.15 (30% EtOAc/hexanos), compuesto hidratado)].[71]

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 9.10 (s, 1H, CHO), 7.24 – 7.15 (m, 5H, H_{ar}), 5.12 (td, *J* = 10.6, 4.5 Hz, 1H, H-1), 2.84 – 2.71 (m, 1H, H-2), 2.14 (dd, *J* = 8.0, 3.4 Hz, 1H), 1.97 – 1.77 (m, 3H), 1.68 – 1.28 (m, 4H). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 183.8 (CH, CHO), 158.3 (C, C=O), 142.0 (C, C_{ar}), 128.4 (CH_2, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH_2, 2xCH_{ar}), 126.8 (CH, CH_{ar}), 79.0 (CH, C-1), 49.3 (CH, C-2), 33.4 (CH_2), 31.8 (CH_2), 25.5 (CH_2), 24.6 (CH_2).

(71) **(b)** Whitesell JK, Lawrence RM, Chen HH. Auxiliary structure and asymmetric induction in the ene reactions of chiral glyoxylates. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4779-4784.

Éter bencílico de 3-metilbut-3-en-1-ol (33)

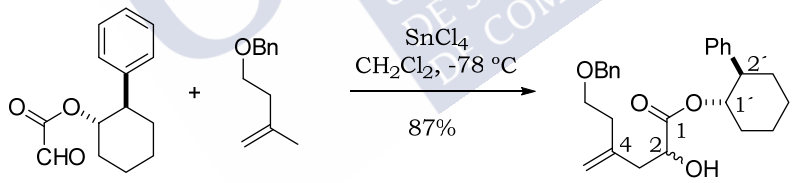


29 **33**

NaH (2.4 g, 57.6 mmol, 4 equiv) se añadió sobre una disolución de **29** (1.36g, 15.8 mmol, 1.1 equiv) en DMF (100 mL). La mezcla se agitó a *ta* durante 30 min. Se añadió cloruro de bencilo (1.82g, 14.4 mmol, 1 equiv). La mezcla se agitó durante 14 h. Se añadió agua (50 mL). La mezcla se extrajo con hexanos (3x30 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 5x7 cm, 15% EtOAc/hexanos) para dar **33** [2.5 g, 89%, aceite incoloro, R_f = 0.80 (10% EtOAc/hexanos)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.31 – 7.17 (m, 5H, H_{ar}), 4.79 – 4.66 (m, 2H, H-2´), 4.47 (s, 2H, CH_2-Bn), 3.51 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H-1), 2.28 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, H-2), 1.68 (s, 3H, H-1´). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 142.8 (C, C-3), 138.5 (C, C_{ar}), 128.4 (CH, 2xCH_{ar}), 127.8 (CH, 2xCH_{ar}), 127.8 (CH, CH_{ar}), 111.6 (CH_2, C-2´), 72.9 (CH_2, CH_2-Bn), 68.7 (CH_2, C-1), 37.8 (CH_2, C-2), 22.7 (CH_3, C-1´).

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil-6-(benziloxi)-2-hidroxi-4-metilenhexanoato (27)



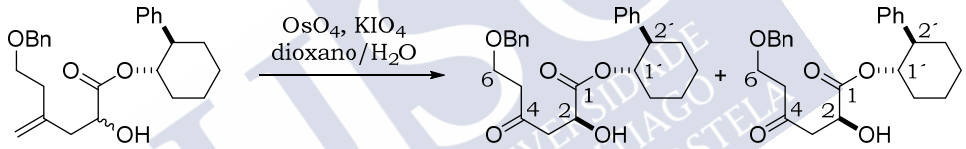
28 **33** **27**

$SnCl_4$ (5.78 g, 22.2 mmol, 1.1 equiv) se añadió lentamente durante 1h sobre una disolución enfriada a -78 ºC de **28** (4.7 g, 20.2 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (90 mL). Una disolución de **33** (3.9 g, 22.2 mmol, 1.1 equiv) en CH_2Cl_2 (20 mL) se añadió durante 1 h. La mezcla se agitó durante 3 h. Se añadió agua (50 mL). La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x30 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2,

Φ 5x8 cm, 10% EtOAc/hexanos) para dar la mezcla de alcoholes **27** [7.2 g, 87 % aceite incoloro, R_f = 0.37 (20% EtOAc/hexanos)]. HPLC Phenomenex Luna 5μm silica, 5% ^{i}PrOH/hexanos, λ = 254 nm, tr **27a** = 12 min, tr **27b** = 15 min.

27a **^{1}H NMR** (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 – 7.04 (m, 10H, H_{ar}), 4.95 (td, *J* = 10.6, 4.4 Hz, 1H, H-1´), 4.69 (s, 1H, =CH2), 4.56 (s, 1H, =CH2), 4.43 (s, 2H, H-7), 3.98 (ddd, *J* = 9.4, 6.0, 3.2 Hz, 1H, H-2), 3.39 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, H-6), 2.66 – 2.52 (m, 2H), 2.11 (dd, *J* = 14.3, 7.7 Hz, 3H), 1.76-1.70 (m, 4H), 1.57–1.39 (m, 4H). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 174.1 (C, C=O), 142.7 (C, C_{ar}), 141.9 (C, C_{ar}), 138.2 (C, C-4), 128.4 (CH, 3xCH_{ar}), 127.7 (CH, 2xCH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH, 2xCH_{ar})126.6 (CH, CH_{ar}), 113.8 (CH_2, $=CH_2$,), 77.6 (CH, C-1´), 72.9 (CH_2, C-7), 69.0 (CH, C-2), 68.8 (CH_2, C-6), 49.9 (CH, C-2´), 40.8 (CH_2), 35.6 (CH_2), 33.8 (CH_2), 32.1 (CH_2), 25.6 (CH_2), 24.6 (CH_2). **IR** (film, cm^{-1}): 3463 (ν_{OH}), 3028 ($\nu_{=C-H}$), 2931($\nu_{=C-H}$), 1727 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): calculado para $[C_{26}\ H_{32}\ O_4Na]^+$, $[M+Na]^+$: 431.2192; encontrado: 431.2192.

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (*S*)-6-(benciloxi)-2-hidroxi-4-oxohexanoato (26a)



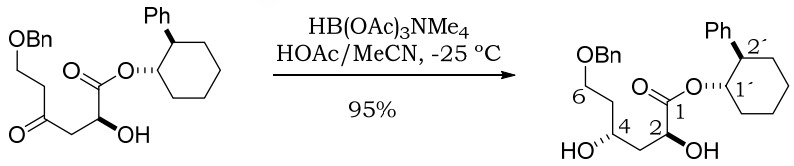
27 **26a** (79%) **26b** (10%)

Una disolución acuosa de OsO_4 (4 gotas, 4%) se añadió sobre una disolución de **27** (7.0 g, 17.1 mmol, 1 equiv) en dioxano/H_2O (115 mL, 3:1). La mezcla se agitó 5 min. Se añadió KIO_4 (7.87 g, 34.2 mmol, 2 equiv). La mezcla se agitó a *ta* durante 3 días. Se añadió una disolución saturada de $Na_2S_2O_3$ (50 mL). La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x30 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía líquida de media presión (MPLC) (VersaFlash Silica 40x150 mm 20-45 μm, 7% ^{i}PrOH/hexanos) para **26a** [5.55 g, 79 %, aceite amarillo, R_f = 0.38 (30 % EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = +14.6 (c=1.6, $CHCl_3$)] y **26b** [0.70 g, 10 %, aceite amarillo, $[\alpha]_D^{25}$ = +31.5 (c = 1.5, $CHCl_3$)].

26a **^{1}H NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 – 7.07 (m, 9H, H_{ar}), 4.96 (td, *J* = 10.7, 4.3 Hz, 1H, H-1´), 4.42 (s, 2H, H-7), 4.25 (dd, *J* = 7.3, 3.8 Hz, 1H, H-2), 3.59 – 3.48 (m, 2H, H-6), 2.61 – 2.54 (m, 1H, H-2´), 2.41 – 2.28 (m, 2H), 2.15 – 2.07 (m, 3H), 1.90 – 1.69 (m, 4H), 1.51 – 1.28 (m, 4H). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 206.2 (C, C=O, C-4), 173.2 (C, C=O, C-1), 143.0 (C, C_{ar}), 138.0 (C, C_{ar}), 128.4 (CH, 2xCH_{ar}), 128.3 (CH, 2xCH_{ar}),127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH, 2xCH_{ar}), 127.3 (CH, CH_{ar}), 126.5 (CH, CH_{ar}), 78.0 (CH, C-1´), 73.3 (CH_2, C-7), 66.4 (CH, C-2), 64.8 (CH_2, C-6), 50.0 (CH_2, C-2´), 46.3 (CH_2), 43.1 (CH_2), 34.1 (CH_2), 32.2 (CH_2), 25.7 (CH_2), 24.7 (CH_2). **IR** (film, cm^{-1}): 3485 (ν_{OH}), 1716 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/*z*: calculado para $[C_{25}H_{30}O_5Na]^+$: 433.1985 $[M+Na]^+$; encontrado: 433.1981.

26b **^{1}H NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.28 – 7.07 (m, 9H, H_{ar}), 4.98 (td, *J* = 10.7, 4.4 Hz, 1H, H-1´), 4.43 (s, 2H, H-7), 4.03 (dd, *J* = 6.6, 3.8 Hz, 1H, H-2), 3.64 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H. H-6), 2.71 – 2.66 (m, 1H), 2.59 (dd, *J* = 11.2, 4.7 Hz, 4H), 2.06 (dd, *J* = 11.8, 3.1 Hz, 1H), 1.88 – 1.70 (m, 3H), 1.52 – 1.21 (m, 5H). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 206.4 (C, C=O, C-4), 173.0 (C, C=O, C-1), 142.6 (C, C_{ar}), 138.0 (C, C_{ar}), 128.4 (CH, 2xCH_{ar}), 128.3 (CH, 2xCH_{ar}), 127.8 (CH, CH_{ar}), 127.7 (CH, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH, 2xCH_{ar}), 126.6 (CH, CH_{ar}), 77.8 (CH, C-1´), 73.4 (CH_2, C-7), 66.5 (CH, C-2), 65.0 (CH_2, C-6), 49.7 (CH_2, C-2´), 46.5 (CH_2), 43.5 (CH_2), 343.8 (CH_2), 32.1 (CH_2), 25.7 (CH_2), 24.7 (CH_2). **IR** (film, cm^{-1}): 3485 (ν_{OH}), 1716 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/*z*: calculado para $[C_{25}H_{30}O_5Na]^+$: 433.1985 $[M+Na]^+$; encontrado: 433.1994.

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (2*S*,4*R*)-6-(benciloxi)-2,4-dihidroxi hexanoato (34)



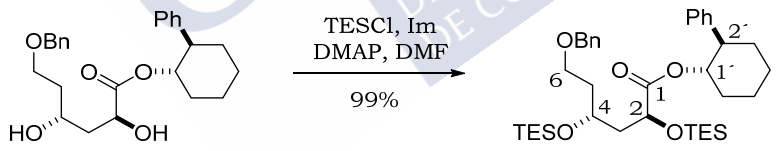
26a **34**

$HB(OAc)_3NMe_4$ (1.76 g, 6.7 mmol, 2.5 equiv) se disolvió en MeCN (60 mL) y HOAc (30 mL). La mezcla se agitó durante 30 min a *ta* y después se enfrió a -25 ºC. Una

disolución de **26a** (1.1 g, 2.68 mmol, 1 equiv) en MeCN (30 mL) se añadió sobre la disolución anterior. La mezcla se agitó durante 4 h. Se añadió una disolución saturada de $NaHCO_3$ (50 mL). La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x30 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 4x8 cm, 30% EtOAc/hexanos) para dar **34** [1.05 g, 95%, sólido blanco, PF = 67-69 ºC, R_f = 0.22 (40% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = +16 (c = 0.2, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.36 – 7.14 (m, 10H, H_{ar}), 5.04 (dt, *J* = 10.4, 5.1 Hz, 1H, H-1´), 4.47 (s, 2H, H-7), 4.20 (dd, *J* = 7.9, 3.1 Hz, 1H, H-2), 3.51 (m, 3H, H-4 + H-6), 3.22 (s, 2H, 2xH-OH), 2.71 – 2.60 (m, 1H, H-2´), 2.17 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 1.83 (dd, *J* = 21.6, 10.7 Hz, 3H), 1.42 (dddd, *J* = 13.2, 9.3, 5.7, 2.9 Hz, 7H), 0.94 (ddd, *J* = 14.3, 8.0, 2.4 Hz, 1H). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 174.5 (C, C=O), 143.2 (C, C_{ar}), 137.8 (C, C_{ar}), 128.5 (CH, 2xCH_{ar}), 128.4 CH, 2xCH_{ar}), 127.9 (CH, CH_{ar}), 127.8 (CH, 2xCH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 126.6 (CH, CH_{ar}), 77.5 (CH, C-1´), 73.4 (CH_2, C-7), 69.0 (CH_2, C-6), 68.7 (CH, C-2), 68.5 (CH, C-4), 50.0(CH, C-2´), 39.9 (CH_2), 36.4 (CH_2), 34.1 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.7 (CH_2), 24.7 (CH_2). **IR** (film, cm^{-1}): 2933 (ν_{OH}), 1727 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/z: calculado para $[C_{30}H_{54}O_5NaSi_2]^+$: 573.3402 $[M+Na]^+$; encontrado: 573.3417.

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (2*S*,4*R*)-6-(benciloxi)-2,4-bis((trietilsilil)oxi) hexanoato (25)



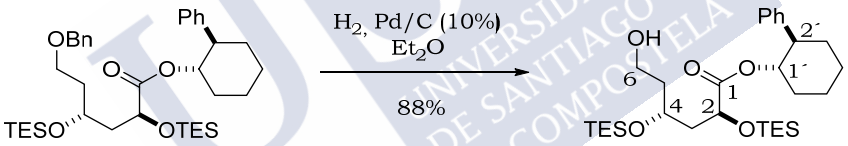
34 **25**

Cloruro de trietilsililo (0.19 mL, 1.12 mmol, 3 equiv), DMAP (14 mg, 0.1 mmol, 0.3 equiv) e imidazol (151 mg, 2.22 mmol, 6 equiv) se añadieron sucesivamente sobre una disolución del diol **34** (153 mg, 0.37 mmol, 1 equiv) en DMF (10 mL). La mezcla se agitó durante 14 h. Se añadió agua (20 mL). La mezcla se extrajo con hexanos (3x20 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x8 cm,

hexanos) para dar **25** [235 mg, 99%, aceite incoloro, R_f = 0.85 (20% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = +3.9 (c = 1.5, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.37 – 7.10 (m, 10H, H_{ar}), 5.05 (td, *J* = 10.5, 4.2 Hz, 1H, H-1´), 4.45 (s, 2H, H-7), 4.09 (dt, *J* = 11.6, 5.8 Hz, 1H, H-2), 3.81 (td, *J* = 9.8, 6.0 Hz, 1H, H-4), 3.47 – 3.19 (m, 2H, H-6), 2.67 (td, *J* = 11.6, 3.6 Hz, 1H, H-2´), 2.18 – 2.07 (m, 1H), 1.82 (dd, *J* = 23.5, 14.4 Hz, 4H), 1.61 – 1.37 (m, 7H), 0.96 – 0.86 (m, 18H, 6x$CH_2\underline{CH_3}$), 0.60 – 0.51 (m, 12H, 6x$\underline{CH_2}CH_3$). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 173.6 (C, C-1), 142.9 (C, C_{ar}), 138.4 (C, C_{ar}), 128.2 (CH, 2xCH_{ar}), 128.1 (CH, 2xCH_{ar}), 127.5 (CH, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH, 2xCH_{ar}), 127.3 (CH, CH_{ar}), 126.3 (CH, CH_{ar}), 76.0 (CH, C-1´), 72.8 (CH_2, C-7), 69.1 (CH, C-2), 66.6 (CH_2, C-6), 66.3 (CH, C-4), 49.7 (CH, C-2´), 42.6 (CH_2), 37.6 (CH_2), 34.1 (CH_2), 32.1 (CH_2), 25.6 (CH_2), 24.6 (CH_2), 6.8 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.7 (CH_2, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.3 (CH_2, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 4.7 (CH_2, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$). **IR** (film, cm^{-1}): 3029 ($\nu_{C=Har}$), 1744 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/z: calculado para $[C_{37}H_{60}O_5NaSi_2]^+$: 663.3871 $[M+Na]^+$; encontrado: 663.3856.

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (2*S*,4*R*)-6-hidroxi-2,4-bis((trietilsilil) oxi)hexanoato (35)



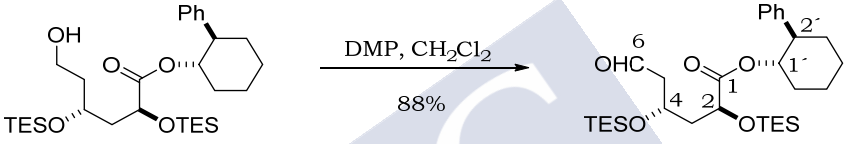
25 **35**

Pd/C (4 mg, 0.04 mmol, 0.1 equiv, 10%) se añadió sobre una disolución de **25** (250 mg, 0.39 mmol, 1 equiv) en Et_2O (10 mL). La mezcla se agitó a *ta* durante 14 h bajo atmosfera de H_2. La mezcla de reacción se filtró sobre celita, lavando con EtOAc (50 mL). El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 2x7 cm, 15% EtOAc/hexanos) para dar **35** [190 mg, 88%, aceite incoloro, R_f = 0.39 (20% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = +1.7 (c = 0.9, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.26 – 7.15 (m, 5H, H_{ar}), 5.03 (dt, *J* = 10.3, 5.1 Hz, 1H, H-1´), 4.00 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H-2), 3.83 – 3.74 (m, 1H, H-4), 3.60 – 3.43 (m,

2H, H-6), 2.72 – 2.62 (m, 1H, H-2´), 2.14 (dd, *J* = 11.8, 7.5 Hz, 2H), 1.94 – 1.75 (m, 3H), 1.53 – 1.27 (m, 8H), 0.98 – 0.84 (m, 18H, 6x$CH_2\underline{CH_3}$), 0.62 – 0.47 (m, 12H, 6x$\underline{CH_2}CH_3$). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 173.2 (C, C-1), 143.2 (C, C_{ar}), 128.5 (CH, 2xCH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 126.7 (CH, CH_{ar}), 76.5 (CH, C-1´), 69.6 (CH, C-2), 68.7 (CH, C-4), 60.1 (CH_2, C-6), 49.9 (CH, C-2´), 42.2 (CH_2), 38.7 (CH_2), 34.5 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.9 (CH_2), 24.8 (CH_2), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.9 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.2 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 4.9 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$). **IR** (film, cm^{-1}): 2933 (ν_{OH}), 1727 ($\nu_{C=O}$) **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/z: calculado para $[C_{30}H_{54}O_5NaSi_2]^+$: 573.3402 [M+Na]$^+$; encontrado: 573.3417.

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil-(2*S*,4*S*)-6-oxo-2,4-bis((trietilsilil)oxi) hexanoato (36)



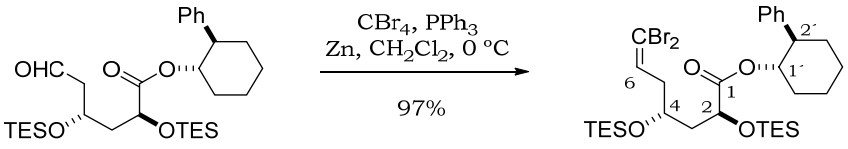
35 **36**

DMP (102 mg, 0.24 mmol, 1.1 equiv) se añadió sobre una disolución del alcohol **35** (125 mg, 0.23 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (5 mL). La mezcla se agitó a *ta* durante 30 min. La mezcla de reacción se filtró sobre sílica, lavando con Et_2O/hexanos /10%). El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x6 cm, 10% Et_2O/hexanos) para dar **36** [108 mg, 88%, aceite incoloro, R_f = 0.5 (10% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = 0.5 (c = 1.6, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 9.53 (s, 1H, CHO), 7.22 (m, 5H, H_{ar}), 5.09 – 4.96 (m, 1H, H-1´), 4.15 – 3.98 (m, 2H, H-2 + H-4), 2.65 (dd, *J* = 15.7, 7.1 Hz, 1H, H-2´), 2.22 – 2.02 (m, 3H), 1.94 – 1.74 (m, 3H), 1.35 (m, 6H), 0.96 – 0.81 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H_3}$), 0.55 (m, 12H, 6x$\underline{CH_2}CH_3$). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 201.8 (CH, CHO), 173.2 (C, C=O), 143.1 (C, C_{ar}), 128.6 (CH,2x CH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 126.7 (CH, CH_{ar}), 77.4 (CH, C-1´), 69.2 (CH, C-2), 65.0 (CH, C-4), 51.1 (CH_2, C-5), 50.0 (CH, C-2´), 42.9 (CH_2), 34.4 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.8 (CH_2), 24.8 (CH_2), 6.9 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.8 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.2 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 4.9 (CH_3,

3x$CH_3\underline{C}H_2Si$). **IR** (film, cm^{-1}): 1745 ($\nu_{C=O}$), 1726 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/z: calculado para $[C_{30}H_{54}O_5Si_2]^+$: 549.3426 $[M+H]^+$; encontrado: 549.3449.

(1'*S*,2'*R*)-2-Fenilciclohexil (2*S*,4*R*)-7,7-dibromo-2,4-bis((trietilsilil) oxi)hept-6-enoato (37)

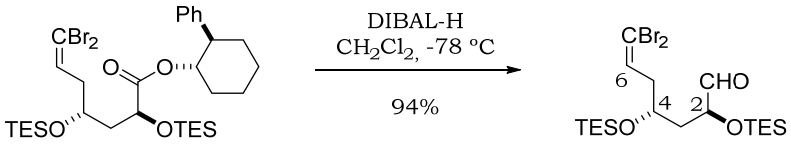


36 **37**

CBr_4 (547 mg, 1.65 mmol, 3 equiv) se añadió sobre una suspensión enfriada a 0 ºC de PPh_3 (433 mg, 1.65 mmol, 3 equiv) y Zn (108 mg, 1.65 mmol, 3 equiv) en CH_2Cl_2 (10 mL). La mezcla se agitó 2 min a la misma temperatura y después 1.5 h a *ta*. Una disolución de **36** (300 mg, 0.55 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (5 mL) se canuló sobre la mezcla anterior. La mezcla se agitó a *ta* durante 1.5 h. La mezcla se filtró sobre sílica, lavando con una mezcla de Et_2O/hexanos (10%). El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x6 cm, 1% Et_2O/hexanos) para dar **37** [380 mg, 97%, aceite incoloro, R_f = 0.71 (10% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = -0.5 (c = 2.0, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 – 7.14 (m, 5H, H_{ar}), 6.24 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-6), 5.04 (td, *J* = 10.5, 4.3 Hz, 1H, H-1´), 4.03 (dd, *J* = 7.1, 5.7 Hz, 1H, H-2), 3.75 – 3.63 (m, 1H, H-4), 2.67 (td, *J* = 11.6, 3.5 Hz, 1H, H-2´), 2.13 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 1.98 – 1.12 (m, 11H), 1.06 – 0.67 (m, 18H, , 6x$CH_2C\underline{H_3}$), 0.67 – 0.39 (m, 12H, , 6x$\underline{CH_2}CH_3$). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 173.5 (C, C=O), 143.1 (C, C_{ar}), 135.1 (CH, C-6), 128.6 (CH, 2xCH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 126.7 (CH, CH_{ar}), 89.9 (C, C-7), 76.5 (CH, C-1´), 69.3 (CH, C-2), 67.0 (CH, C-4), 50.0 (CH, C-2´), 42.6 (CH_2), 41.2 (CH_2), 34.4 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.9 (CH_2), 24.9 (CH_2), 7.1 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.3 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 5.01 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$). **IR** (film, cm^{-1}): 1745 ($\nu_{C=O}$), 1454 (ν_{CBr}). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/z: calculado para $[C_{31}H_{52}O_4NaSi_2Br_2]^+$: 725.1663 $[M+Na]^+$; encontrado: 725.1662.

(2*S*,4*R*)-7,7-Dibromo-2,4-bis((trietilsilil)oxi)hept-6-enal (38)

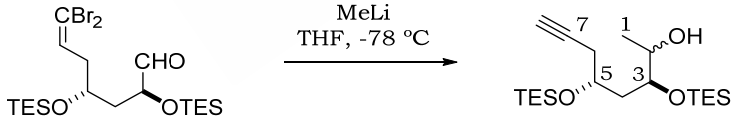


37 **38**

Una disolución de DIBAL-H en hexanos (94 nL, 0.094 mmol, 1M, 1.1 equiv) se añadió sobre una disolución enfriada a -78 ºC del éster **37** (60 mg, 0.085 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (5 mL). La mezcla se agitó la mezcla durante 30 min. Se añadió MeOH y se dejó alcanzar *ta.* Se añadió una disolución acuosa de HCl (5%). La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x10 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x6 cm, 5% Et_2O/hexanos) para dar **38** [42 mg, 94%, aceite incoloro, R_f = 0.73 (10% EtOAc/hexanos)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 9.59 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, CHO), 6.46 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-6), 4.16 – 4.07 (m, 1H, H-2), 4.04 – 3.94 (m, 1H, H-4), 2.33 (ddd, *J* = 17.3, 10.2, 4.4 Hz, 2H, 2xH-5), 1.90 – 1.72 (m, 2H, 2xH-3), 1.02 – 0.85 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.69 – 0.52 (m, 12H, 6x$C\underline{H}_2CH_3$). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 203.1 (CH, CHO), 135.0 (CH, C-6), 90.6 (C, C-7), 75.6 (CH, C-2), 67.3 (CH, C-4), 41.3 (CH_2), 40.4 (CH_2), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.9 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.1 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 5.1 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$). **IR** (film, cm^{-1}): 1737 (νC=O). 1471 (νCBr). **HRMS.** (ESI-TOF^{+}): m/*z*: calculado para $[C_{19}H_{39}O_3Si_2Br_2]^+$: 529.0799 $[M+H]^+$; encontrado: 529.0812.

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((Trietilsilil)oxi)oct-7-in-2-ol (39)

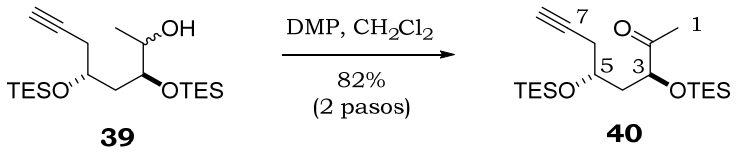


38 **39**

Una disolución de MeLi (1.14 mL, 1.37 mmol, 1.2 M en Et_2O, 3.3 equiv) se añadió sobre una disolución enfriada a -78 ºC de **38** (220 mg, 0.41 mmol, 1 equiv) en THF (10 mL). La mezcla se agitó durante 30 y se dejó alcanzar *ta.* Se añadió agua (20 mL). La mezcla se extrajo con Et_2O (3x10 mL). La fase orgánica combinada se

secó, filtró y concentró. La mezcla de alcoholes **39** se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación.

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((Trietilsilil)oxi)oct-7-in-2-ona (40)

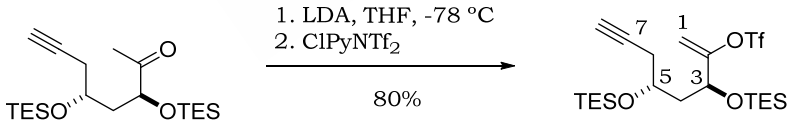


39 **40**

DMP (191 mg, 0.45 mmol, 1.1 equiv) se añadió sobre una disolución de los alcoholes **39** (158 mg, 41 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (5 mL) se agitó durante 30 min y se filtró sobre sílica. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x6 cm, 5% Et_2O/hexanos) para dar **40** [130 mg, 82%, aceite incoloro, R_f = 0.50 (5% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = -5.6 (c = 1.6, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 4.19 – 4.12 (m, 1H, H-3), 3.93 (dt, *J* = 11.4, 5.8 Hz, 1H, H-5), 2.42 (dt, *J* = 13.9, 5.6 Hz, 2H, H-6), 2.16 (s, 3H, H-1), 2.00 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-8), 1.89 (ddd, *J* = 20.1, 9.5, 4.0 Hz, 2H, H-4), 0.99 – 0.86 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.67 – 0.53 (m, 12H, 6x$C\underline{H}_2CH_3$). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 211.2 (C, C=O), 80.9 (CH, C-8), 77.4 (CH, C-3), 70.8 (C, C-7), 67.8 (CH, C-5), 41.7 (CH_2, C-6), 27.8 (CH_2, C-4), 25.0 (CH_3, C-1), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.1 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 5.0 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$). **IR** (film, cm^{-1}): 3317 ($\nu_{\equiv C-H}$), 1715($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/z: calculado para $[C_{20}H_{41}F_3O_3Si_2]^+$: 385.2599 $[M+H]^+$; encontrado: 385.2607.

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((Trietilsilil)oxi)oct-1-en-7-in-2-il trifluorometano sulfonato (2)



40 **2**

Una disolución de LDA en THF (0.66 mL, 0.66 mmol, 1 M, 3 equiv) se añadió sobre una disolución enfriada a -78 ºC de **40** (85 mg, 0.22 mmol, 1 equiv) en THF (5 mL). La mezcla se agitó durante 30 min. Se añadió $ClPyNTf_2$ (130 mg,

0.33 mmol, 2 equiv). La mezcla se dejó agitando hasta alcanzar *ta*. Se añadió una disolución saturada de NaCl (10 mL). La mezcla se extrajo con MTBE (3x10 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x6 cm, 1% Et_2O/hexanos) para dar **2** [137 mg, 80%, aceite incoloro, R_f = 0.50 (2% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = -17.0 (c = 2.0, $CHCl_3$)].[47]

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 5.25 – 5.14 (m, 2H, H-1), 4.40 (dd, *J* = 13.1, 7.5 Hz, 1H, H-3), 3.90 (dt, *J* = 10.8, 5.5 Hz, 1H, H-5), 2.45 – 2.33 (m, 2H, H-6), 2.01 (t, *J* = 2.61 Hz, 1H, H-8), 1.98 – 1.76 (m, 2H, H-4), 0.96 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H_3}$), 0.69 – 0.55 (m, 12H, 6x$C\underline{H_2}CH_3$). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 157.2 (C, C-2), 103.7 (CH_2, C-1), 80.4 (C, C-7), 70.6 (CH, C-8), 69.0 (CH, C-3), 67.4 (CH, C-5), 42.8 (CH_2, C-6), 27.7 (CH_2, C-4), 6.7 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.6 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.0 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 4.6 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$). **IR** (film, cm^{-1}): 3315 ($\nu_{\equiv C-H}$), 1668($\nu_{C=C}$). **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/*z*: calculado para $[C_{21}H_{39}F_3O_5SSi_2]^+$: 516.2009 $[M]^+$; encontrado: 516.2011.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(47) Gogoi P, Sigüeiro R, Eduardo S, Mouriño A. An expeditious route to 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by an aqueous tandem palladium catalyzed A-ring closure and Suzuki coupling to the C/D unit. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1432-1435.

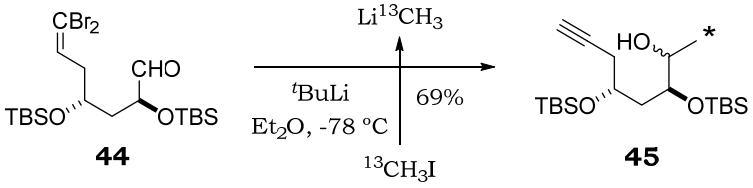
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Parte experimental

Capítulo III

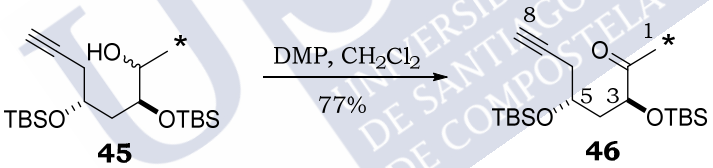
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Buildimetilsilil)oxi)oct-7-in-2-ol (45)



Una disolución de ^{t}BuLi en pentano (4.48 mL, 1.3 M, 5.82 mmol, 7.5 equiv) se añadió sobre una disolución enfriada a -78 ºC de $^{13}CH_3I$ (192 μL, 440 mg, 3.08 mmol, 4 equiv) en Et_2O (5 mL). La mezcla se agitó durante 1 h. Una disolución del aldehído **44** (410 mg, 0.77 mmol, 1 equiv) en Et_2O (5 mL) se canuló sobre la disolución anterior. La mezcla resultante se agitó durante 30 min. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (20 mL). La mezcla se extrajo con Et_2O (3x15 mL). La fase orgánica combinada se secó filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x7 cm, 5% Et_2O/hexanos) para dar la mezcla de alcoholes **45** [205 mg, 69%, aceite incoloro R_f = 0.25 (5% EtOAc/hexanos)]. El producto obtenido se utilizó en el siguiente paso.

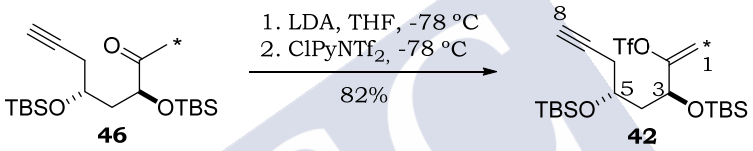
(3*S*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)oct-7-in-2-ona (46)



DMP (230 mg, 0.54 mmol, 1.1 equiv) se añadió sobre la mezcla de alcoholes **45** (190 mg, 0.49 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (10 mL). La mezcla se agitó durante 30 min a *ta*. Se añadió agua (20 mL). La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x10 mL). La fase orgánica combinada se secó filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x7 cm, hexanos) para dar la cetona **46** [146 mg, 77%, aceite incoloro, R_f = 0.75 (5% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = -4.7 (c = 1.1, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 4.10 (dd, *J* = 6.9, 5.6 Hz, 1H, H-3), 3.94 – 3.84 (m, 1H, H-5), 2.37 (dt, *J* = 4.8, 2.1 Hz, 2H, H-6), 2.11 (d, *J* = 127.9 Hz, 3H, H-1), 1.95 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-8), 1.92 – 1.79 (m, 2H, H-4), 0.87 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.84 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.05 (s, 3H, Me-Si), 0.03 (s, 6H, s, 2xMe-Si), 0.02 (s, 3H, Me-Si). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 210.6 (d, *J* = 40.9 Hz, C, C=O), 80.8 (C, C-7), 76.5 (d, *J* = 13.0 Hz. CH, C-3), 70.6 (CH, C-8), 67.9 (CH, C-5), 41.6 (CH_2), 27.6 (CH_2), 25.8 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 24.9 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 18.1 (C, 2x^{t}Bu-Si), -4.2 (CH_3, Me-Si), -4.6 (CH_3, Me-Si), -4.7 (CH_3, Me-Si), -4.8 (CH_3, Me-Si). **IR** (film, cm^{-1}): 3314 ($\nu_{\equiv C-H}$), 1716 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{19}{}^{13}CH_{41}O_3Si_2]^+$: 386.2638 $[M+H]^+$; encontrado: 386.2623.

(3*S*,5*R*)-3,5-bis((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)oct-1-en-7-in-2-il trifluorometanosulfonato (42)

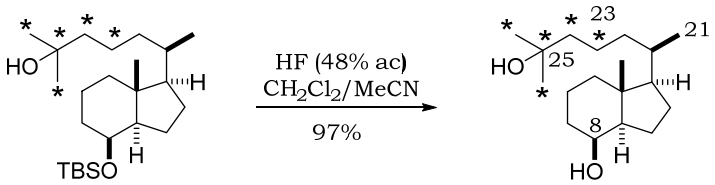


Una disolución de LDA en THF (0.65 mL, 0.32 mmol, 0.5 M, 2.1 equiv) se añadió sobre una disolución enfriada a -78 ºC de la cetona **46** (60 mg, 0.15 mmol, 1 equiv) en THF (10 mL). La mezcla se agitó durante 1 h. Se añadió $ClPyNTf_2$ (125 mg, 0.32 mmol, 2.1 equiv). La mezcla resultante se dejó alcanzar *ta*. Se añadió (20 mL). La mezcla se extrajo con MTBE (3x15 mL). La fase orgánica combinada se secó filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x8 cm, 2% EtOAc/hexanos) para dar el enol-triflato **42** [65 mg, 82%, aceite incoloro, R_f = 0.65 (5% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = -13.5 (c = 1.0, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5.2 (ddd, *J* = 164.2, 9.6, 3.6 Hz, 2H, H-1), 4.32 (ddd, *J* = 7.2, 4.7, 2.5 Hz, 1H, H3), 3.89 (dq, *J* = 6.5, 5.1 Hz, 1H, H-5), 2.36 – 2.33 (m, 2H), 1.97 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-8), 1.89 (tt, *J* = 6.5, 3.3 Hz, 2H), 0.09 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.07 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.06 (s, 6H, 2xMe-Si), 0.05 (s, 6H, 2xMe-Si). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 157.6 (d, *J* = 84.6 Hz, C, C-2), 104.0 (CH_2, C-1), 80.8

(C, C-7), 70.8 (CH, C-5), 69.6 (d, *J* = 4.9 Hz, CH, C-3), 68.0 (CH, C-8), 43.5 (CH_2), 28.1 (CH_2), 25.9 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 25.8 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 18.2 (C, ^{t}Bu-Si), -3.8 (CH_3, Me-Si), -4.3 (CH_3, Me-Si), -4.4 (CH_3, Me-Si), -4.7 (CH_3, Me-Si). **IR** (film, cm^{-1}): 3314 ($\nu_{\equiv C-H}$), 1473 ($\nu_{S=O}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{20}{}^{13}CH_{39}O_5{}^3Si_2S]^+$: 518.2128 $[M+H]^+$; encontrado: 518.2120.

1*R*,3a*R*,4*S*,7a*R*)-1-((*R*)-6-Hidroxi-6-metilheptan-2-il)-7a-metiloctahidro-1H-inden-4-ol (47)

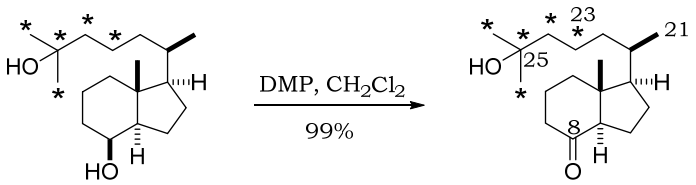


43 **47**

Una disolución acuosa de HF (5 gotas, 48%) se añadió sobre una disolución de **43** (172 mg, 0.43 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2/MeCN (10 mL, 2:1). La mezcla se agitó a *ta* durante 4 h. La mezcla de reacción se vertió sobre una disolución saturada de $NaHCO_3$ (50 mL). La mezcla resultante se agitó 30 min y luego se extrajo con CH_2Cl_2 (3x20 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x8 cm, 20% EtOAc/hexanos) para dar el diol **47** [120 mg, 97%, aceite incoloro, R_f = 0.2 (20% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = 29.5 (c = 1.5, $CHCl_3$)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 4.03 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-8), 1.98 (dd, *J* = 10.2, 7.6 Hz, 1H), 1.86 – 1.72 (m, 3H), 1.69 – 1.46 (m, 3H), 1.41 (dt, *J* = 8.0, 4.0 Hz, 6H, Me-26 + Me-27), 1.37 – 1.18 (m, 5H), 1.25 – 1.18 (m, 5H), 1.16 – 0.94 (m, 5H), 0.92 (d, *J* = 3.9 Hz, 2H), 0.88 (d, *J* = 8.3 Hz, 6H, Me-18 + Me-21). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 71.1 (q, *J* = 39.0 Hz, C-25), 69.4 (CH, C-8), 56.6(C), 52.7(CH), 44.5 (t, *J* = 36.6 Hz, CH_2, C-24), 41.9, 40.5, 40.4, 33.7, 29.3 (dd, *J* = 39.3, 9.3 Hz, CH_2, C-26 + C-27), 27.3, 22.6, 20.9, (d, *J* = 34.9 Hz, C-23). 20.8, 18.6, 17.5, 13.6. **IR** (film, cm^{-1}): 3347 (ν_{O-H}). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{13}{}^{13}C_5H_{34}O_2Na]^+$: 310.2618 $[M+Na]^+$; encontrado: 310.2617.

(1*R*,3a*R*,7a*R*)-1-((*R*)-6-Hidroxi-6-metilheptan-2-il)-7a-metiloctahidro-4H-inden-4-ona (48)

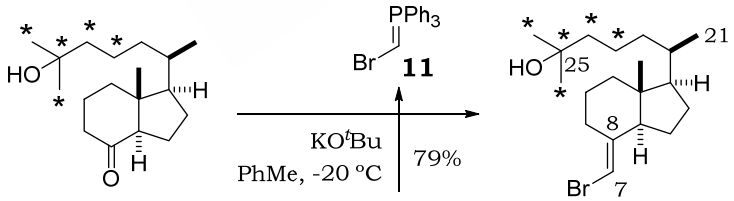


47 **48**

DMP (260 mg, 0.61 mmol, 1.1 equiv) se añadió sobre una disolución del alcohol **47** (160 mg, 0.55 mmol, 1 equiv) en CH_2Cl_2 (7 mL). La mezcla se agitó durante 1 h a *ta* y se filtró sobre SiO_2, lavando con CH_2Cl_2. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x6 cm, 30% EtOAc/hexanos) para dar **48** [155 mg, 99%, aceite incoloro, R_f = 0.2 (20% EtOAc/hexanos)].

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 2.42 (dd, *J* = 11.4, 7.6 Hz, 1H), 2.37 – 1.97 (m, 6H), 1.97 – 1.76 (m, 3H), 1.74 – 1.48 (m, 5H), 1.43 (d, *J* = 3.8 Hz, 3H, Me-21), 1.31 – 1.00 (m, 5H), 0.93 (d, *J* = 5.1 Hz, 6H, Me-26 + Me-27), 0.60 (s, 3H, Me-18). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 212.2 (C, C-8), 71.1 (q, *J* = 39.0 Hz, C, C-25), 62.1, 61.5, 56.7, 50.0, 44.4 (t, *J* = 36.7 Hz, C-23), 41.0, 39.1, 29.3 (dd, *J* = 39.3, 10.2 Hz, C-26 + C-27), 27.6, 24.1, 21.5, 20.8 (d, *J* = 34.9 Hz, C-23), 19.1, 18.8 (Me-21), 12.6 (Me-18). **IR** (film, cm^{-1}): 3400 (ν_{O-H}), 1702 ($\nu_{C=O}$). **HRMS** (ESI-TOF)$^+$: m/z: calculado para $[C_{13}{}^{13}C_5H_{33}O_2]^+$: 286.2642 $[M+H]^+$; encontrado: 286.2649.

(*R*)-6-((1*R*,3a*R*,7a*R*,E)-4-(Bromometilen)-7a-metiloctahidro-1H-inden-1-il)-2-metilheptan-2-ol (49)



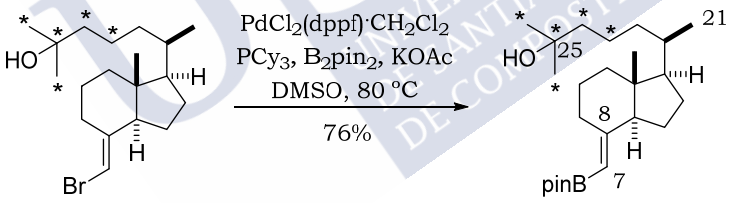
48 **10** $(Ph_3PCH_2Br)Br$ **49**

Una suspensión de la sal de fosfónio **10** (1.18 g, 2.7 mmol, 5.0 equiv) en PhMe (7 mL) se sonicó durante 30 min. La suspensión se enfrió a -20 ºC y sobre ella se

añadió KO^{t}Bu (2.6 mL, 2.6 mmol, 1M, 4.9 equiv). La suspensión se agitó durante 1.5 h a -20 ºC, se agitó 30 min a 0 ºC y se enfrió nuevamente a -20 ºC. Una disolución de la cetona **47** (155 mg, 0.54 mmol, 1 equiv) en PhMe (4 mL). La mezcla se agitó a -20 ºC durante 1.5 h. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (2 mL). La mezcla se filtró sobre SiO_2, lavando con EtOAc/hexanos (40%). El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, 1x8 cm, 15% EtOAc/hexanos) para dar el bromuro **48** [154 mg, 79%, aceite incoloro, R_f = 0.6 (20% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = +90.8 (c = 2.5, $CHCl_3$)].

^{1}H-NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 5.62 (s, 1H, H-7), 2.85 (dd, *J* = 11.0, 2.4 Hz, 1H), 2.01 – 1.87 (m, 3H), 1.63 (m, 4H), 1.48 – 1.41 (m, 7H), 1.27 (m, 4H), 1.00 – 0.86 (m, 9H, Me-21 + Me-26 + Me-27), 0.54 (s, 3H, Me-18). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 145.0 (C-8), 97.2 (C-7), 70.8 (q, *J* = 39.0 Hz, C-25), 55.7, 55.6 (d, *J* = 2.2 Hz), 45.3, 44.2 (t, *J* = 36.6 Hz, C-24), 40.1, 39.7, 39, 35.9 (t, *J* = 4.64),30.9, 29.1 (dd, *J* = 39.3, 9.3 Hz, C-26 + C-27), 27.4, 22.4, 20.6 (d, *J* = 34.9 Hz, C-23), 18.6 (Me-21), 11.7 (Me-18). **IR** (film, cm^{-1}): 3390 (ν_{O-H}), 1012 (ν_{C-Br}). **HRMS** (EI): m/*z*: calculado para $[C_{14}{}^{13}C_5H_{33}OBr]^+$: 361.1877 $[M]^+$; encontrado: 361.1892.

(*R*)-2-Metil-6-((1*R*,3a*S*,7a*R*,E)-7a-metil-4-((4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metilen)octahidro-1H-inden-1-il)heptan-2-ol (41)



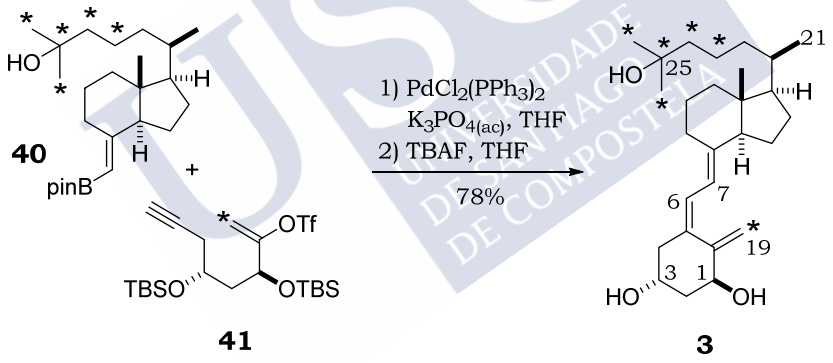
49 **41**

$PdCl_2$(dppf) (7 mg, 0.009 mmol, 0.03 equiv) y PCy_3 (4 mg, 0.017 mmol, 0.06 equiv) se disolvieron en DMSO (0.5 mL). La mezcla se agitó a *ta* durante 20 min, observándose la aparición de coloración naranja intensa. Una disolución del bromuro **49** (104 mg, 0.29 mmol, 1 equiv) en DMSO (1.5 mL) se canuló sobre la mezcla anterior. Se añadió B_2pin_2 (147 mg, 0.58 mmol, 2 equiv) y KOAc (85 mg, 0.87 mmol, 3 equiv). La mezcla de reacción se calentó a 80 ºC durante 3 h y se dejó alcanzar *ta*. Se añadió agua (5 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc

(3x15 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x8 cm, 5% EtOAc/hexanos) para dar el éster borónico **41** [92 mg, 76%, aceite incoloro, R_f = 0.5 (20% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = 79.5 (c = 0.9, $CHCl_3$)].].

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 4.88 (s, 1H, H-7), 3.14 (dd, *J* = 13.4, 2.7 Hz, 1H), 2.03 – 1.94 (m, 2H), 1.85 – 1.80 (m, 1H), 1.73 (dd, *J* = 13.3, 5.6 Hz, 1H), 1.64 (dd, *J* = 11.9, 7.2 Hz, 1H), 1.59 – 1.42 (m, 10H), 1.36 (dd, *J* = 20.1, 10.1 Hz, 3H), 1.32 – 1.28 (m, 5H), 1.27 (s, 12H, 4xCH_3-COB), 1.23 (s, 6H, Me-26 + Me-27), 0.90 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18). **^{13}C NMR** (63 MHz, $CDCl_3$) δ 166.3 (C, C-8), 82.6 (C, 2xCOB), 71.2 (q, *J* = 39.0 Hz, C-25), 63.8, 58.1, 56.9, 46.4, 44.5 (t, *J* = 36.6 Hz, C-24), 40.6, 36.1, 33.4, 29.4 (dd, *J* = 39.3, 9.4 Hz, C-26 + C-27), 28.4, 27.8, 27.6, 25.1 (CH_3, 2xCH_3-COB), 25.0 (CH_3, CH_3-COB), 24.9 (CH_3, CH_3-COB), 24.5, 22.2, 20.9 (d, *J* = 34.9 Hz, C-23), 18.9 (Me-19), 12.2 (Me-18). **IR** (film, cm^{-1}): 2932 (ν_{C-H}), 1144 (ν_{C-O}), 751 (υ_{C-B}). **HRMS** (EI): m/z: calculado para $[C_{20}{}^{13}C_5H_{45}O_3B]^+$: 409.3624 $[M]^+$; encontrado: 409.3631.

[^{13}C (19, 23, 24, 25, 26, 27] 1,25-Dihidroxivitamina D_3 (3)



Una disolución acuosa de K_3PO_4 (2 mL, 2M) y $PdCl_2(PPh_3)_2$ (2 mg, 0.00026 mmol 0.05 equiv) se añadieron sobre una disolución de **41** (22 mg, 0.052 mmol, 1 equiv) y **42** (30 mg, 0.058 mmol, 1.1 equiv) en THF (2 mL). La mezcla se agitó vigorosamente durante 1 h. La reacción se detuvo por adición de agua (10 mL). La mezcla se extrajo con MTBE (3x15 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna (SiO_2, Φ 1x6 cm, 20% EtOAc/hexanos). El residuo se disolvió en THF (4 mL). Se añadió

una disolución de TBAF en THF (160 µL, 0.16 mmol, 1 M, 3 equiv). La mezcla se agitó durante 48 h. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (5 mL). La mezcla se extrajo con Et_2O (4x5 mL). La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por HPLC Phenomenex Luna 5 µ sílica, 20% ^{i}PrOH/hexanos, λ = 254 nm, tr = 22 min para dar **3** [17 mg, 78% (2 pasos), espuma blanca, R_f = 0.25 (70% EtOAc/hexanos), $[\alpha]_D^{25}$ = 45.0 (c = 0.5, MeOH)].

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.35 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, H-6), 5.98 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, H-7), 5.29 (d, *J* = 158.9 Hz, 1H, H-19), 4.97 (d, *J* = 160.7 Hz, 1H, H-19), 4.40 (dt, *J* = 7.6, 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.20 (tt, *J* = 6.8, 3.5 Hz, 1H, H-3), 2.79 (dd, *J* = 12.0, 3.9 Hz, 1H), 2.57 (dd, *J* = 13.4, 3.4 Hz, 1H), 2.28 (dd, *J* = 13.4, 6.6 Hz, 1H), 1.97 (dd, *J* = 9.9, 5.5 Hz, 3H), 1.91 – 1.84 (m, 2H), 1.66 – 1.62 (m, 2H), 1.45 (dt, *J* = 16.4, 6.5 Hz, 4H), 1.32-1.28 (m, 6H), 1.27 – 1.23 (m, 3H), 1.06 (dd, *J* = 7.4, 3.6 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.90 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.51 (s, 3H, Me-18). **IR** (film, cm^{-1}): **HRMS** (ESI-TOF$^+$): m/z: calculado para $[C_{21}H_{44}{}^{13}C_6O_3\ Na]^+$: 445.3383 $[M+Na]^+$; encontrado: 445.3416.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Conclusiones

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Capítulo I: Síntesis de la 1β,25(OH)$_2$D$_3$ (1a) y de su análogo 26,27 hexadeuterado (1b) y estudio del complejo ligando-VDR(LBD)

Se ha llevado a cabo la síntesis de la 1β,25(OH)$_2$D$_3$ (**1a**) mediante una ruta sintética convergente partiendo del diol de Inhoffen-Lythgoe (9%, 7 pasos) y de la (*R*)-Carvona (5%, 9 pasos). También se introdujeron los metilos deuterados de las posiciones C26 y C27 en el último paso de la síntesis para obtener **1b**.

Los rayos X del complejo **1a**-VDR(LBD) mostraron que **1a** se une en el bolsillo clásico, variando las distancias polares con los principales aminoácidos que estabilizan el complejo (hidroxilo de la posición C1 y el metileno de la posición C19), lo que explica su escasa capacidad de generar las respuestas genómicas reguladas por la 1,25D. La estructura obtenida confirmó que la conformación de este metabolito es 6-s-*trans*, y no se enlazó en un bolsillo alternativo al clásico, por lo cual no pudo explicarse la actividad antagonista de las respuestas no genómicas de este metabolito.

Capitulo II: Síntesis del enol-triflato (2) precursor de la 1,25D

Se ha llevado a cabo la síntesis del enol-triflato **2**. El paso clave fue la reacción énica entre el glioxilato **28** y el alqueno **33** que generó el hidroxilo 1α. La ruta consta de 11 pasos y un 29% de rendimiento global y permite el escalado de algún paso.

Capitulo III: Síntesis de la 1,25D (3) marcada con ^{13}C

Se alcanzó la síntesis del compuesto **3**, la [19, 23, 24, 25, 26, 27-^{13}C]-1,25D. Se consiguió el marcaje isotópico con ^{13}C en 6 posiciones de la estructura de la hormona 1,25D, cinco en su cadena lateral y otra en el metileno de la posición C19. Este compuesto es de interés para la realización de estudios de interacción con el receptor nuclear de la vitamina D mediante RMN.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Resumen

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Resumen Capítulo I

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Síntesis de la 1β,25-(OH)$_2$D$_3$ (1a) y de su análogo 26,27 hexadeuterado (1b) y estudio del complejo ligando-VDR(LBD)

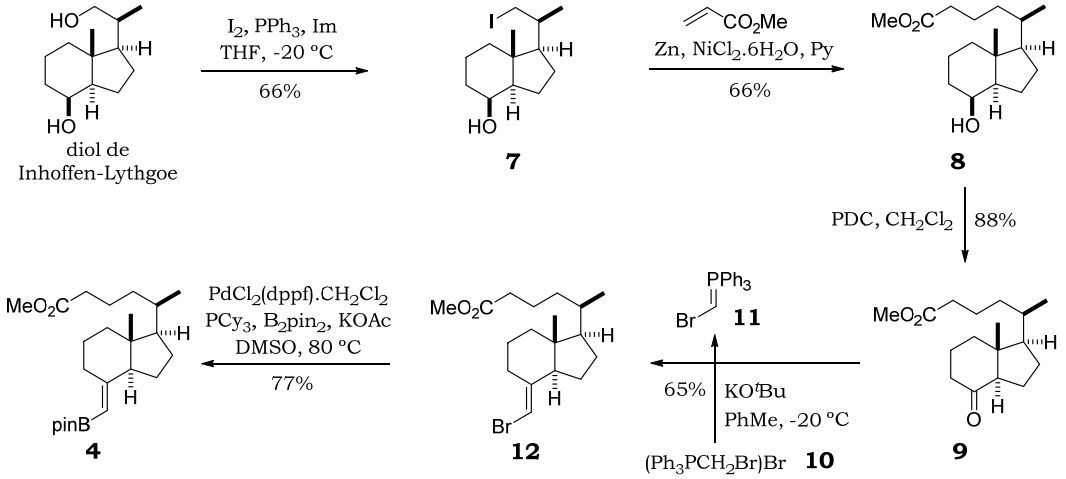
La 1β,25(OH)$_2$D$_3$, el 1-*epi*-diastereoisomero de la hormona natural es un agonista de las acciones clásicas del calcitriol y un antagonista de las acciones rápidas de la hormona. El mecanismo de acción de este tipo de respuestas no está demasiado estudiado. Los análogos de la 1,25D que son activos en las respuestas rápidas coinciden en la conformación 6-s-*cis*. En el año 2004 se propuso, mediante cálculos teóricos (Mizwiky y *col*); la posibilidad de la existencia de un bolsillo alternativo al clásico, responsable de las respuestas no genómicas.

Debido a las características antagonistas de las respuestas rápidas reguladas por la hormona de la 1β,25(OH)$_2$D$_3$ (**1a**), se propuso llevar a cabo su síntesis y la de su análogo C26, C27 hexadeuterado **1b** y el posterior estudio del complejo ligando-VDR(LBD) para comprobar la conformación y el lugar de unión a su receptor nuclear, para profundizar en el mecanismo de acción de las respuestas no genómicas de la hormona.

Síntesis del éster borónico 4

El diol **6** se convirtió en el yoduro **7**, que se transformó en el éster **8** por reacción con acrilato de metilo y se oxidó en la posición C8 se oxidó a la cetona **9**. El tratamiento de esta cetona con el iluro de fosforo **11** generado *in situ* dio lugar a la obtención del bromuro **12**, que posteriormente fue tratado bajo las condiciones de Miyaura para dar lugar al éster de boro **4** (Esquema 23). El éster borónico **4** se preparó a partir del diol de Inhoffen-Lythgoe en 5 pasos y con un rendimiento global del 19%.

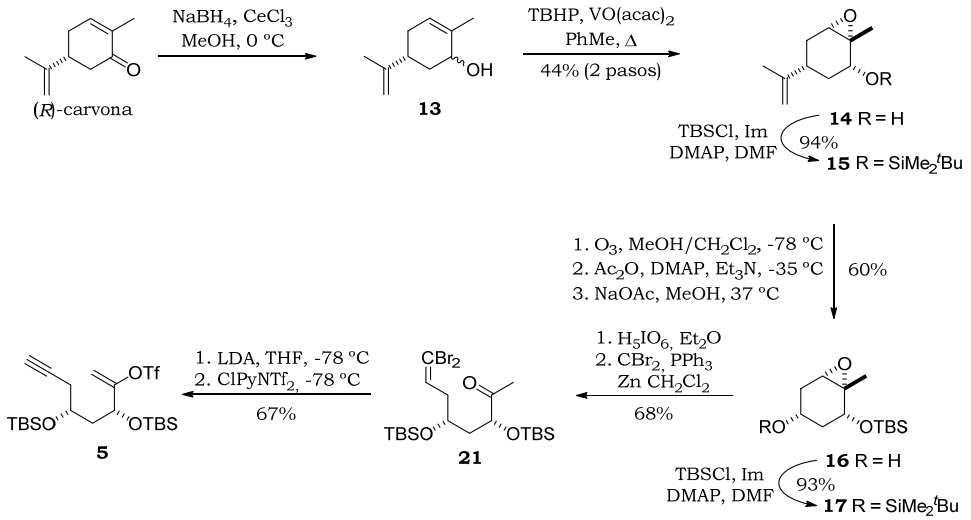
Esquema 23. *Obtención del éster borónico* ***4*** *a partir del diol de Inhoffen-Lythgoe.*



Síntesis del enol-triflato 5

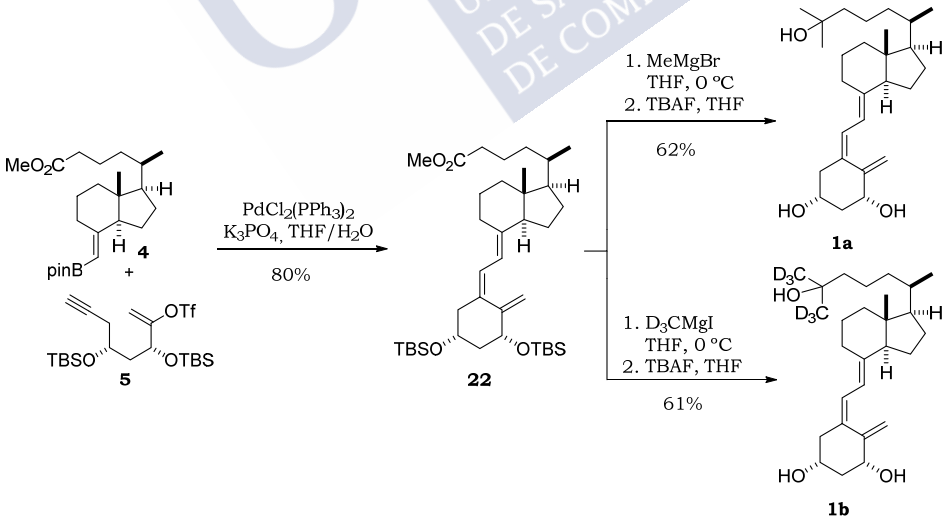
La (*R*)-carvona se redujo con borhidruro de sodio para formar la mezcla de alcoholes alílicos **13**, que se trató con TBHP para dar el epóxido **14** orientado en la misma cara que el hidroxilo. Se protegió el hidroxilo en la posición C2 como éter de silicio y se procedió a la degradación de la cadena isopropenilica con O_3, para formar el alcohol **16**, que se protegió nuevamente como éter de silicio. La ruptura del epóxido **17** con ácido peryódico y la posterior reacción tipo Wittig con el iluro $Ph_3P{=}CBr_2$ condujo a la obtención del dibromuro **21**. El tratamiento con LDA a baja temperatura y el atrapado del enolato con el reactivo de Comins condujo a la obtención del enol-triflato **5** (Esquema 24). El enol-triflato **5** se preparó a partir de la (*R*)-carvona comercial en un 11% de rendimiento en 7 pasos.

Esquema 24. *Obtención del enol-triflato* ***5*** *a partir de la (R)-carvona.*



Los compuestos **1a** y **1b** se prepararon mediante la reacción de carbociclación-acoplamiento de Suzuki entre el enol-triflato **5** y el éster borónico **4** obteniéndose el éster **22** que permitió la introducción de los metilos de las posiciones C26 y C27, pudiendo introducirse los metilos deuterados en esas posiciones. La desprotección de los hidroxilos de las posiciones C1 y C3 permitió la obtención de **1a** y **1b** (Esquema 25).

Esquema 25. Obtención de los compuestos objetivo **1a** y **1b**.



La 1β,25$(OH)_2D_3$ (**1a**) se cristalizó en el receptor nuclear de la vitamina D (*z*-VDR-LBD). El análisis de la estructura cristalográfica obtenida mostró que este metabolito se unió en el bolsillo de unión clásico de la 1,25D. Las distancias de enlace con los principales aminoácidos responsables del anclaje resultaron similares a excepción de la distancia del hidroxilo de la posición C1 con la Ser265. El metileno de la posición C19 también resultó orientado de forma diferente a la hormona natral, quedando significativamente más alejado de la Leu261. Estas variaciones en las interacciones de la 1β,25$(OH)_2D_3$ pueden explicar la menor actividad en las actividades reguladas por el mecanismo genómico de la hormona. Sin embargo no se ha podido explicar su actividad antagonista de las respuestas rápidas a través de su unión con el bolsillo alternativo propuesto ni a través de una conformación de tipo 6-s-*cis*.

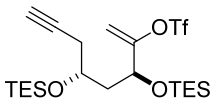
USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Resumen Capítulo II

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Síntesis del enol-triflato 2 precursor de la 1,25D

En este capítulo se propuso alcanzar el enol-triflato **2**, que es un intermedio clave en la síntesis de análogos de la vitamina D mediante la reacción de carbociclación y acoplamiento de Suzuki-Miyaura con el objetivo de mejorar la ruta sintética anterior, en aspectos como la escalabilidad del proceso.

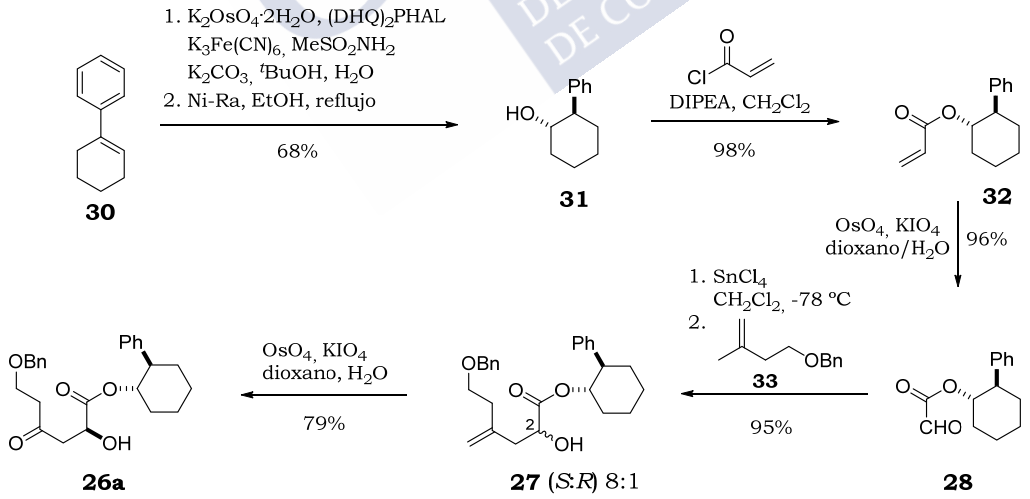


2

Obtención de la cetona 26a

La dihidroxilacion asimétrica de Sharpless del fenilciclohexeno (**30**) seguida de la reducción con Ni-Ra condujo a la obtención de **31.** El tratamiento de este alcohol con cloruro de acroilo dio el éster **32** que mediante la ruptura oxidativa del alqueno se convirtió en el glioxilato quiral **28**. La reacción énica entre el glioxilato **28** y el alqueno **33** proporcionó la mezcla de alcoholes **27**. Esta mezcla de alcoholes **27** con tetróxido de osmio y peryodato potásico formó la mezcla de cetonas **26**, que mediante cromatografía líquida de media presión pudieron separar, obteniéndose la cetona **26a** (Esquema 26).

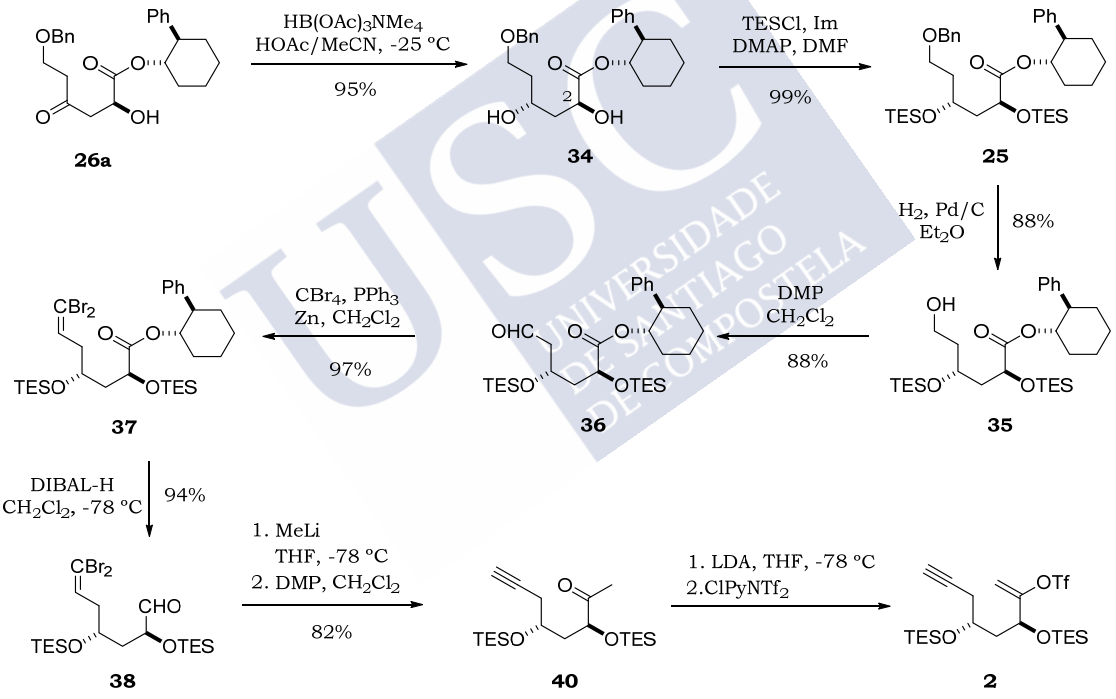
Esquema 26. *Obtención de la cetona* ***26a***.



Obtención del enol triflato 2

La reducción de la cetona **26a** con el reactivo de Evans condujo a la obtención del diol **34**. Este diol **34** se protegió como éter de silicio y posteriormente con H_2 y Pd/C para dar **35**. La oxidación con peryodinano de Dess-Martin seguida de la reacción de Corey-Fuchs generó el dibromuro **37**.El tratamiento con Dibal-H sobre el dibromuro **37** a baja temperatura posibilitó la obtención del aldehído **38**. Este aldehído se trató con MeLi obteniéndose la mezcla de alcoholes **39** que se oxidaron para dar la cetona **40**, que a su vez se trató con LDA generándose el enolato que mediante el reactivo de Comins dio lugar a la obtención del enol-triflato **2** (11 pasos, 29% de rendimiento global).

Esquema 27. *Obtención del enol-triflato **2** a partir del alcohol **26a**.*



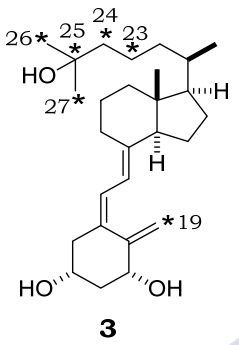
Resumen Capítulo III

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

***Síntesis de la 1,25-dihidroxivitamina D_3 marcada con ^{13}C* (3)**

El objetivo de este capítulo fue la síntesis de la hormona 1,25D marcada con ^{13}C en los carbonos C23, C24, C25, C26 y C27 correspondientes a la cadena lateral y C19 del doble enlace exociclico (Figura 32).

Figura 32. *Posiciones marcadas con ^{13}C en el compuesto* ***3.***



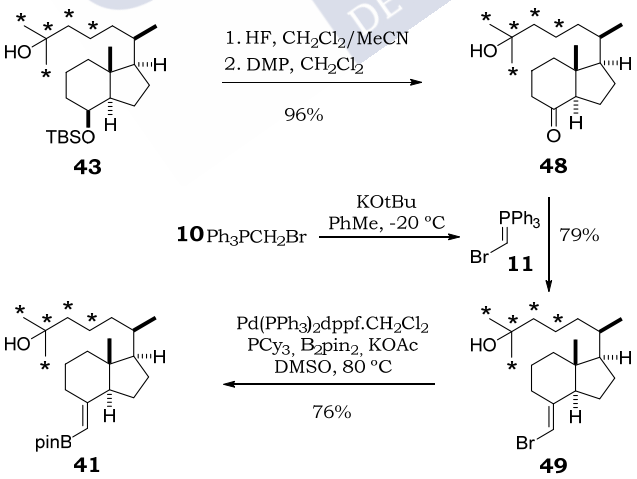
3

El marcaje en múltiples posiciones de la hormona se llevó a cabo para realizar posteriores estudios de interacción con su receptor nuclear (VDR-LBD) mediante técnicas de RMN. Estos estudios permitirán conocer mejor la asociación ligando-receptor.

Obtención del éster borónico 41

La obtención del éster borónico **41** se realizó siguiendo el procedimiento indicado en el Esquema 28.

Esquema 28. *Obtención del éster borónico* ***41****.*

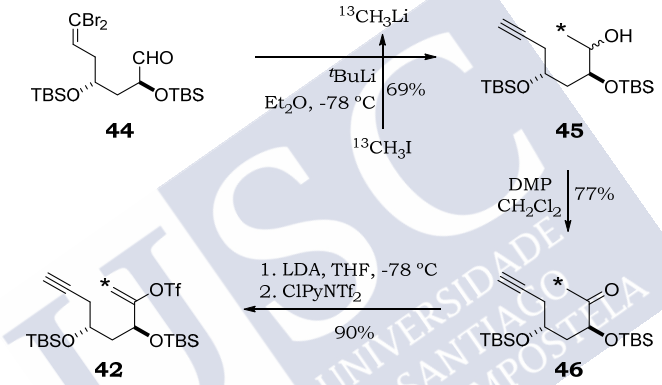


El alcohol **43** se desprotegió y se oxidó con peryodinano de Dess-Martin generándose la cetona **48**. El tratamiento con el iluro de fosforo **11** sobre esta cetona condujo a la obtención del bromuro vinílico **49**. La borilación de Miyaura proporcionó el éster borónico **41**.

Síntesis del enol-triflato 42

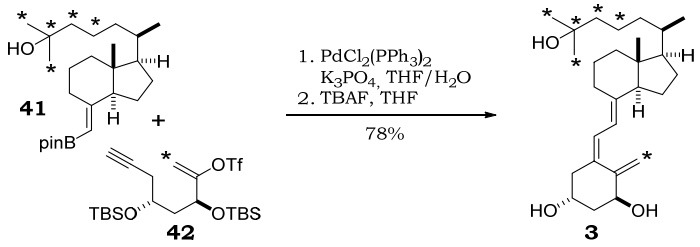
La obtención de **42** se consiguió a partir del compuesto **44**, obtenido por la ruta descrita anteriormente. La generación del $^{13}CH_3Li$ in situ a partir del yoduro de metilo marcado con ^{13}C posibilitó la introducción del ^{13}C. La oxidación de los alcoholes **45** obtenidos generó la cetona **46**, que por tratamiento con LDA a baja temperatura seguido de la adición del reactivo de Comins condujo a la al enol-triflato **42** (Esquema 29).

Esquema 29. *Obtención del enol-triflato **42** marcado con ^{13}C.*



La reacción de Suzuki entre el intermedio de paladio generado por tratamiento del enol-triflato **42** con $PdCl_2(PPh_3)_2$ con el éster de boro **41** generó el sistema triénico. La posterior desprotección de los hidroxilos de C1 y C3 permitió la obtención de la 1,25D marcada con ^{13}C (Esquema 30).

Esquema 30. *Obtención de la 1,25D marcada con ^{13}C.*



Apéndices

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

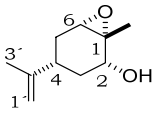
Espectros de RMN

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Espectros

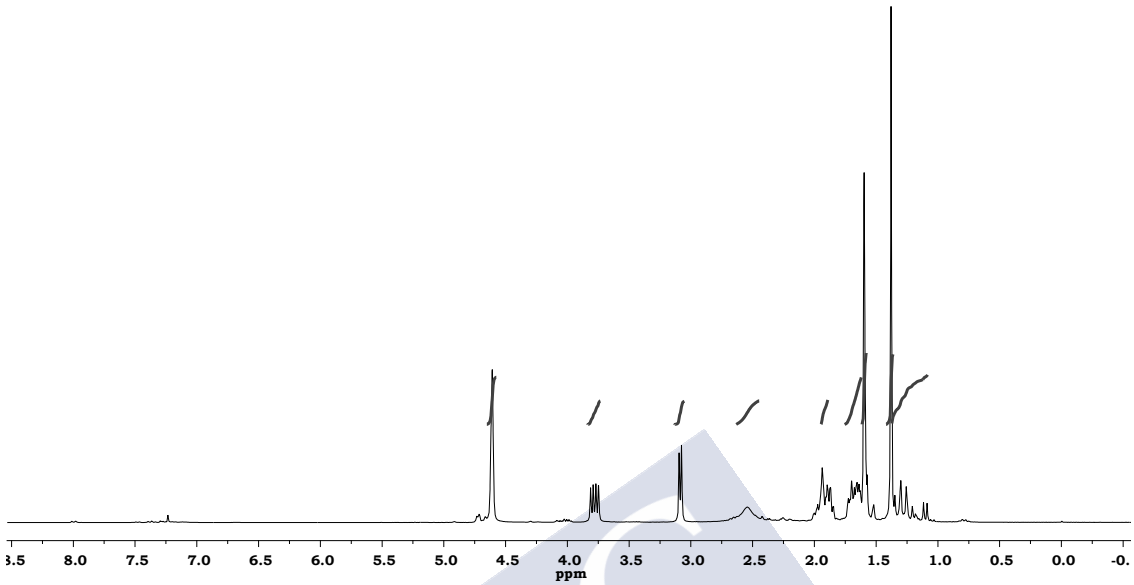
Capítulo I

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

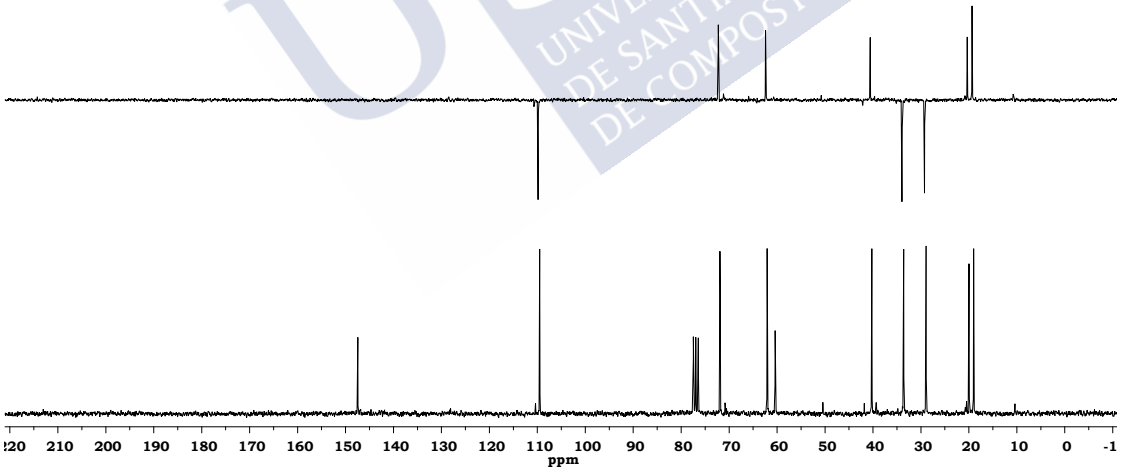


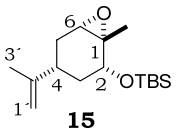
14

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 4.61 (s, 2H, H-1´), 3.78 (dd, *J* = 10.7, 5.4 Hz, 1H, H-2), 3.09 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, H-6), 2.54 (sa, 1H, H-OH), 1.92 (m, 1H, H-4), 1.76 – 1.64 (m, 2H), 1.60 (s, 3H, Me-1), 1.38 (s, 3H, H-3´), 1.36 – 1.06 (m, 2H).



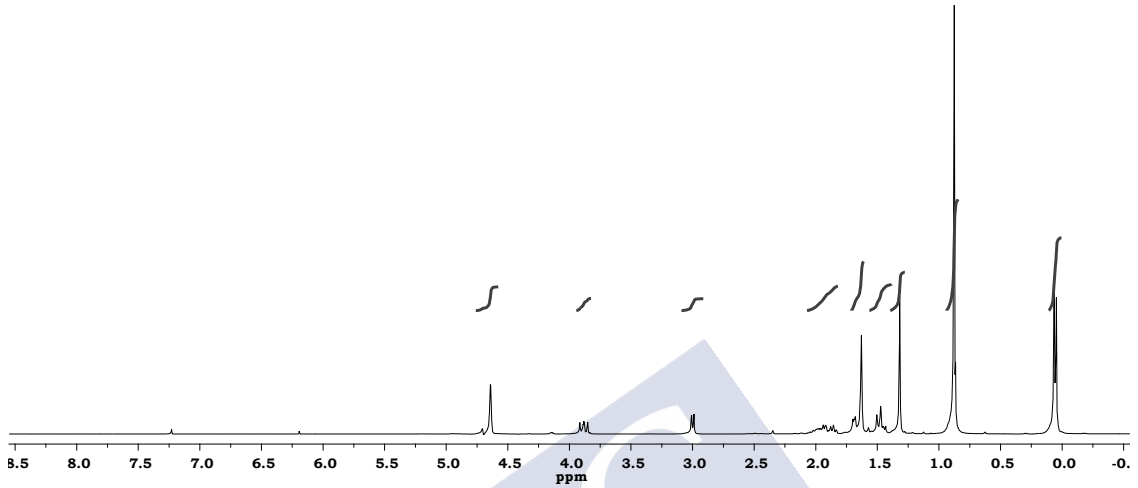
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 147.5 (C, C-2´), 109.6 (CH_2, C-1´), 72.0 (CH, C-2), 62.1 (CH, C-6), 60.4 (C, C-1), 40.3 (CH, C-4), 33.7 (CH_2), 29.0 (CH_2) 20.0 (CH_3), 19.0 (CH_3).



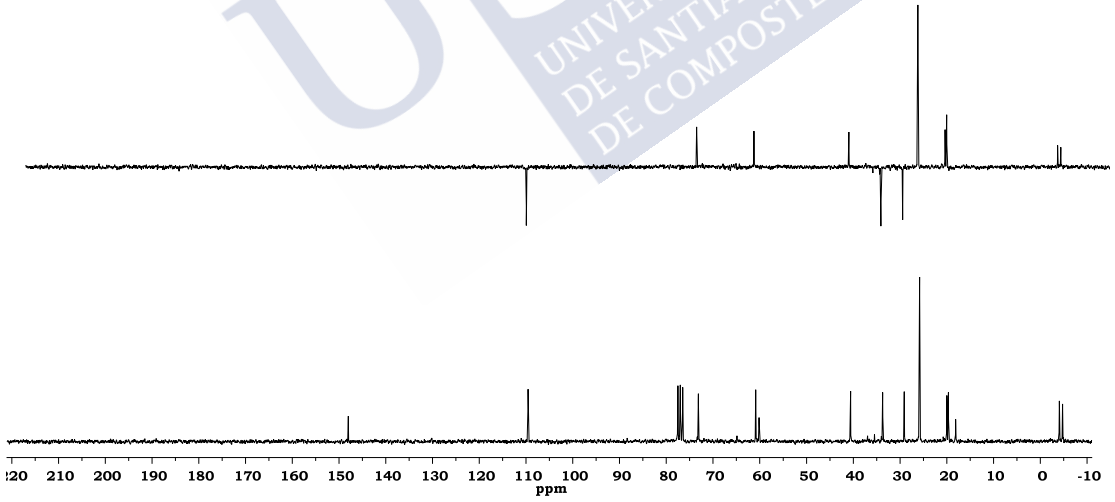


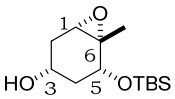
15

^{1}H NMR (250 MHz $CDCl_3$) δ, 4.64 (s, 2H, H-1´), 3.88 (dd, *J* = 8.7, 7.0 Hz, 1H, H-2), 3.00 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, H-6), 2.09 – 1.86 (m, 2H), 1.63 (m, 4H, H-4 + Me-3´), 1.57 – 1.38 (m, 2H), 1.32 (s, 3H, Me), 0.88 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.06 (d, *J* = 4.7 Hz, 6H, 2xMe-Si).



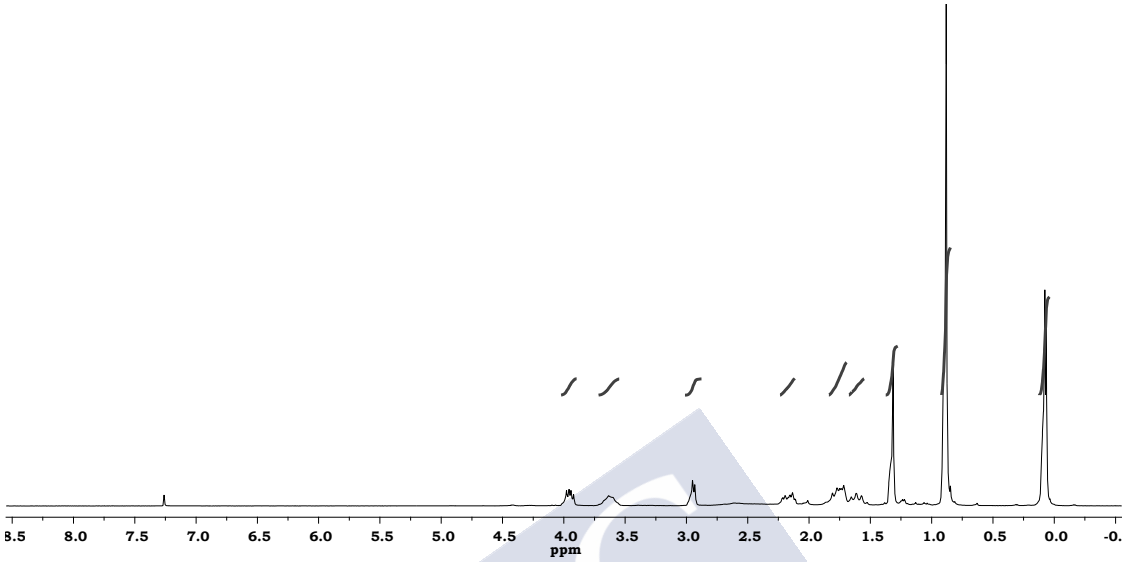
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 148.0 (C, C-2´), 109.6 (CH_2, C-1´), 73.1 (CH, C-2), 60.9 (CH, C-6), 60.1 (C, C-1), 40.9 (CH, C-4), 33.7 (CH_2), 29.1 (CH_2), 25.8 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 20.0 (CH_3), 19.7 (CH_3), 18.1 (C, C-Si), -4.08 (CH_3, Me-Si), -4.75 (CH_3, Me-Si).



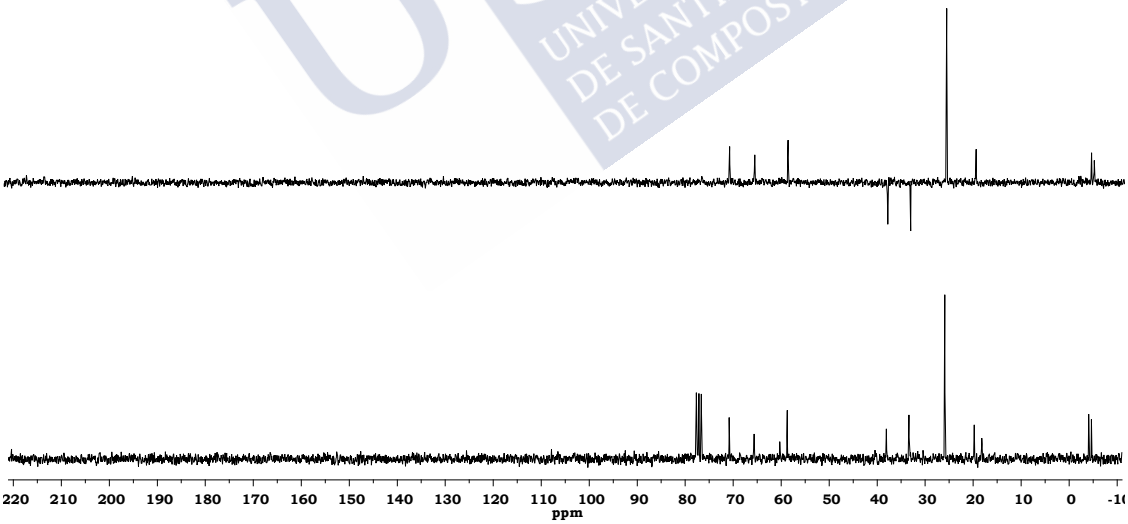


16

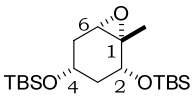
^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 3.95 (dd, *J* = 9.3, 5.3 Hz, 1H, H-5), 3.64 (m, 1H, H-3), 2.94 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, H-1), 2.24 – 2.12 (m, 1H), 1.86 – 1.70 (m, 2H), 1.67 – 1.56 (m, 1H), 1.31 (s, 3H, Me), 0.88 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.07 (d, *J* = 2.9 Hz, 6H, 2xMe-Si).



^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 70.8 (CH, C-5), 65.6 (CH, C-3), 60.3 (C, C-6), 58.7 (CH, C-1), 38.1 (CH_2), 33.4 (CH_2), 25.9 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 19.8 (CH_3, Me), 18.2 (C, ^{t}Bu-Si), -4.1 (CH_3, Me-Si), -4.6 (CH_3, Me-Si).

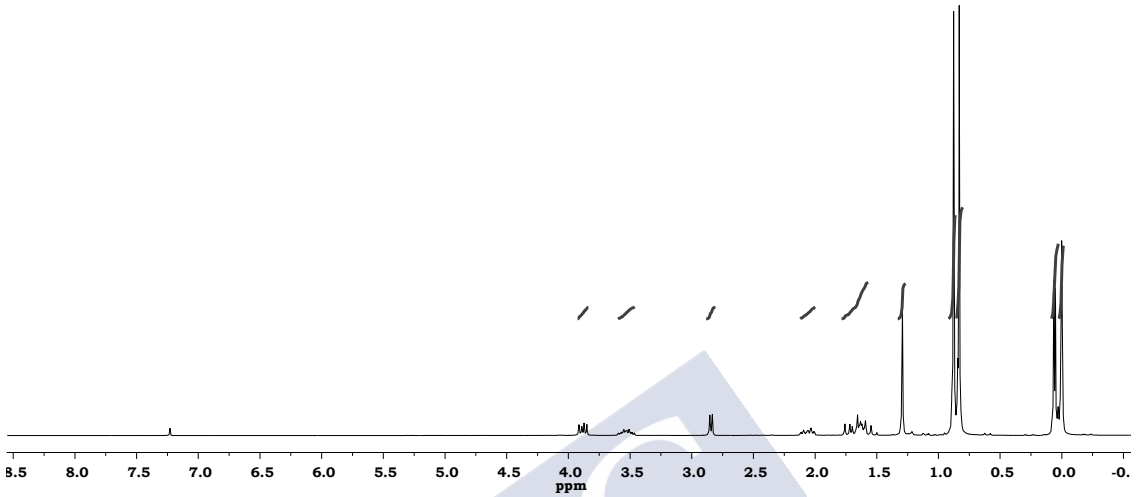


USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

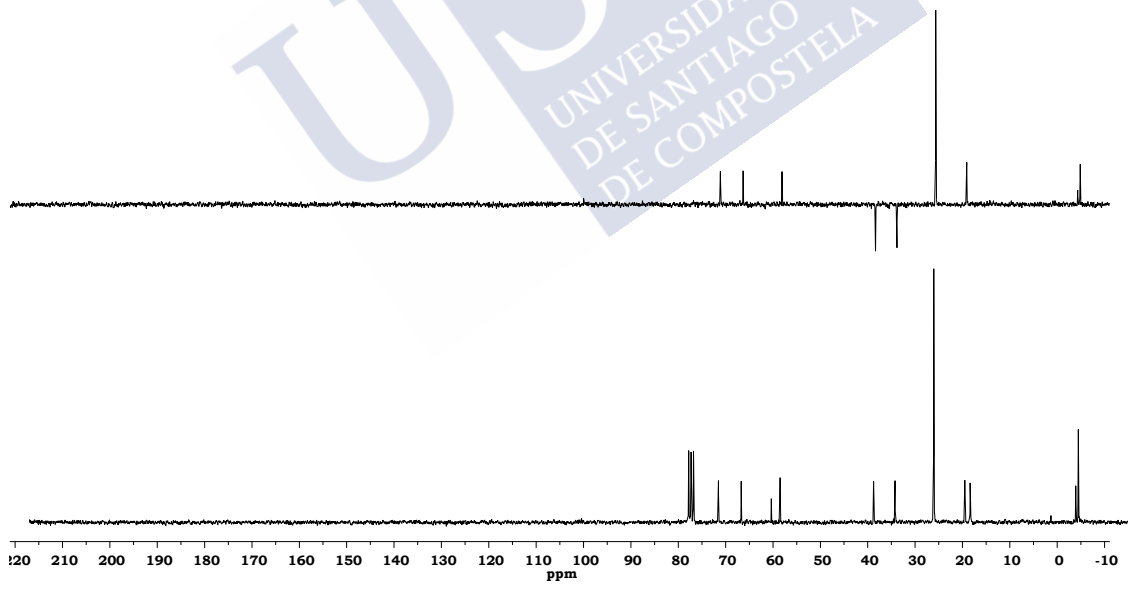


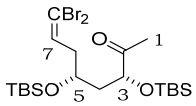
17

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 3.88 (dd, *J* = 10.2, 5.7 Hz, 1H, H-2), 3.54 (ddd, *J* = 16.9, 8.9, 5.6 Hz, 1H, H-4), 2.84 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, H-6), 2.13 – 1.99 (m, 1H), 1.79 – 1.58 (m, 3H), 1.29 (s, 3H, Me), 0.88 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.83 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.06 (d, *J* = 3.2 Hz, 6H, 2xMe-Si), 0.00 (s, 6H, 2xMe-Si).



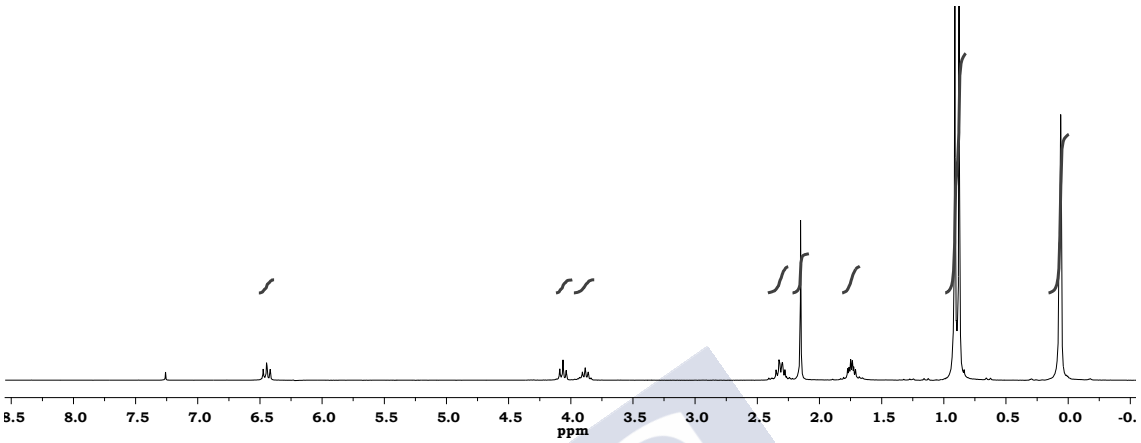
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 71.2 (CH, C-2), 66.4 (CH, C-4), 60.1 (C, C-1), 58.2 (CH, C-6), 38.5 (CH_2), 34.0 (CH_2), 25.8 (CH_3, 2x^{t}Bu-Si), 19.2 (CH_3), 18.1 (C, C-Si), -4.2 (CH_3, Me-Si) -4.7 (CH_3, 3xMe-Si).



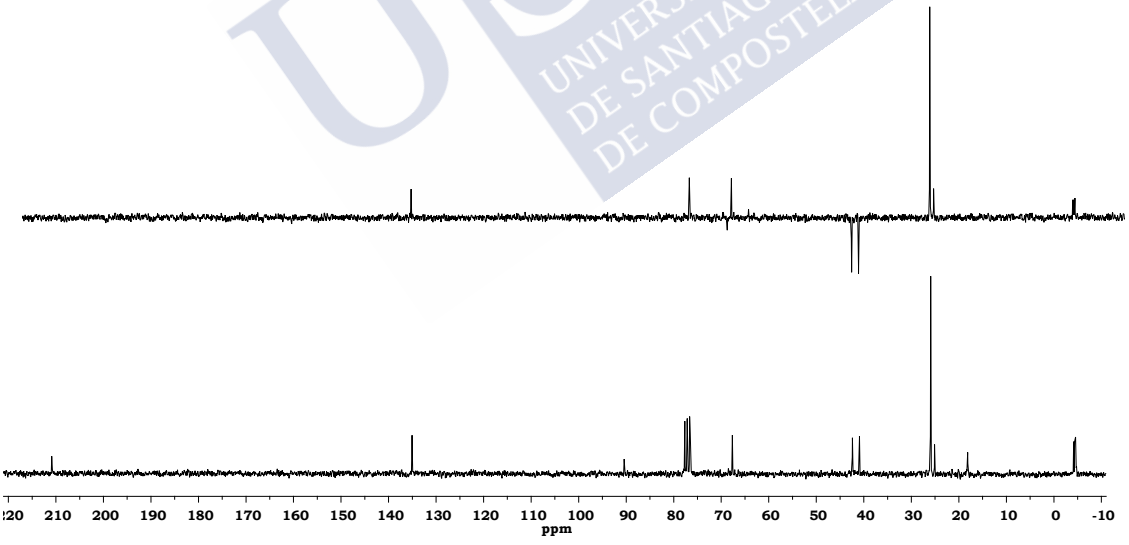


21

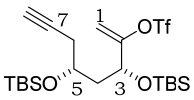
^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 6.45 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-7), 4.08 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, H-3), 3.90 (tt, *J* = 11.5, 5.8 Hz, 1H, H-5), 2.33 (qt, *J* = 8.4, 4.2 Hz, 2H, H-6), 2.15 (s, 3H, H-1), 1.82 – 1.68 (m, 2H, H-4), 0.91 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.88 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.07 (s, 12H, 4xMe-Si).



^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 210.9 (C, C=O), 135.0 (CH, C-7), 90.4 (C, C-8), 76.5 (CH, C-3), 67.6 (CH, C-5), 42.4 (CH_2), 40.9 (CH_2), 25.9 (CH_3, 2x^{t}Bu-Si), 25.1 (CH_3, C-1), 18.2 (C, ^{t}Bu-Si), 18.1 (C, ^{t}Bu-Si), -4.1 (CH_3, Me-Si), -4.4 (CH_3, Me-Si), -4.5 (CH_3, Me-Si), -4.6 (CH_3, Me-Si).

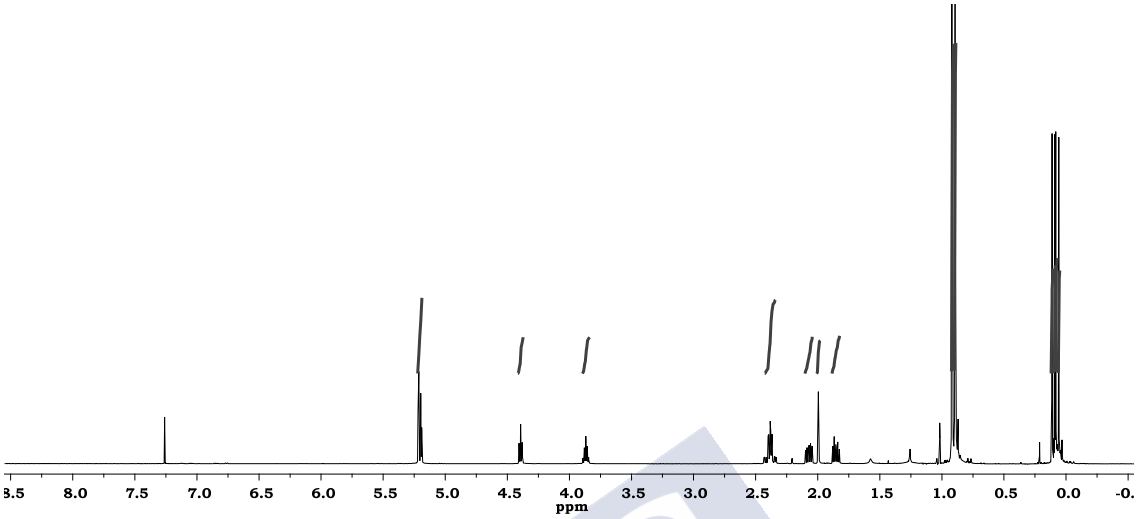


USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

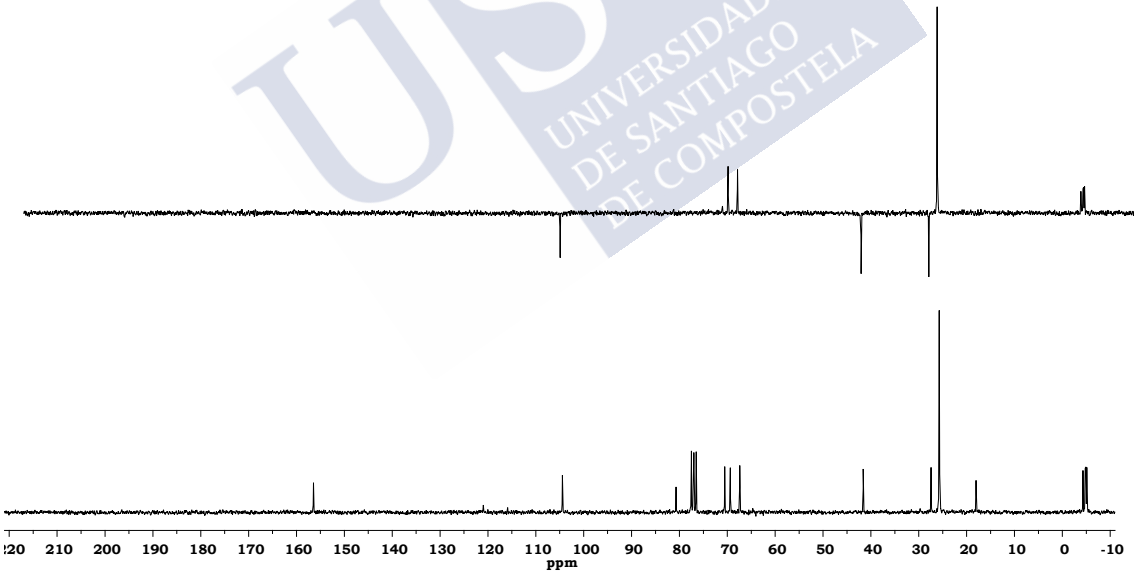


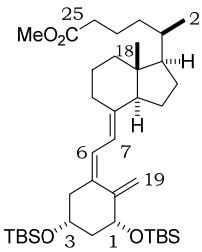
5

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5.20 (dt, *J* = 3.5, 2.0 Hz, 1H, H-1), 4.39 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H, H-3), 3.90 – 3.84 (m, 1H, H-5), 2.43 – 2.33 (m, 2H), 2.10 – 2.04 (m, 1H), 1.99 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-8), 1.85 (dt, *J* = 14.2, 6.2 Hz, 1H), 0.92 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.90 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.11 (s, 3H, Me-Si), 0.09 (s, 3H, Me-Si), 0.08 (s, 3H, Me-Si), 0.06 (s, 3H, Me-Si).



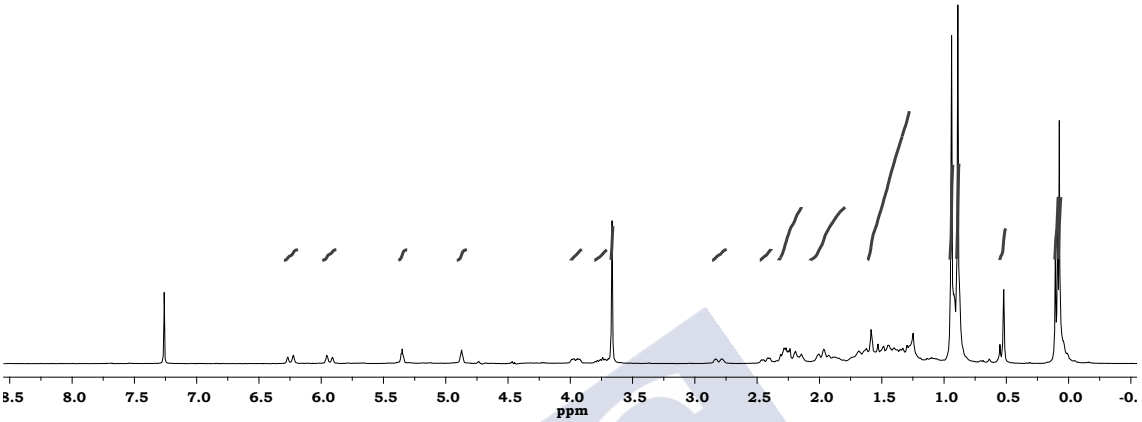
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 156.4 (C, C-2), 104.4 (CH_2, C-1), 80.7 (C, C-7), 70.5 (CH, C-8), 69.4 (CH, C-3), 67.4 (CH, C-5), 41.6 (CH_2), 27.4 (CH_2), 25.7 (CH_3, 2x^{t}Bu-Si), 18.0 (C, 2xC-Si), -4.31 (CH_3, Me-Si), -4.67 (CH_3, Me-Si) –4.52 (CH_3, Me-Si) -5.39 (CH_3, Me-Si).



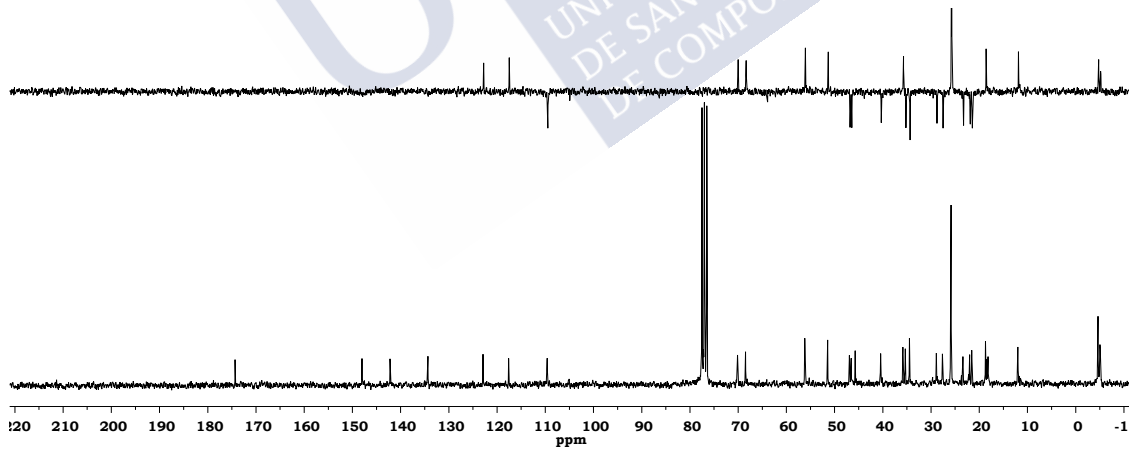


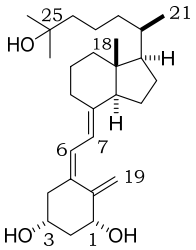
22

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 6.25 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, H-6), 5.93 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H-7), 5.35 (s, 1H, H-19), 4.87 (s, 1H, H-19), 4.00 – 3.92 (m, 1H, H-1), 3.84 – 3.69 (m, 1H, H-3), 3.66 (s, 3H, Me-O), 2.81 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 2.43 (dd, *J* = 12.5, 2.9 Hz, 1H), 2.34 – 2.14 (m, 5H), 1.94 (dd, *J* = 20.1, 10.5 Hz, 5H), 1.61-1.28 (m, 14H), 0.94 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.89 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.52 (s, 3H, Me-18), 0.09 (s, 6H, 2xMe-Si), 0.07 (s, 6H, 2xMe-Si).



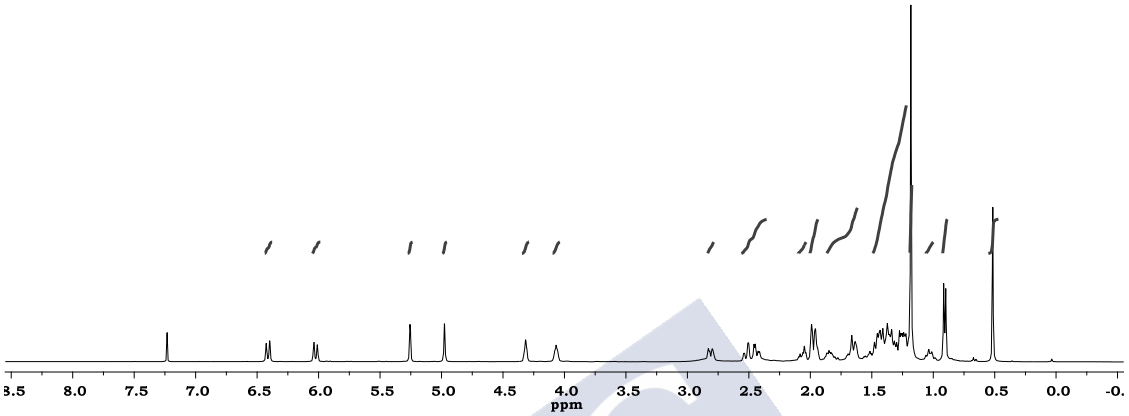
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 174.3 (C, C=O), 148.0 (C, C-10), 142.2 (C, C-8), 134.3 (C, C-5), 122.9 (CH, C-6), 117.6 (CH, C-7), 109.6 (CH_2, C-19), 70.1 (CH, C-1), 68.5 (CH, C-3), 56.2 (CH), 51.4 (CH_3, Me-O), 46.9(CH_2), 46.6 (CH_2), 45.7 (C), 40.5 (CH_2), 35.8 (CH), 35.3(CH_2), 34.5(CH_2), 28.9 (CH_2), 27.6(CH_2), 25.9 (CH_3,^{t}Bu-Si), 25.9 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 23.4(CH_2), 22.0(CH_2), 21.6 (CH_2), 18.7 (CH_3, C-21), 18.5 (C, C-Si), 18.2 (C, C-Si), 12.0 (CH_3, C-18), -4.6 (CH_3, 2xMe-Si), -5.0 (CH_3, Me-Si), -5.1 (CH_3, Me-Si).



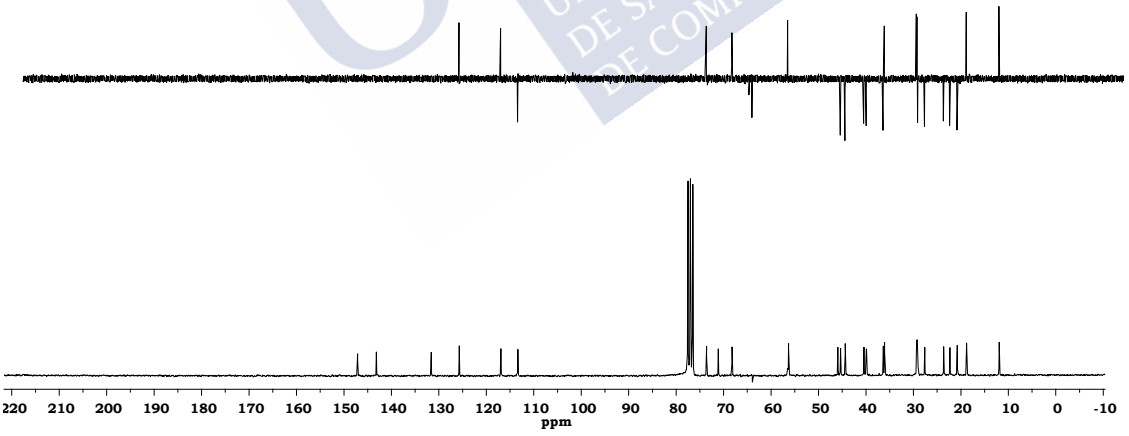


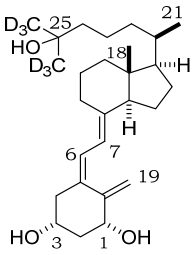
1a

^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.42 (d, *J* = 11.2, 1H, H-6), 6.03 (d, *J* = 11.3, 1H, H-7), 5.26 (s, 1H, H-19), 4.98 (s, 1H, H-19), 4.32 (t, *J* = 3.6, 1H, H-1), 4.07 (s, 1H, H-3), 2.87 – 2.76 (m, 1H), 2.47 (dt, *J* = 13.6, 8.8, 3H), 2.10 – 2.03 (m, 1H), 2.01 – 1.94 (m, 3H), 1.88 – 1.62 (m, 4H), 1.49 – 1.22 (m, 13H), 1.18 (s, 6H, Me-26 + Me-27), 1.06 – 0.99 (m, 1H), 0.91 (d, *J* = 6.3, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18).



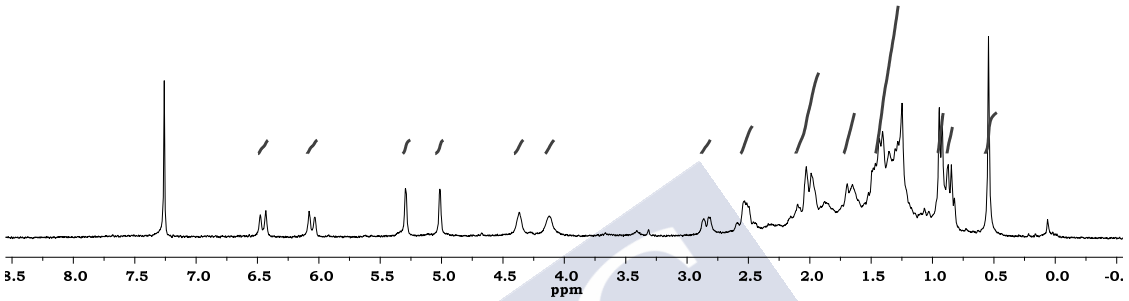
^{13}C RMN (63 MHz, $CDCl_3$) δ 147.1 (C, C-10), 143.2 (C, C-8), 131.6 (C, C-5), 125.7 (CH, C-6), 116.9 (CH, C-7), 113.3 (CH_2, C-19), 73.6 (CH, C-1) 71.1 (C, C-25), 68.2 (CH, C-3), 56.5 (CH), 56.3 (CH), 45.9 (C), 45.4 (CH_2), 44.4 (CH_2), 40.4 (CH_2), 39.9 (CH_2), 36.3 (CH_2), 36.1 (CH), 29.3 (CH_3), 29.2 (CH_3), 29.1 (CH_2), 27.6 (CH_2), 23.6 (CH_2), 22.3 (CH_2), 20.8(CH_2), 18.8 (CH_3, Me-21), 11.9 (CH_3, Me-18).



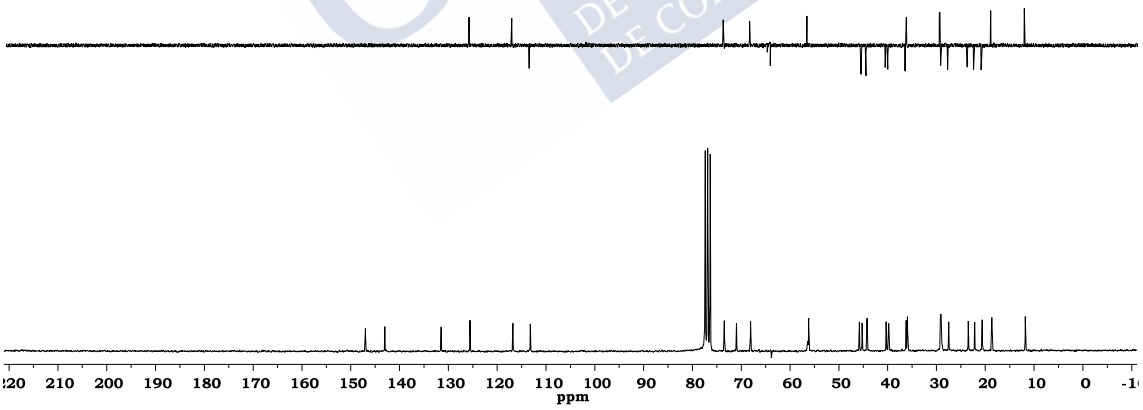


1b

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 6.45 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H-6), 6.06 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H-7), 5.29 (s, 1H, H-19), 5.02 (s, 1H, H-19), 4.37 (m, 1H, H-1), 4.12 (m, 1H, H-3), 2.84 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 2.53 (s, 2H), 2.08 – 1.87 (m, 6H), 1.67 (d, *J* = 10.3 Hz, 3H), 1.45 – 1.25 (m, 11H), 0.93 (d, *J* = 5.9 Hz, 3H, Me-21), 0.88 – 0.82 (m, 2H), 0.54 (s, 3H, Me-18).



^{13}C RMN (63 MHz, $CDCl_3$) δ 147.1 (C, C-10), 143.2 (C, C-8), 131.6 (C, C-5), 125.7 (CH, C-6), 116.9 (CH, C-7), 113.3 (CH_2, C-19), 73.6 (CH, C-1) 71.1 (C, C-25), 68.2 (CH, C-3), 56.5 (CH), 56.3 (CH), 45.9 (C), 45.4 (CH_2), 44.4 (CH_2), 40.4 (CH_2), 39.9 (CH_2), 36.3 (CH_2), 36.1 (CH), 29.3 (CH_3), 29.2 (CH_3), 29.1 (CH_2), 27.6 (CH_2), 23.6 (CH_2), 22.3 (CH_2), 20.8(CH_2), 18.8 (CH_3, Me-21), 11.9 (CH_3, Me-18).

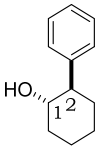


USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Espectros

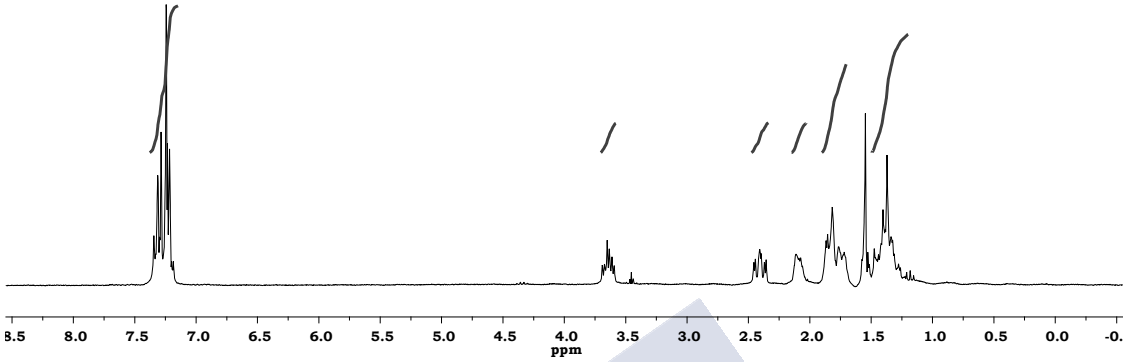
Capítulo II

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

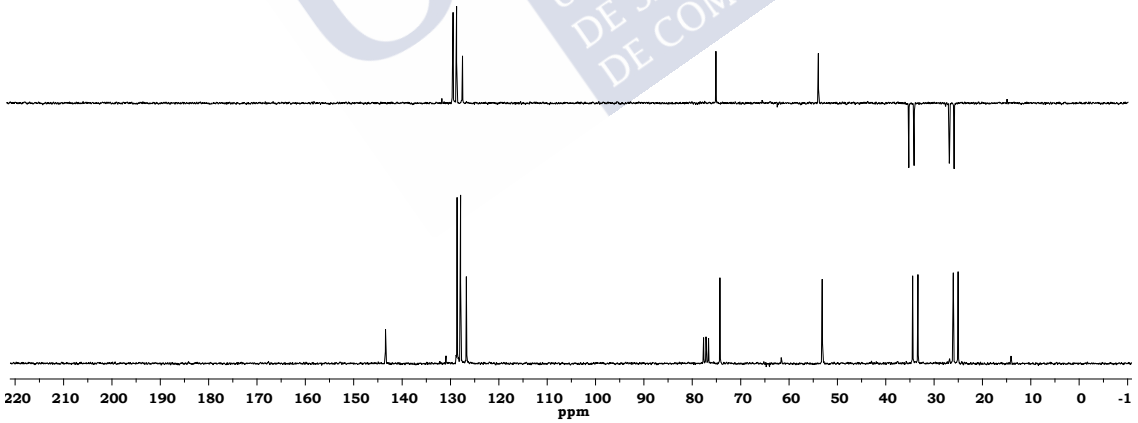


31

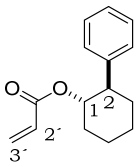
^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.38 – 7.15 (m, 5H, H_{ar}), 3.64 (td, *J* = 9.9, 4.4 Hz, 1H, H-1), 2.48 – 2.34 (m, 1H, H-2), 2.09 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 1.90 – 1.70 (m, 3H), 1.49 – 1.20 (m, 4H).



^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 143.4 (C, C_{ar}), 128.6 (CH, 2xCH_{ar}), 127.9 (CH, 2xCH_{ar}), 126.7 (CH, CH_{ar}), 74.3 (CH, C-1), 53.1 (CH, C-2), 34.4 (CH_2), 33.3 (CH_2), 26.0 (CH_2), 25.0 (CH_2).

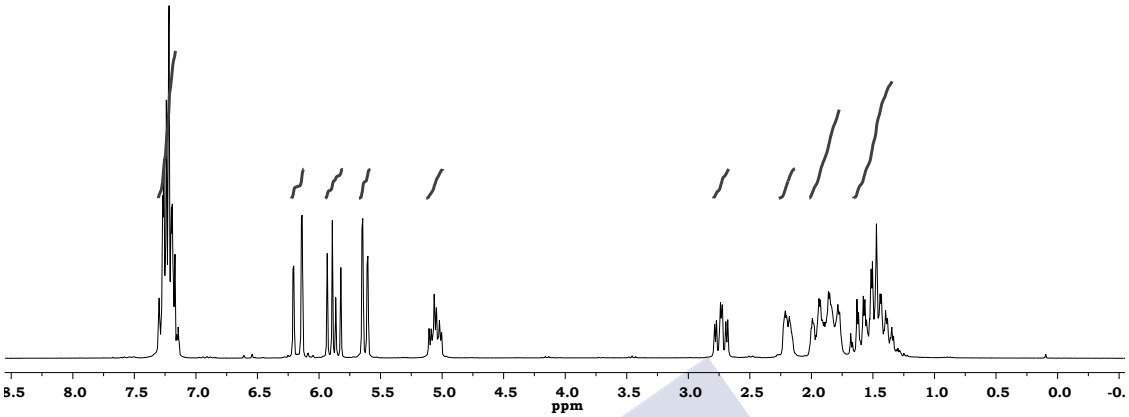


USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

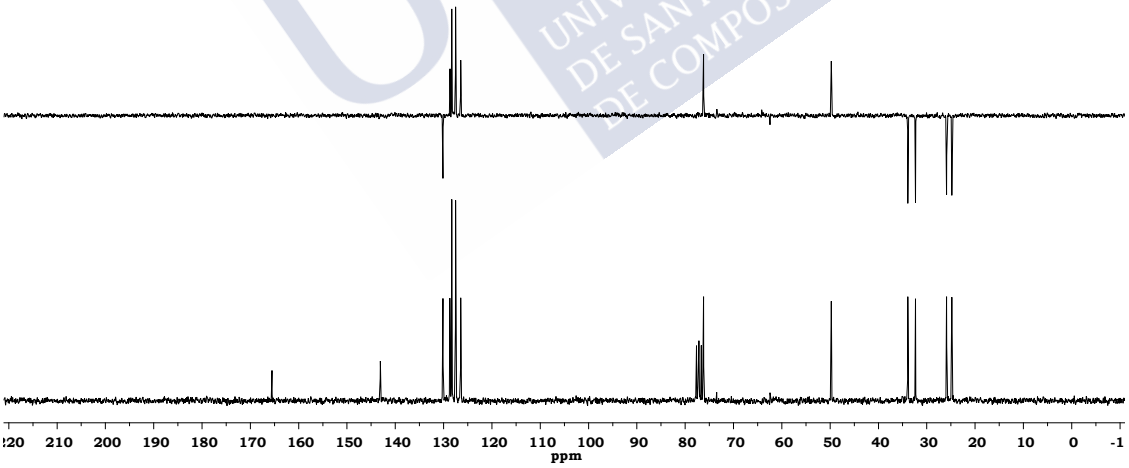


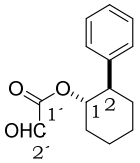
32

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.30 – 7.16 (m, 5H, H_{ar}), 6.17 (dd, *J* = 17.2, 1.6 Hz, 1H, H-3´), 5.88 (dd, *J* = 17.2, 10.3 Hz, 1H, H-2´), 5.63 (dd, *J* = 10.3, 1.6 Hz, 1H, H-3´), 5.06 (td, *J* = 10.5, 4.4 Hz, 1H, H-1), 2.73 (td, *J* = 11.5, 3.7 Hz, 1H, H-2), 2.19 (dd, *J* = 9.4, 3.7 Hz, 1H), 2.02 – 1.77 (m, 3H), 1.66 – 1.34 (m, 4H).



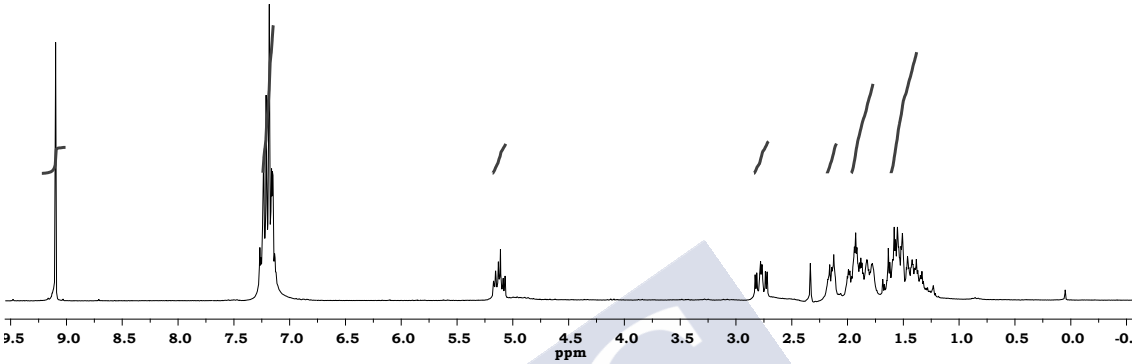
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 165.5 (C, C=O), 143.1 (C, C_{ar}), 130.1 (CH_2, C-3´), 128.7 (CH, C-2´), 128.3 (CH, 2xCH_{ar}), 127.5 (CH, 2xCH_{ar}), 126.4 (CH, CH_{ar}), 76.2 (CH, C-1), 49.7 (CH, C-2), 33.9 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.9 (CH_2), 24.8 (CH_2).



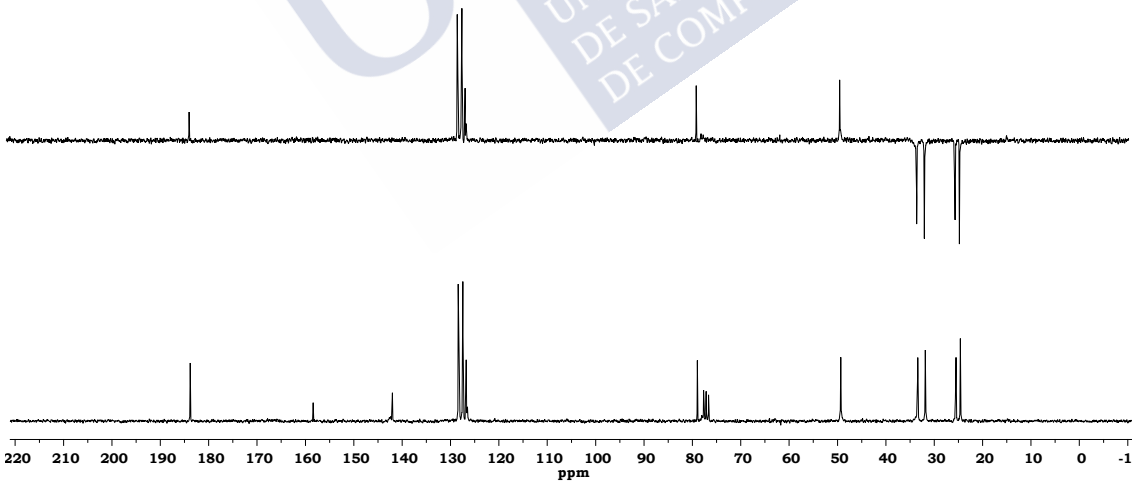


28

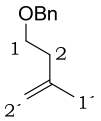
^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 9.10 (s, 1H, CHO), 7.24 – 7.15 (m, 5H, H_{ar}), 5.12 (td, *J* = 10.6, 4.5 Hz, 1H, H-1), 2.84 – 2.71 (m, 1H, H-2), 2.14 (dd, *J* = 8.0, 3.4 Hz, 1H), 1.97 – 1.77 (m, 3H), 1.48 (m, 4H).



^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 183.8 (CH, CHO), 158.3 (C, C=O), 142.0 (C, C_{ar}), 128.4 (CH_2, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH_2, 2xCH_{ar}), 126.8 (CH_2, CH_{ar}), 79.0 (CH, C-1), 49.3 (CH, C-2), 33.4 (CH_2), 31.8 (CH_2), 25.5 (CH_2), 24.6 (CH_2).

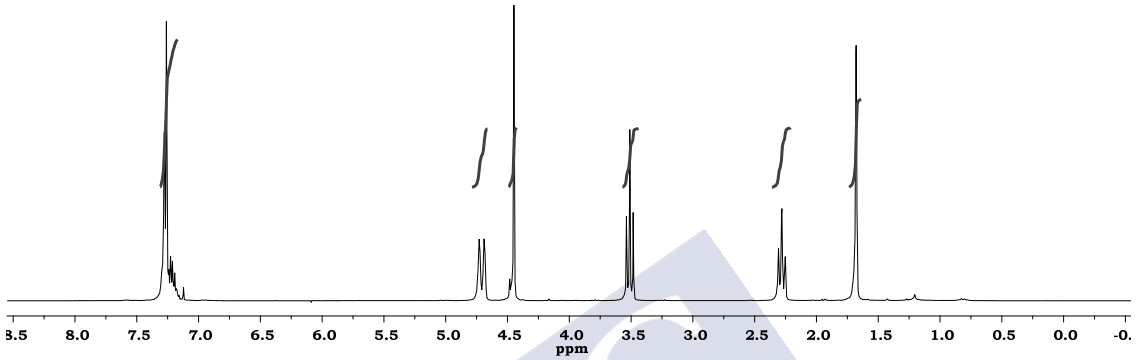


USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

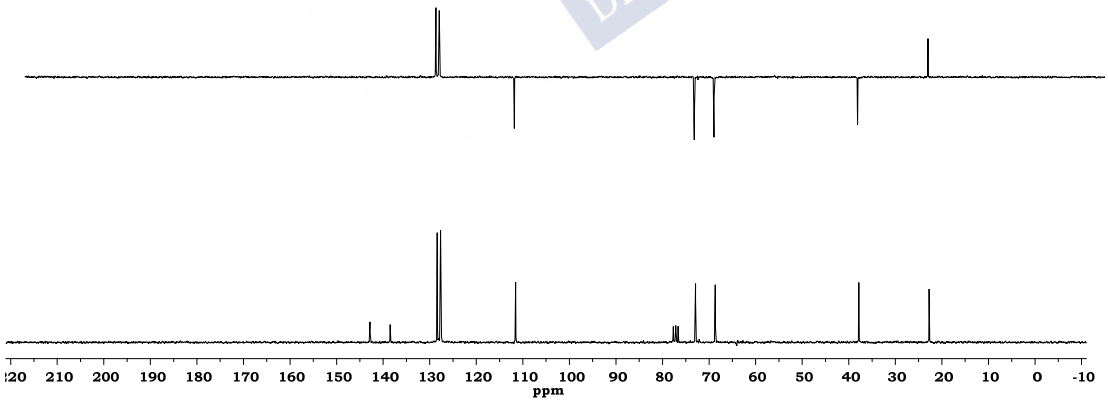


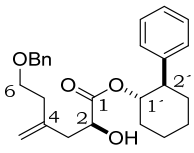
33

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.31 – 7.17 (m, 5H, H_{ar}), 4.79 – 4.66 (m, 2H, H-2´), 4.47 (s, 2H, CH_2-Bn), 3.51 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H-1), 2.28 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, H-2), 1.68 (s, 3H, H-1´).



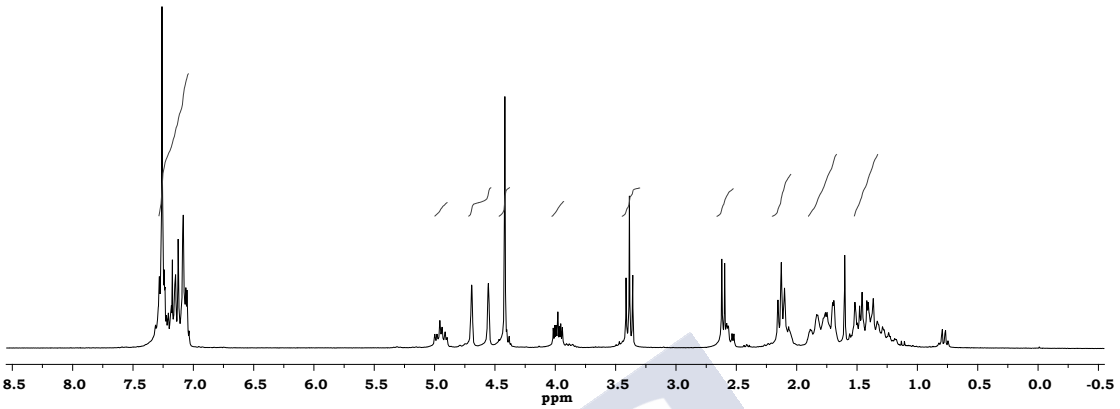
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 142.8 (C, C-3), 138.5 (C, C_{ar}), 128.4 (CH, 2xCH_{ar}), 127.8 (CH, 2xCH_{ar}), 127.8 (CH, CH_{ar}), 111.6 (CH_2, C-2´), 72.9 (CH_2, CH_2-Bn), 68.7 (CH_2, C-1), 37.8 (CH_2, C-2), 22.7 (CH_3, C-1´).



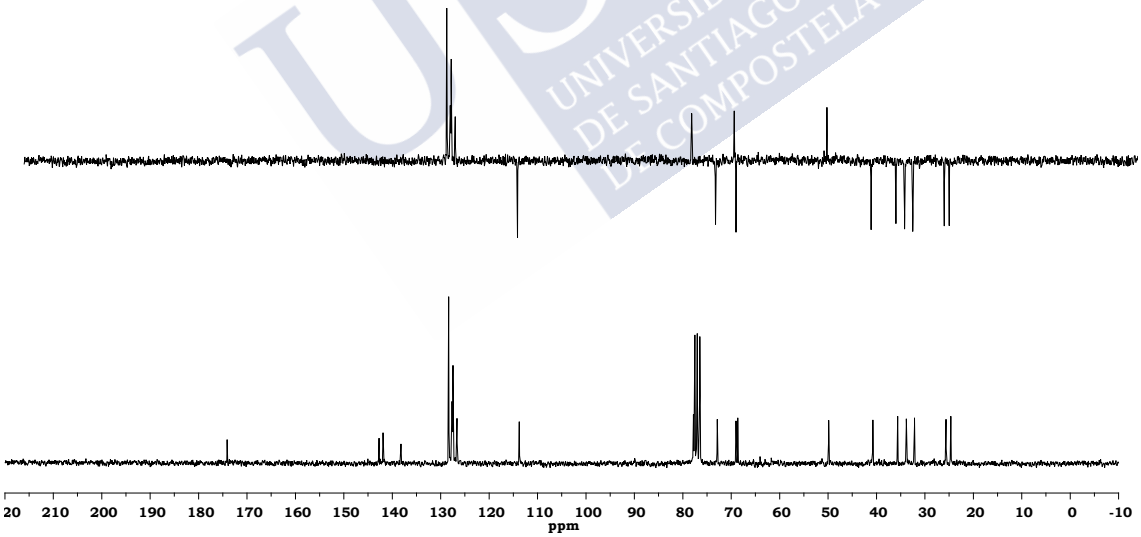


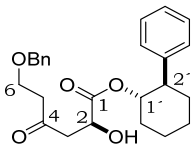
27a

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 – 7.04 (m, 10H, H_{ar}), 4.95 (td, *J* = 10.6, 4.4 Hz, 1H, H-1´), 4.69 (s, 1H, $=CH_2$), 4.56 (s, 1H, $=CH_2$), 4.43 (s, 2H, H-7), 3.98 (ddd, *J* = 9.4, 6.0, 3.2 Hz, 1H, H-2), 3.39 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, H-6), 2.66 – 2.52 (m, 2H), 2.11 (dd, *J* = 14.3, 7.7 Hz, 3H), 1.78 (ddd, *J* = 17.7, 15.2, 7.9 Hz, 4H), 1.57–1.39 (m, 4H).



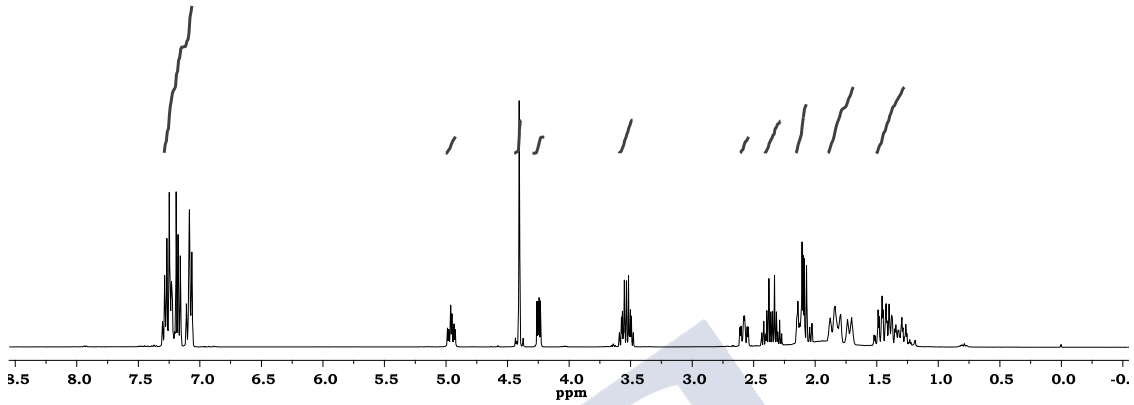
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 174.1 (C, C=O), 142.7 (C, C_{ar}), 141.9 (C, C_{ar}), 138.2 (C, C-4), 128.4 (CH, 3xCH_{ar}), 127.7 (CH, 2xCH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH, 2xCH_{ar})126.6 (CH, CH_{ar}), 113.8 (CH_2, $=CH_2$,), 77.6 (CH, C-1´), 72.9 (CH_2, C-7), 69.0 (CH, C-2), 68.8 (CH_2, C-6), 49.9 (CH, C-2´), 40.8 (CH_2), 35.6 (CH_2), 33.8 (CH_2), 32.1 (CH_2), 25.6 (CH_2), 24.6 (CH_2).



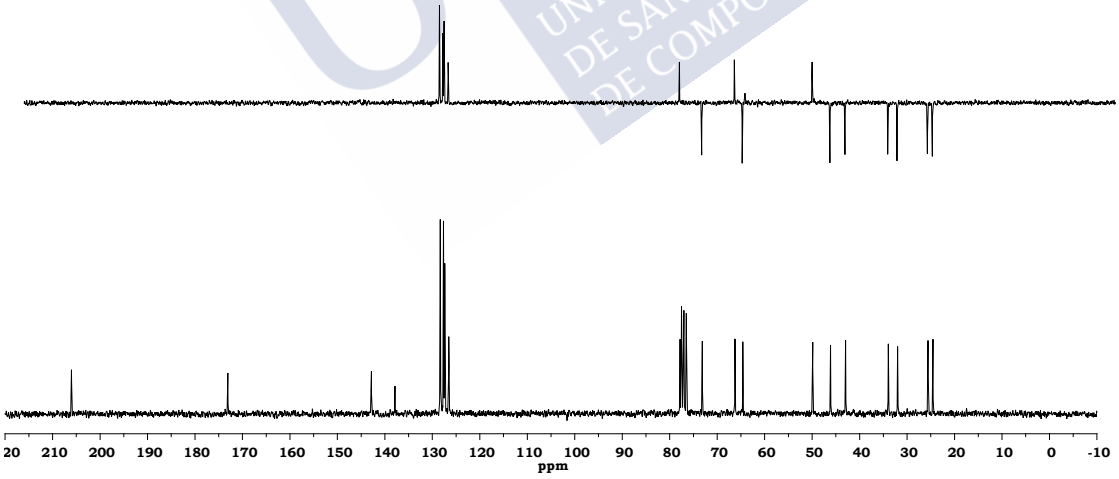


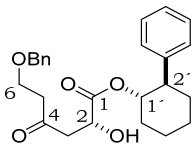
26a

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 – 7.07 (m, 10H, H_{ar}), 4.96 (td, *J* = 10.7, 4.3 Hz, 1H, H-1´), 4.42 (s, 2H, H-7), 4.25 (dd, *J* = 7.3, 3.8 Hz, 1H, H-2), 3.59 – 3.48 (m, 2H, H-6), 2.61 – 2.54 (m, 1H, H-2´), 2.41 – 2.28 (m, 2H), 2.15 – 2.07 (m, 3H), 1.90 – 1.69 (m, 4H), 1.51 – 1.28 (m, 4H).



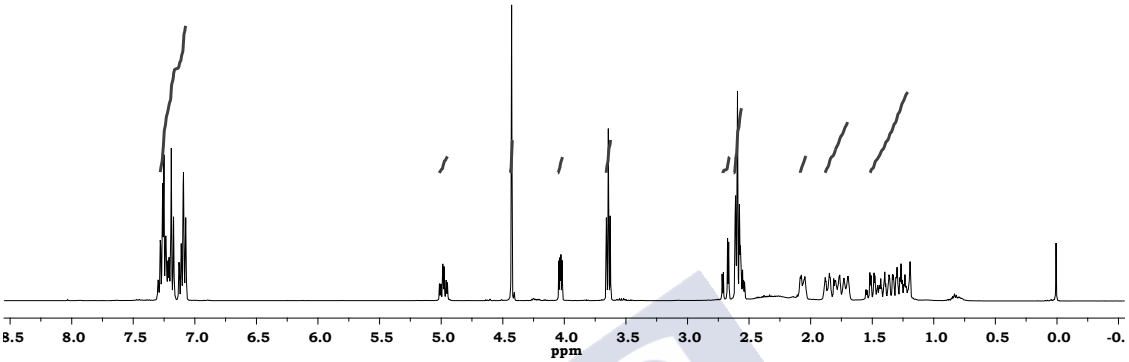
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 206.0 (C, C=O, C-4), 173.1 (C, C=O, C-1), 142.9 (C, C_{ar}), 137.9 (C, C_{ar}), 128.4 (CH, 2xCH_{ar}), 128.3 (CH, 2xCH_{ar}),127.7 (CH, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH, 2xCH_{ar}), 127.3 (CH, CH_{ar}), 126.5 (CH, CH_{ar}), 78.0 (CH, C-1´), 73.3 (CH_2, C-7), 66.4 (CH, C-2), 64.8 (CH_2, C-6), 50.0 (CH_2, C-2´), 46.3 (CH_2), 43.1 (CH_2), 34.1 (CH_2), 32.2 (CH_2), 25.7 (CH_2), 24.7 (CH_2).



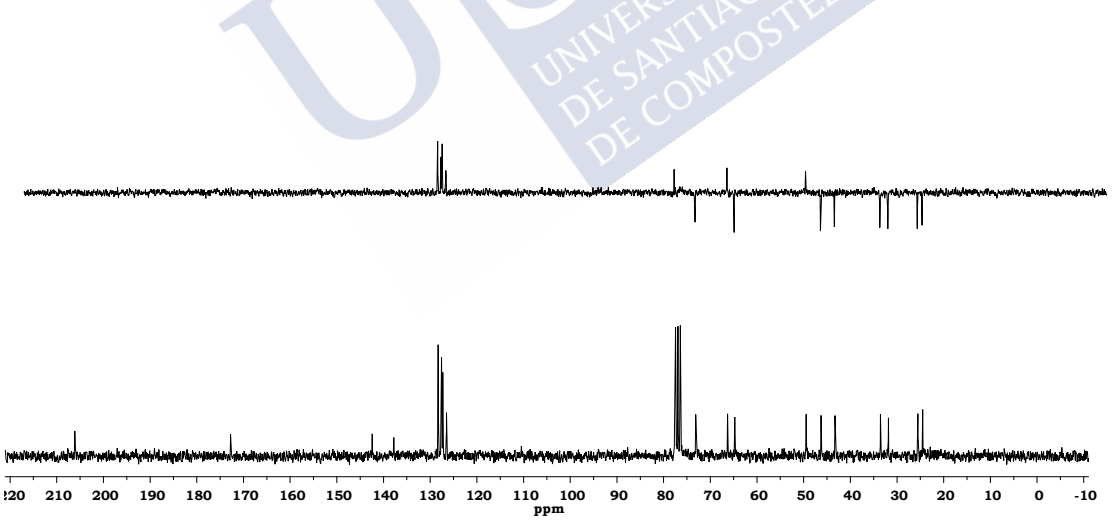


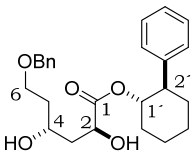
26b

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.28 – 7.07 (m, 10H, H_{ar}), 4.98 (td, *J* = 10.7, 4.4 Hz, 1H, H-1´), 4.43 (s, 2H, H-7), 4.03 (dd, *J* = 6.6, 3.8 Hz, 1H, H-2), 3.64 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H. H-6), 2.71 – 2.66 (m, 1H), 2.59 (dd, *J* = 11.2, 4.7 Hz, 4H), 2.06 (dd, *J* = 11.8, 3.1 Hz, 1H), 1.88 – 1.70 (m, 3H), 1.52 – 1.21 (m, 5H).



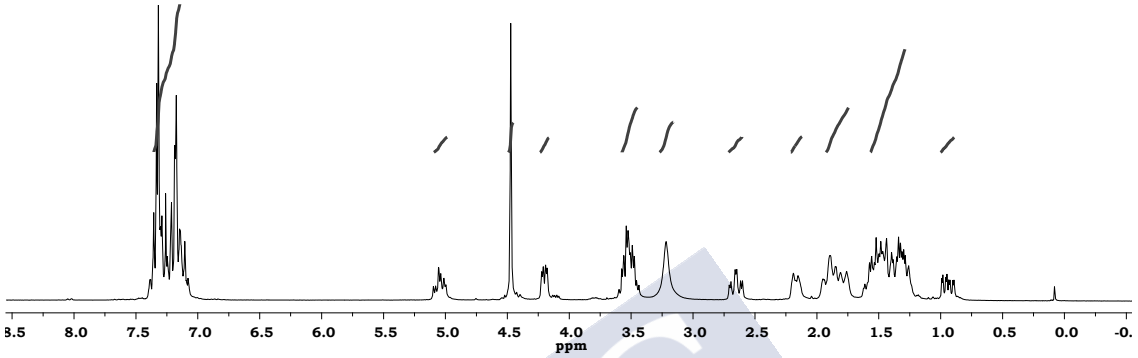
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 206.4 (C, C=O, C-4), 173.0 (C, C=O, C-1), 142.6 (C, C_{ar}), 138.0 (C, C_{ar}), 128.4 (CH, 2xCH_{ar}), 128.3 (CH, 2xCH_{ar}), 127.8 (CH, CH_{ar}), 127.7 (CH, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH, 2xCH_{ar}), 126.6 (CH, CH_{ar}), 77.8 (CH, C-1´), 73.4 (CH_2, C-7), 66.5 (CH, C-2), 65.0 (CH_2, C-6), 49.7 (CH_2, C-2´), 46.5 (CH_2), 43.5 (CH_2), 343.8 (CH_2), 32.1 (CH_2), 25.7 (CH_2), 24.7 (CH_2).



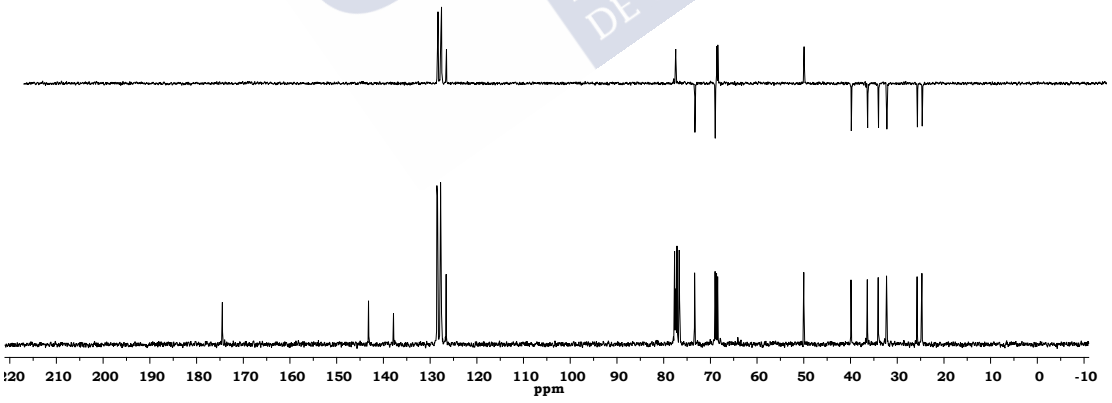


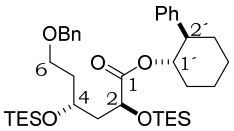
34

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.36 – 7.14 (m, 10H, H_{ar}), 5.04 (dt, *J* = 10.4, 5.1 Hz, 1H, H-1´), 4.47 (s, 2H, H-7), 4.20 (dd, *J* = 7.9, 3.1 Hz, 1H, H-2), 3.51 (m, 3H, H-4 + H-6), 3.22 (s, 2H, 2xH-OH), 2.71 – 2.60 (m, 1H, H-2´), 2.17 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 1.83 (dd, *J* = 21.6, 10.7 Hz, 3H), 1.42 (dddd, *J* = 13.2, 9.3, 5.7, 2.9 Hz, 7H), 0.94 (ddd, *J* = 14.3, 8.0, 2.4 Hz, 1H).



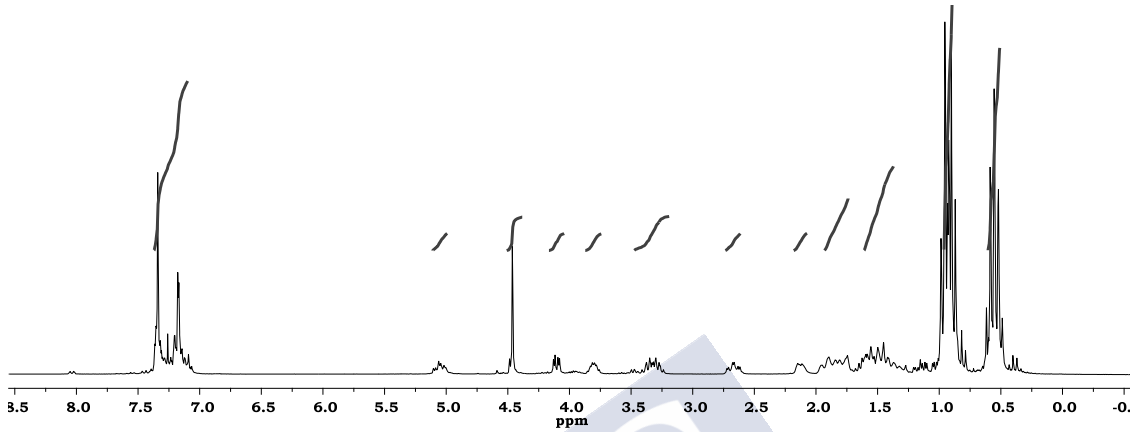
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 174.5 (C, C=O), 143.2 (C, C_{ar}), 137.8 (C, C_{ar}), 128.5 (CH, 2xCH_{ar}), 128.4 CH, 2xCH_{ar}), 127.9 (CH, CH_{ar}), 127.8 (CH, 2xCH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 126.6 (CH, CH_{ar}), 77.5 (CH, C-1´), 73.4 (CH_2, C-7), 69.0 (CH_2, C-6), 68.7 (CH, C-2), 68.5 (CH, C-4), 50.0(CH, C-2´), 39.9 (CH_2), 36.4 (CH_2), 34.1 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.7 (CH_2), 24.7 (CH_2).



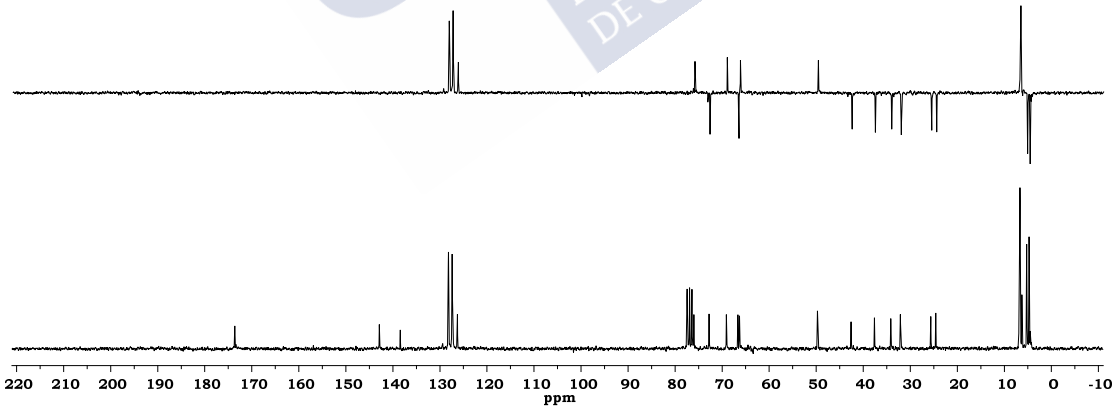


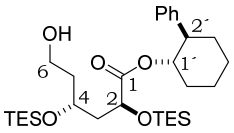
25

1H NMR (250 MHz, CDCl3) δ 7.37 – 7.10 (m, 10H, H_{ar}), 5.05 (td, *J* = 10.5, 4.2 Hz, 1H, H-1´), 4.45 (s, 2H, H-7), 4.09 (dt, *J* = 11.6, 5.8 Hz, 1H, H-2), 3.81 (td, *J* = 9.8, 6.0 Hz, 1H, H-4), 3.47 – 3.19 (m, 2H, H-6), 2.67 (td, *J* = 11.6, 3.6 Hz, 1H, H-2´), 2.18 – 2.07 (m, 1H), 1.82 (dd, *J* = 23.5, 14.4 Hz, 3H), 1.61 – 1.37 (m, 5H), 0.96 – 0.86 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.60 – 0.51 (m, 12H, 6x$C\underline{H}_2CH_3$).



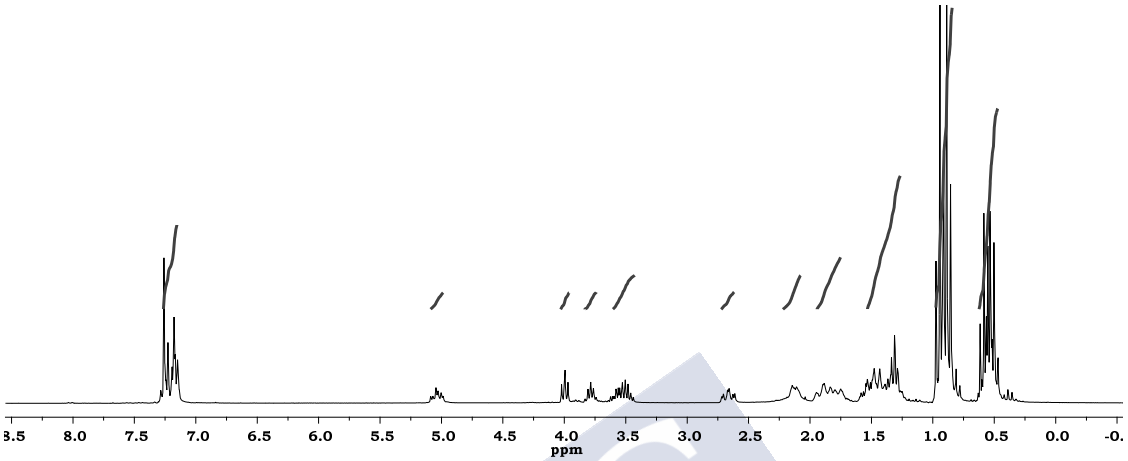
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 173.6 (C, C-1), 142.9 (C, C_{ar}), 138.4 (C, C_{ar}), 128.2 (CH, 2xCH_{ar}), 128.1 (CH, 2xCH_{ar}), 127.5 (CH, 2xCH_{ar}), 127.4 (CH, 2xCH_{ar}), 127.3 (CH, CH_{ar}), 126.3 (CH, CH_{ar}), 76.0 (CH, C-1´), 72.8 (CH_2, C-7), 69.1 (CH, C-2), 66.6 (CH_2, C-6), 66.3 (CH, C-4), 49.7 (CH, C-2´), 42.6 (CH_2), 37.6 (CH_2), 34.1 (CH_2), 32.1 (CH_2), 25.6 (CH_2), 24.6 (CH_2), 6.8 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.7 (CH_2, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.3 (CH_2, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 4.7 (CH_2, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$).



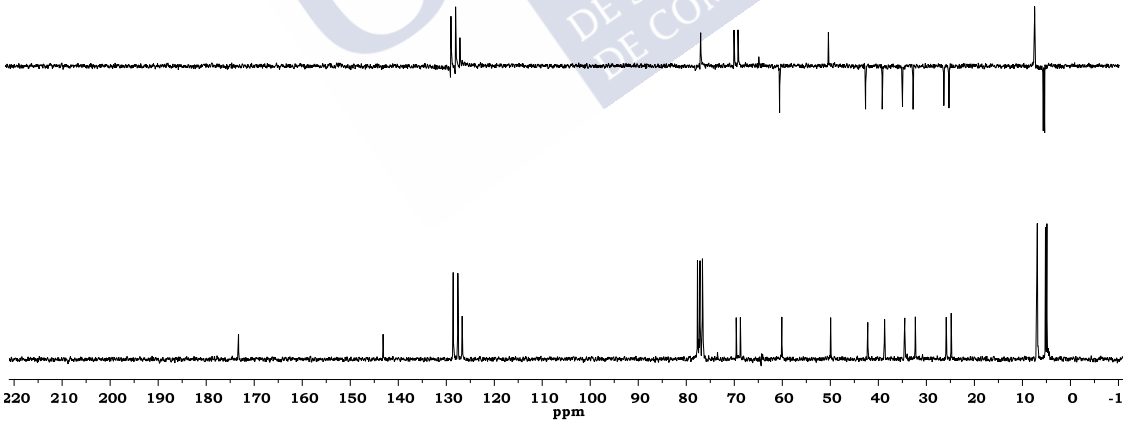


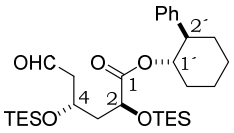
35

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.26 – 7.15 (m, 5H, H_{ar}), 5.03 (dt, *J* = 10.3, 5.1 Hz, 1H, H-1´), 4.00 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H-2), 3.83 – 3.74 (m, 1H, H-4), 3.60 – 3.43 (m, 2H, H-6), 2.72 – 2.62 (m, 1H, H-2´), 2.14 (dd, *J* = 11.8, 7.5 Hz, 2H), 1.94 – 1.75 (m, 3H), 1.53 – 1.27 (m, 8H), 0.98 – 0.84 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.62 – 0.47 (m, 12H, 6x$C\underline{H}_2CH_3$).



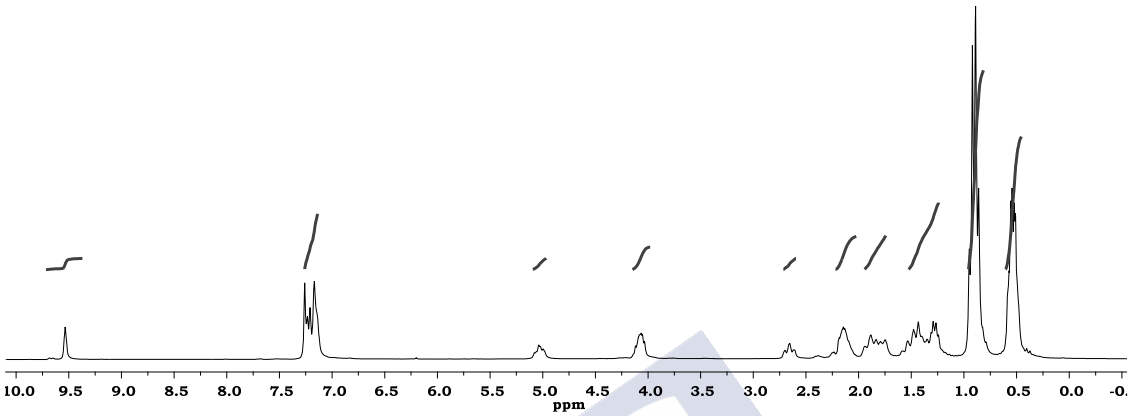
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 173.2 (C, C-1), 143.2 (C, C_{ar}), 128.5 (CH, 2xCH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 126.7 (CH, CH_{ar}), 76.5 (CH, C-1´), 69.6 (CH, C-2), 68.7 (CH, C-4), 60.1 (CH_2, C-6), 49.9 (CH, C-2´), 42.2 (CH_2), 38.7 (CH_2), 34.5 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.9 (CH_2), 24.8 (CH_2), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.9 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.2 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 4.9 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$).



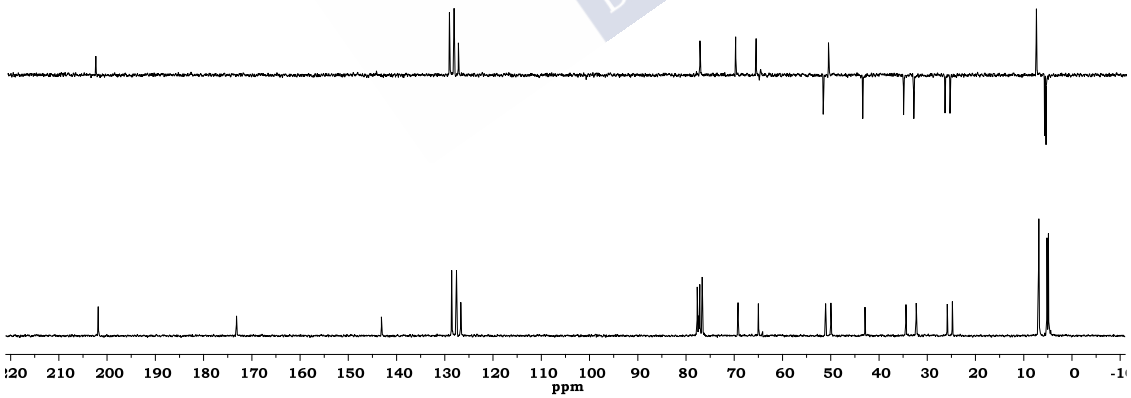


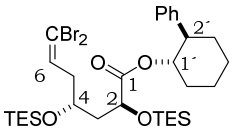
36

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 9.53 (s, 1H, CHO), 7.22 (m, 5H, H_{ar}), 5.09 – 4.96 (m, 1H, H-1´), 4.15 – 3.98 (m, 2H, H-2 + H-4), 2.65 (dd, *J* = 15.7, 7.1 Hz, 1H, H-2´), 2.22 – 2.02 (m, 3H), 1.94 – 1.74 (m, 3H), 1.35 (m, 6H), 0.96 – 0.81 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.55 (m, 12H, 6x$C\underline{H}_2CH_3$).



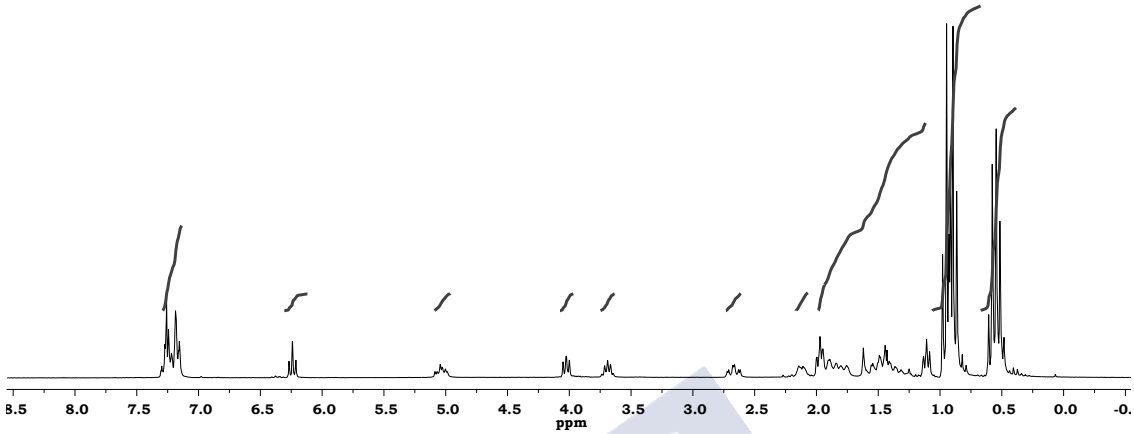
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 201.8 (CH, CHO), 173.2 (C, C=O), 143.1 (C, C_{ar}), 128.6 (CH, 2x CH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 126.7 (CH, CH_{ar}), 77.4 (CH, C-1´), 69.2 (CH, C-2), 65.0 (CH, C-4), 51.1 (CH_2, C-5), 50.0 (CH, C-2´), 42.9 (CH_2), 34.4 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.8 (CH_2), 24.8 (CH_2), 6.9 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.8 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.2 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 4.9 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$).



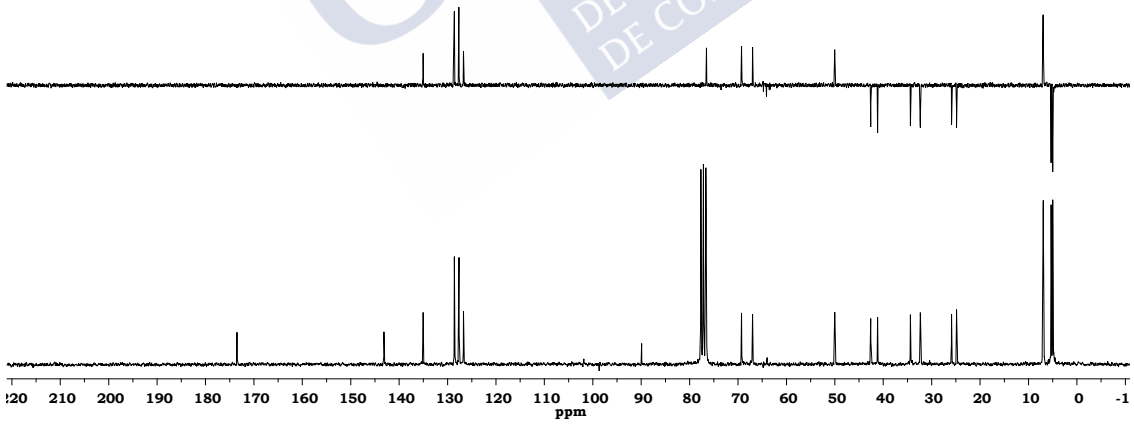


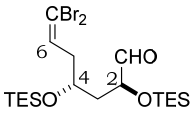
37

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 – 7.14 (m, 5H, H_{ar}), 6.24 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-6), 5.04 (td, *J* = 10.5, 4.3 Hz, 1H, H-1´), 4.03 (dd, *J* = 7.1, 5.7 Hz, 1H, H-2), 3.75 – 3.63 (m, 1H, H-4), 2.67 (td, *J* = 11.6, 3.5 Hz, 1H, H-2´), 2.13 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 1.98 – 1.12 (m, 11H), 1.06 – 0.67 (m, 18H, , 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.67 – 0.39 (m, 12H, , 6x$C\underline{H}_2CH_3$).



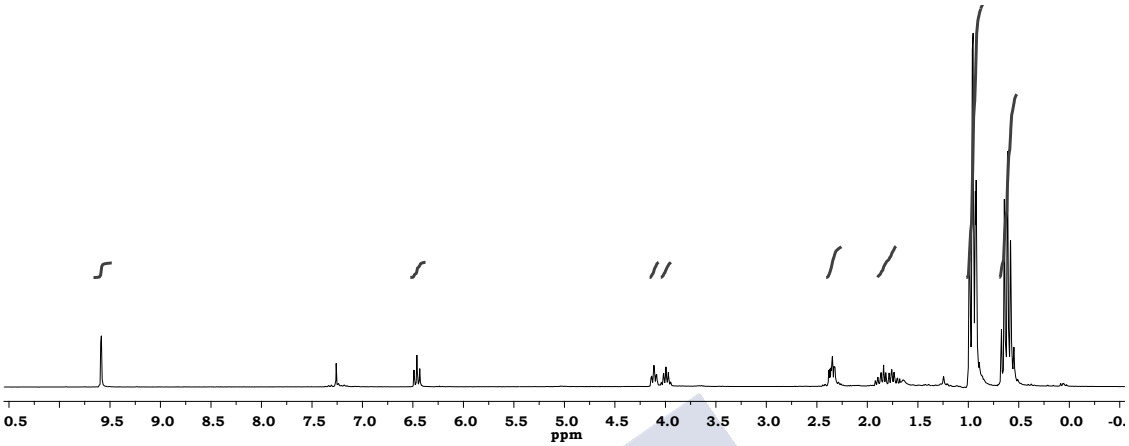
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 173.5 (C, C=O), 143.1 (C, C_{ar}), 135.1 (CH, C-6), 128.6 (CH, 2xCH_{ar}), 127.6 (CH, 2xCH_{ar}), 126.7 (CH, CH_{ar}), 89.9 (C, C-7), 76.5 (CH, C-1´), 69.3 (CH, C-2), 67.0 (CH, C-4), 50.0 (CH, C-2´), 42.6 (CH_2), 41.2 (CH_2), 34.4 (CH_2), 32.3 (CH_2), 25.9 (CH_2), 24.9 (CH_2), 7.1 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.3 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 5.01 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$).



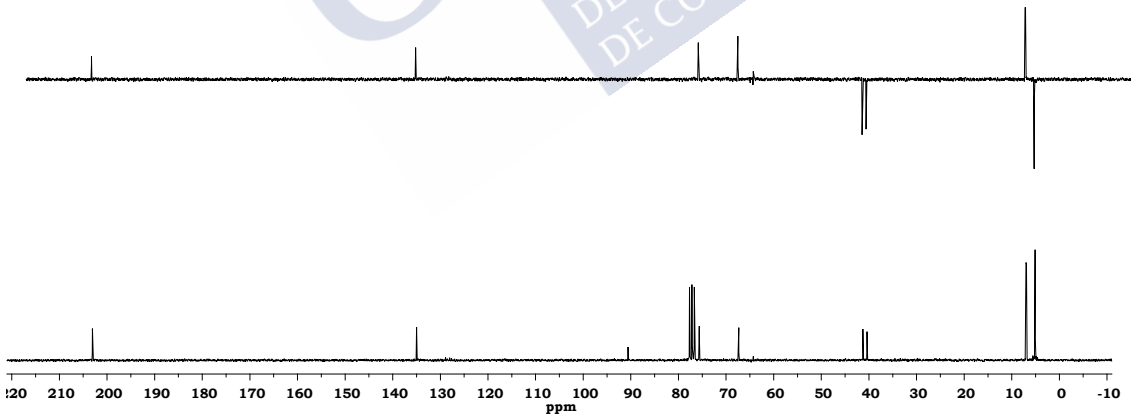


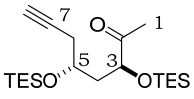
38

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 9.59 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, CHO), 6.46 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-6), 4.16 – 4.07 (m, 1H, H-2), 4.04 – 3.94 (m, 1H, H-4), 2.33 (ddd, *J* = 17.3, 10.2, 4.4 Hz, 2H, 2xH-5), 1.90 – 1.72 (m, 2H, 2xH-3), 1.02 – 0.85 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.69 – 0.52 (m, 12H, 6x$C\underline{H}_2CH_3$).



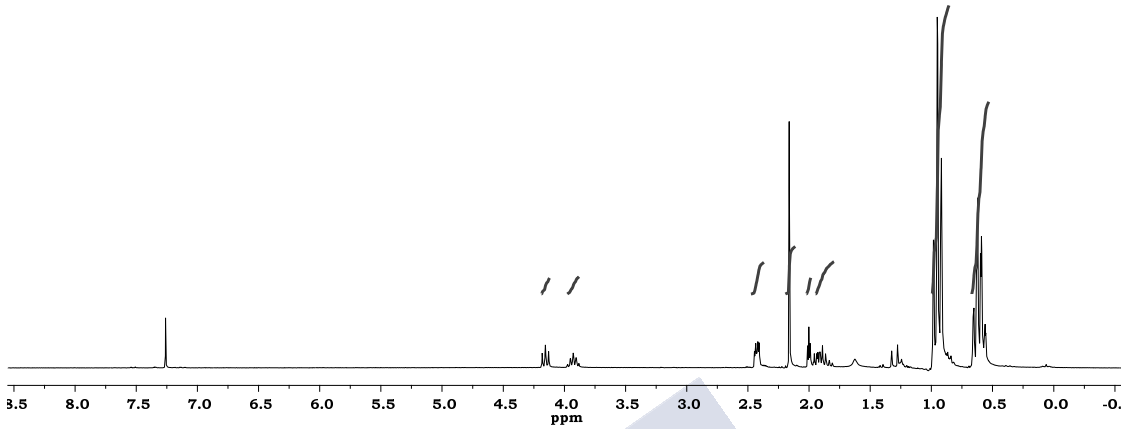
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 203.1 (CH, CHO), 135.0 (CH, C-6), 90.6 (C, C-7), 75.6 (CH, C-2), 67.3 (CH, C-4), 41.3 (CH_2), 40.4 (CH_2), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.9 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.1 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 5.1 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$).



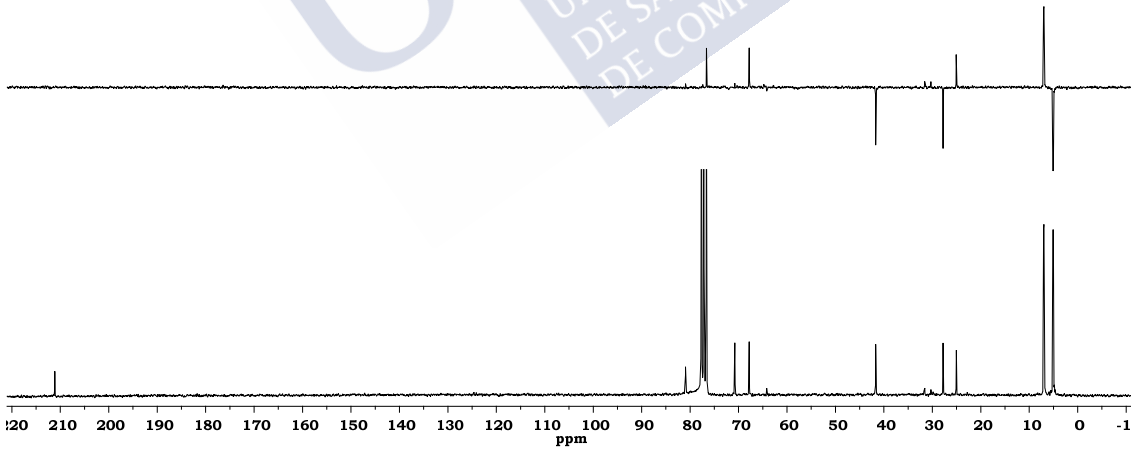


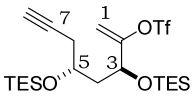
40

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 4.19 – 4.12 (m, 1H, H-3), 3.93 (dt, *J* = 11.4, 5.8 Hz, 1H, H-5), 2.42 (dt, *J* = 13.9, 5.6 Hz, 2H, H-6), 2.16 (s, 3H, H-1), 2.00 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-8), 1.89 (ddd, *J* = 20.1, 9.5, 4.0 Hz, 2H, H-4), 0.99 – 0.86 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.67 – 0.53 (m, 12H, 6x$C\underline{H}_2CH_3$).



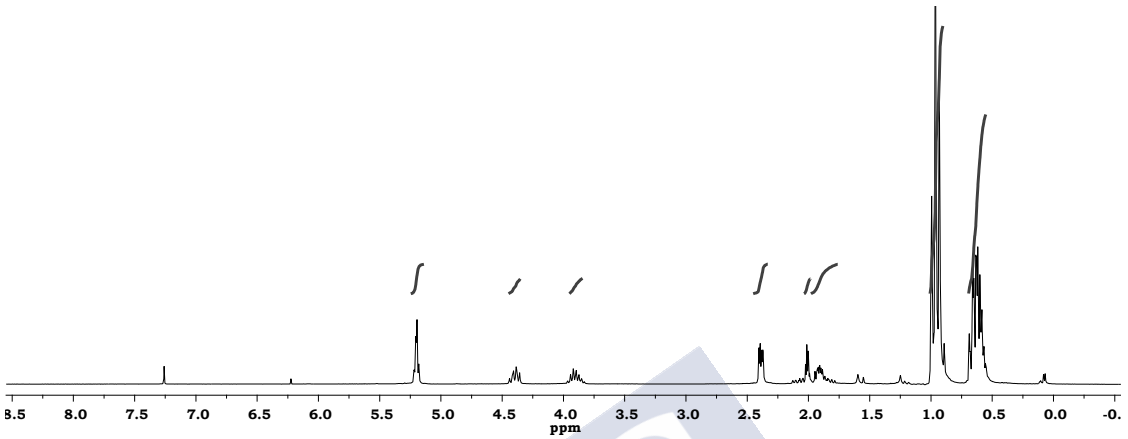
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 211.2 (C, C=O), 80.9 (CH, C-8), 77.4 (CH, C-3), 70.8 (C, C-7), 67.8 (CH, C-5), 41.7 (CH_2, C-6), 27.8 (CH_2, C-4), 25.0 (CH_3, C-1), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 7.0 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.1 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 5.0 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$).



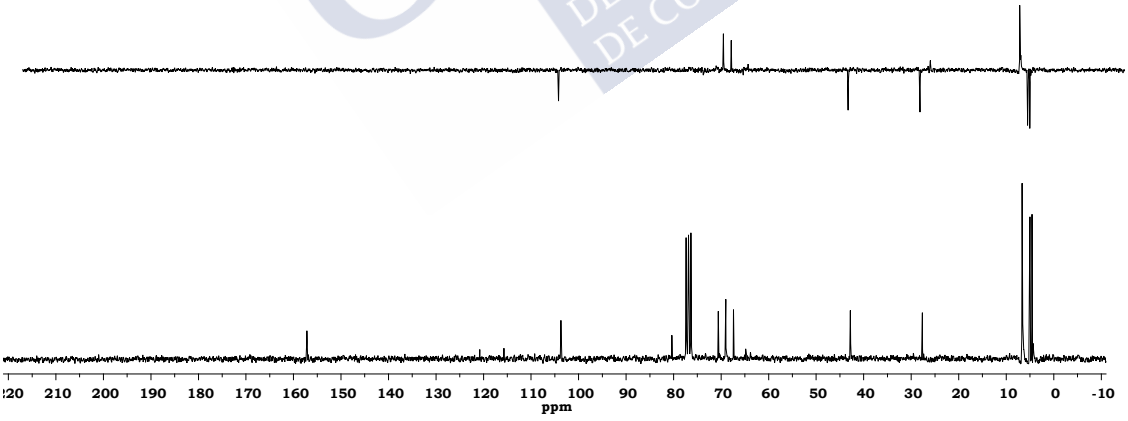


2

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 5.25 – 5.14 (m, 2H, H-1), 4.40 (dd, *J* = 13.1, 7.5 Hz, 1H, H-3), 3.90 (dt, *J* = 10.8, 5.5 Hz, 1H, H-5), 2.45 – 2.33 (m, 2H, H-6), 2.01 (t, *J* = 2.61 Hz, 1H, H-8), 1.98 – 1.76 (m, 2H, H-4), 0.96 (m, 18H, 6x$CH_2C\underline{H}_3$), 0.69 – 0.55 (m, 12H, 6x$C\underline{H}_2CH_3$).



^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 157.2 (C, C-2), 103.7 (CH_2, C-1), 80.4 (C, C-7), 70.6 (CH, C-8), 69.0 (CH, C-3), 67.4 (CH, C-5), 42.8 (CH_2, C-6), 27.7 (CH_2, C-4), 6.7 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 6.6 (CH_3, 3x$\underline{C}H_3CH_2Si$), 5.0 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$), 4.6 (CH_3, 3x$CH_3\underline{C}H_2Si$).

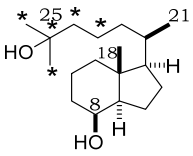


USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Espectros

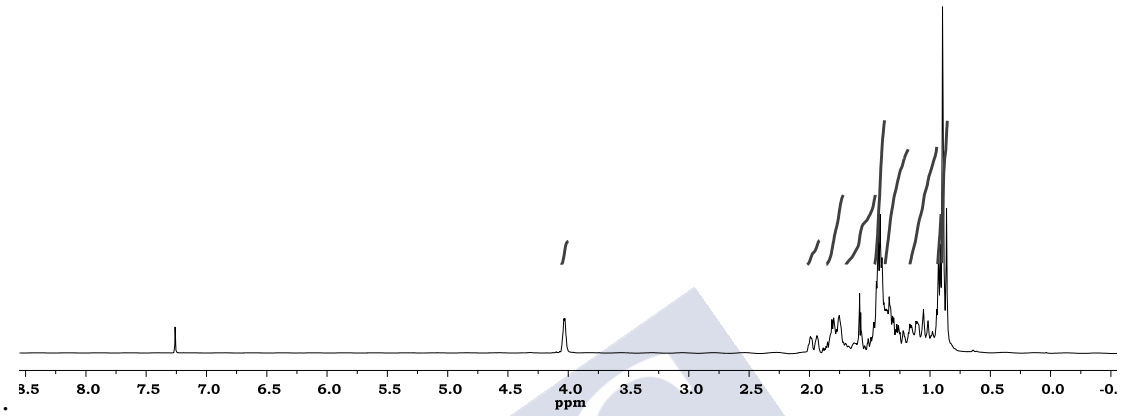
Capítulo III

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

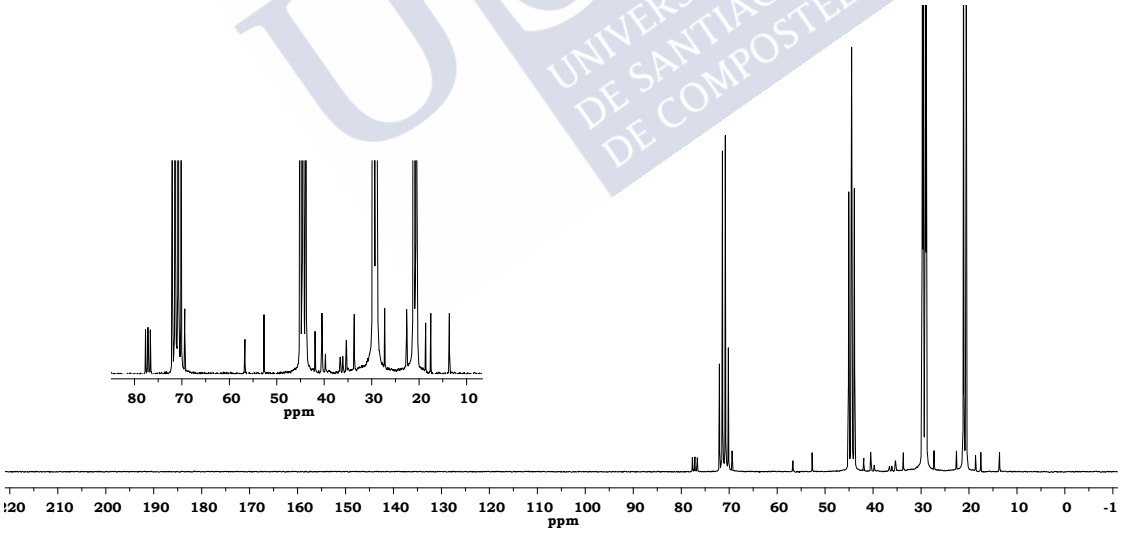


47

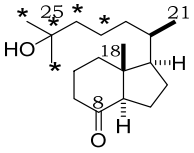
^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 4.03 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-8), 1.98 (dd, *J* = 10.2, 7.6 Hz, 1H), 1.86 – 1.72 (m, 3H), 1.69 – 1.46 (m, 3H), 1.41 (dt, *J* = 8.0, 4.0 Hz, 6H, Me-26 + Me-27), 1.37 – 1.18 (m, 5H), 1.25 – 1.18 (m, 5H), 1.16 – 0.94 (m, 5H), 0.92 (d, *J* = 3.9 Hz, 2H), 0.88 (d, *J* = 8.3 Hz, 6H, Me-18 + Me-21).



^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 71.1 (q, *J* = 39.0 Hz, C-25), 69.4 (CH, C-8), 56.6(C), 52.7(CH), 44.5 (t, *J* = 36.6 Hz, CH_2, C-24), 41.9, 40.5, 40.4, 33.7, 29.3 (dd, *J* = 39.3, 9.3 Hz, CH_2, C-26 + C-27), 27.3, 22.6, 20.9, (d, *J* = 34.9 Hz, C-23) 20.8, 18.6, 17.5, 13.6.

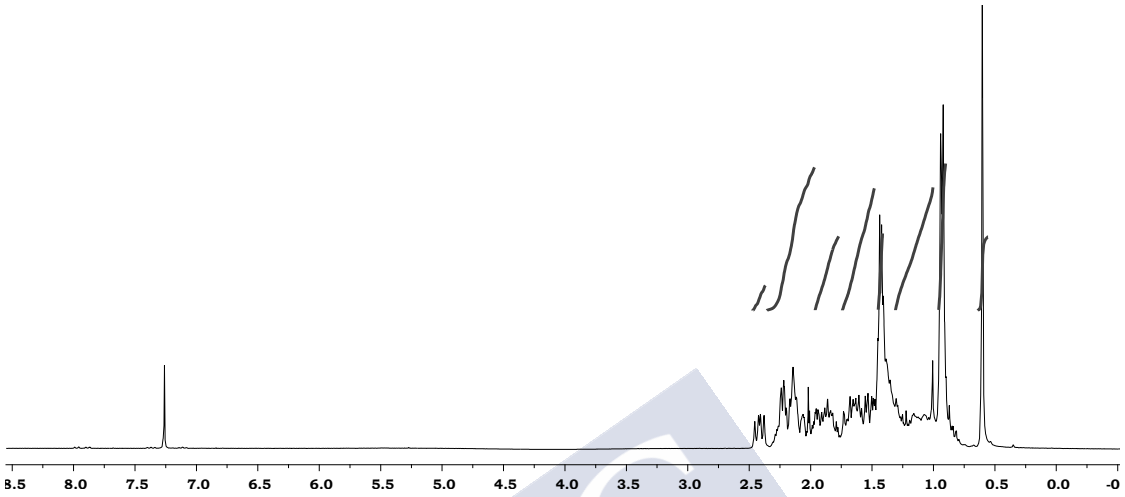


USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

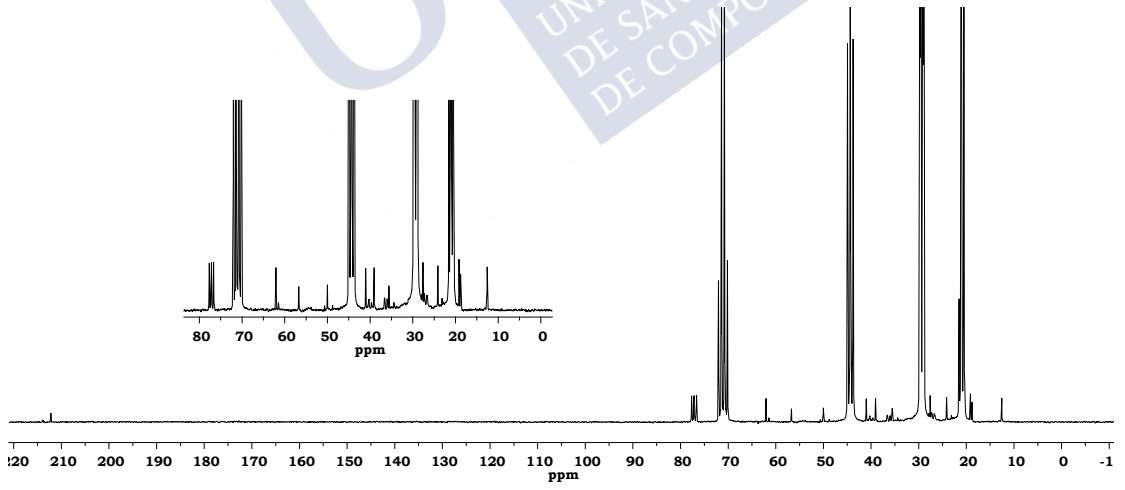


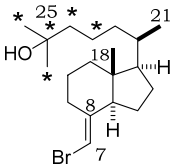
48

^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 2.42 (dd, *J* = 11.4, 7.6 Hz, 1H), 2.37 – 1.97 (m, 6H), 1.97 – 1.76 (m, 3H), 1.74 – 1.48 (m, 5H), 1.43 (d, *J* = 3.8 Hz, 3H, Me-21), 1.31 – 1.00 (m, 5H), 0.93 (d, *J* = 5.1 Hz, 6H, Me-26 + Me-27), 0.60 (s, 3H, Me-18).



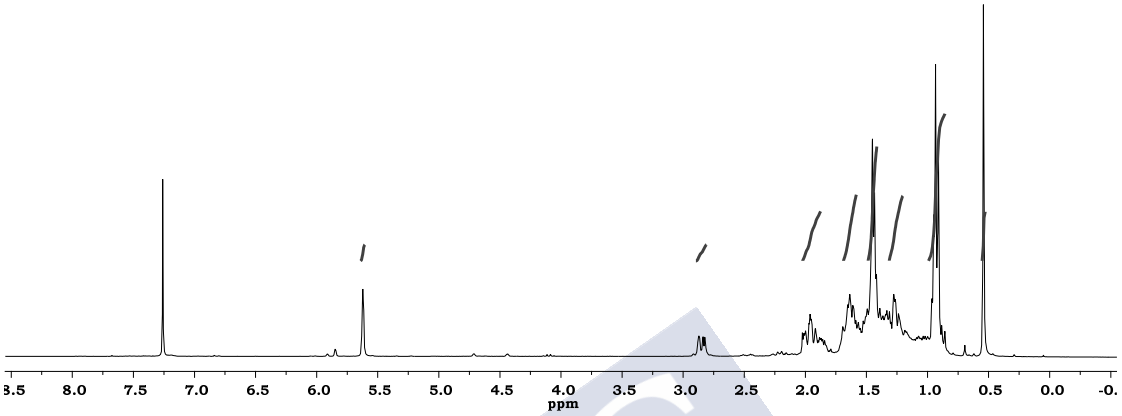
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 212.2 (C, C-8), 71.1 (q, *J* = 39.0 Hz, C, C-25), 62.1, 61.5, 56.7, 50.0, 44.4 (t, *J* = 36.7 Hz, C-24), 41.0, 39.1, 29.3 (dd, *J* = 39.3, 10.2 Hz, C-26 + C-27), 27.6, 24.1, 21.5, 20.8 (d, *J* = 34.9 Hz, C-23), 19.1, 18.8 (Me-21), 12.6 (Me-18).



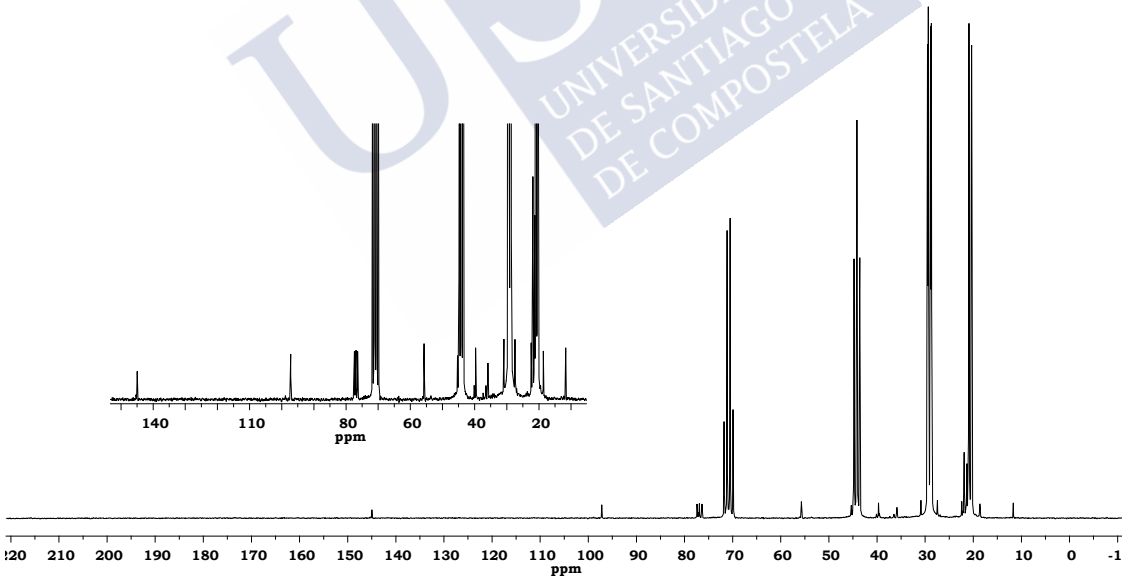


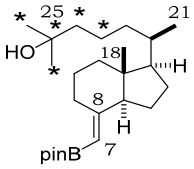
49

^{1}H-NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 5.62 (s, 1H, H-7), 2.85 (dd, *J* = 11.0, 2.4 Hz, 1H), 2.01 – 1.87 (m, 3H), 1.63 (m, 4H), 1.48 – 1.41 (m, 7H), 1.27 (m, 4H), 1.00 – 0.86 (m, 9H, Me-21 + Me-26 + Me-27), 0.54 (s, 3H, Me-18).



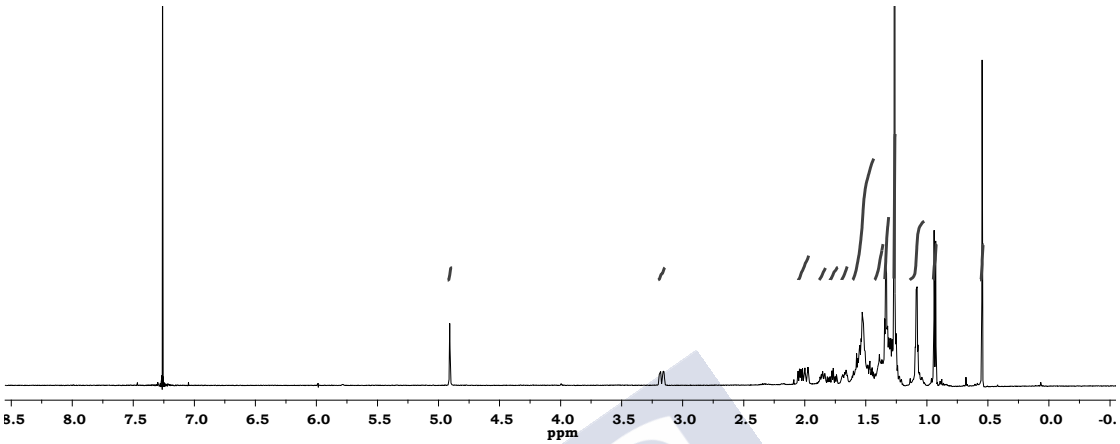
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 145.0 (C-8), 97.2 (C-7), 70.8 (q, *J* = 39.0 Hz, C-25), 55.7, 55.6 (d, *J* = 2.2 Hz), 45.3, 44.2 (t, *J* = 36.6 Hz, C-24), 40.1, 39.7, 39, 35.9 (t, *J* = 4.64),30.9, 29.1 (dd, *J* = 39.3, 9.3 Hz, C-26 + C-27), 27.4, 22.4, 20.6 (d, *J* = 34.9 Hz, C-23), 18.6 (Me-21), 11.7 (Me-18).



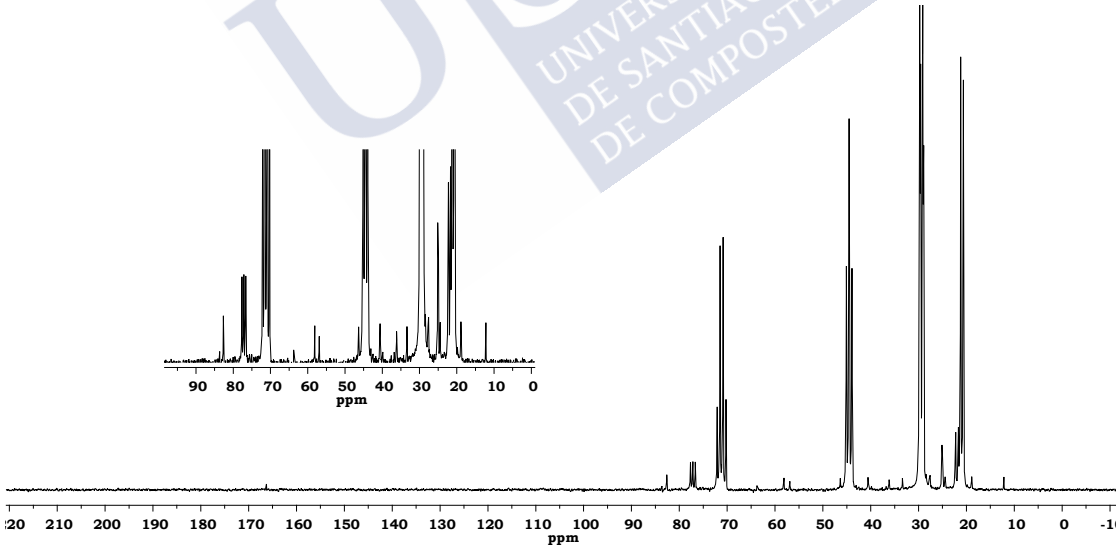


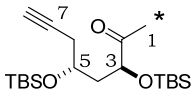
41

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 4.88 (s, 1H, H-7), 3.14 (dd, *J* = 13.4, 2.7 Hz, 1H), 2.03 – 1.94 (m, 2H), 1.85 – 1.80 (m, 1H), 1.73 (dd, *J* = 13.3, 5.6 Hz, 1H), 1.64 (dd, *J* = 11.9, 7.2 Hz, 1H), 1.59 – 1.42 (m, 10H), 1.36 (dd, *J* = 20.1, 10.1 Hz, 3H), 1.32 – 1.28 (m, 5H), 1.27 (s, 12H, 4xCH_3-COB), 1.23 (s, 6H, Me-26 + Me-27), 0.90 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18).



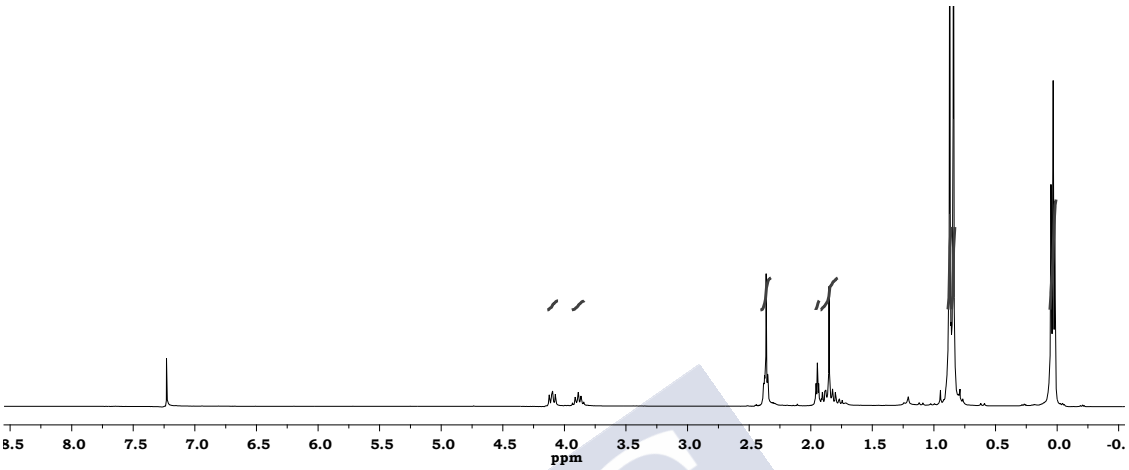
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 166.3 (C, C-8), 82.6 (C, 2xCOB), 71.2 (q, *J* = 39.0 Hz, C-25), 63.8, 58.1, 56.9, 46.4, 44.5 (t, *J* = 36.6 Hz, C-24), 40.6, 36.1, 33.4, 29.4 (dd, *J* = 39.3, 9.4 Hz, C-26 + C-27), 28.4, 27.8, 27.6, 25.1 (CH_3, 2xCH_3-COB), 25.0 (CH_3, CH_3-COB), 24.9 (CH_3, CH_3-COB), 24.5, 22.2, 20.9 (d, *J* = 34.9 Hz, C-23), 18.9 (Me-19), 12.2 (Me-18).



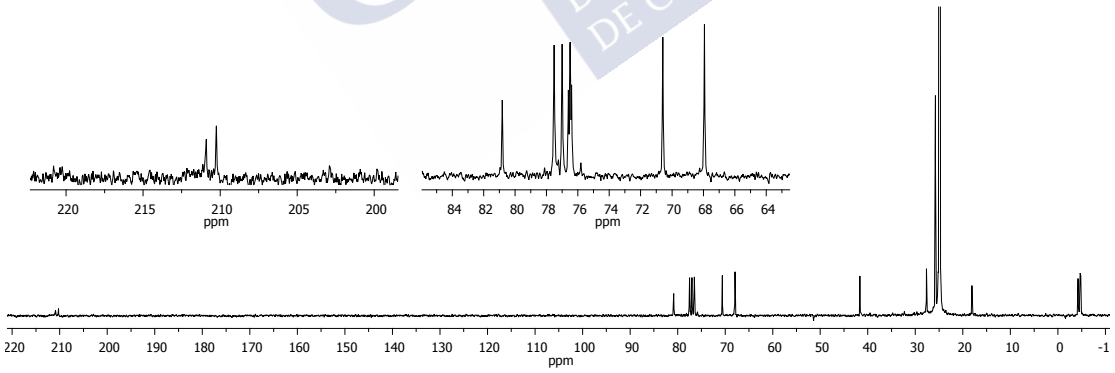


46

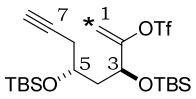
^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 4.10 (dd, *J* = 6.9, 5.6 Hz, 1H, H-3), 3.94 – 3.84 (m, 1H, H-5), 2.37 (dt, *J* = 4.8, 2.1 Hz, 2H, H-6), 2.11 (d, *J* = 127.9 Hz, 3H, H-1), 1.95 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-8), 1.92 – 1.79 (m, 2H, H-4), 0.87 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.84 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.05 (s, 3H, Me-Si), 0.03 (s, 6H, s, 2xMe-Si), 0.02 (s, 3H, Me-Si).



^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 210.6 (d, *J* = 40.9 Hz, C, C=O), 80.8 (C, C-7), 76.5 (d, *J* = 13.0 Hz. CH, C-3), 70.6 (CH, C-8), 67.9 (CH, C-5), 41.6 (CH_2), 27.6 (CH_2), 25.8 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 24.9 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 18.1 (C, 2x^{t}Bu-Si), -4.2 (CH_3, Me-Si), -4.6 (CH_3, Me-Si), -4.7 (CH_3, Me-Si), -4.8 (CH_3, Me-Si).

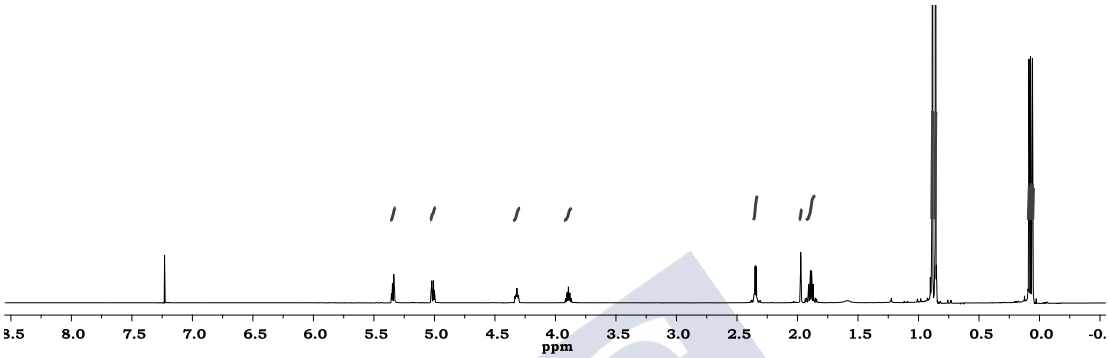


USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

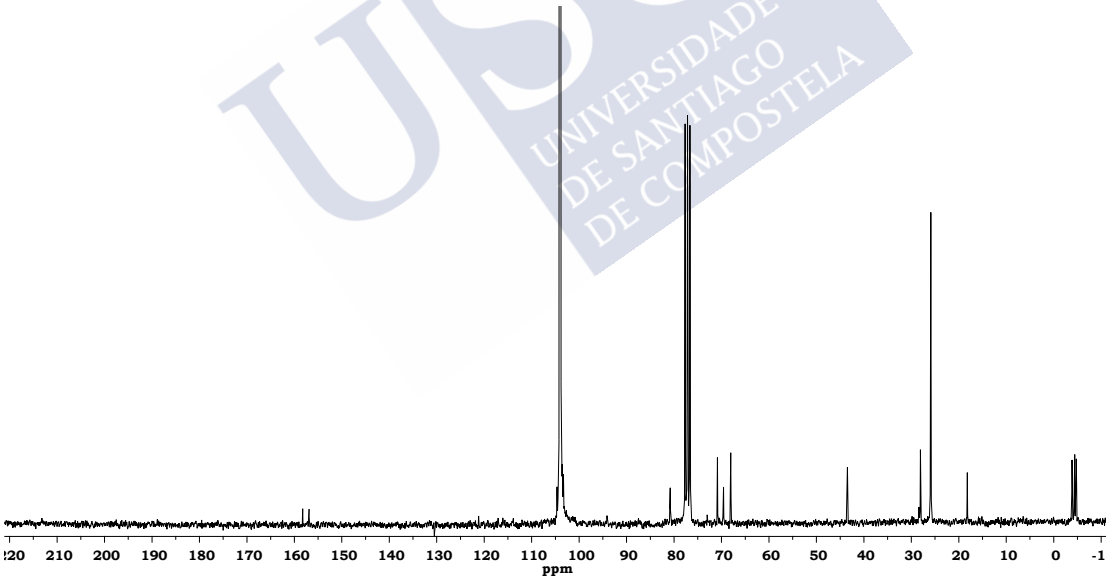


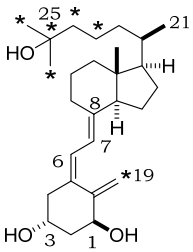
42

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5.2 (ddd, *J* = 164.2, 9.6, 3.6 Hz, 2H, H-1), 4.32 (ddd, *J* = 7.2, 4.7, 2.5 Hz, 1H, H3), 3.89 (dq, *J* = 6.5, 5.1 Hz, 1H, H-5), 2.36 – 2.33 (m, 2H), 1.97 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-8), 1.89 (tt, *J* = 6.5, 3.3 Hz, 2H), 0.09 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.07 (s, 9H, ^{t}Bu-Si), 0.06 (s, 6H, 2xMe-Si), 0.05 (s, 6H, 2xMe-Si).



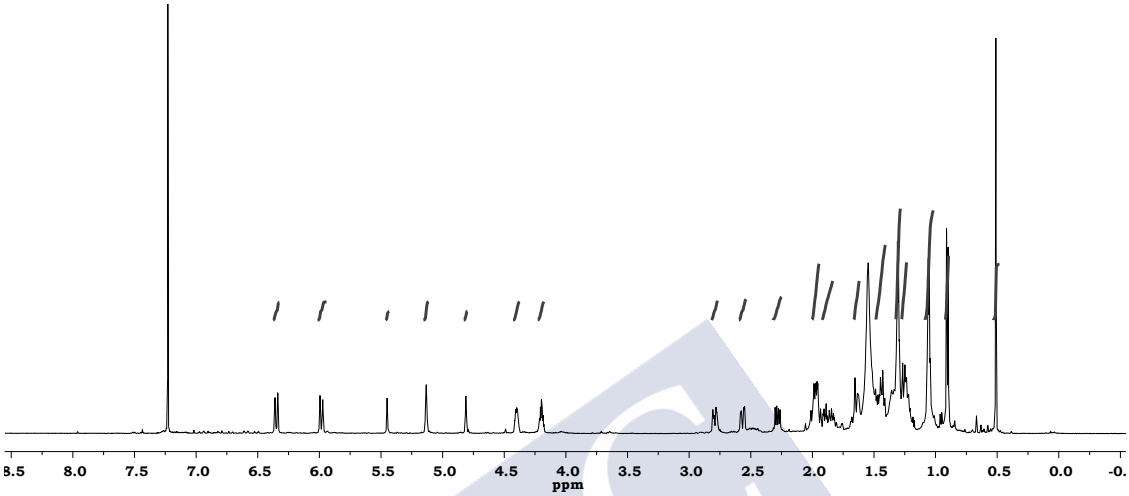
^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 157.6 (d, *J* = 84.6 Hz, C-2), 104.0 (CH_2, C-1), 80.8 (C, C-7), 70.8 (CH, C-8), 69.6 (d, *J* = 4.9 Hz, CH, C-3), 68.0 (CH, C-5), 43.5 (CH_2), 28.1 (CH_2), 25.9 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 25.8 (CH_3, ^{t}Bu-Si), 18.2 (C, ^{t}Bu-Si), -3.8 (CH_3, Me-Si), -4.3 (CH_3, Me-Si), -4.4 (CH_3, Me-Si), -4.7 (CH_3, Me-Si).



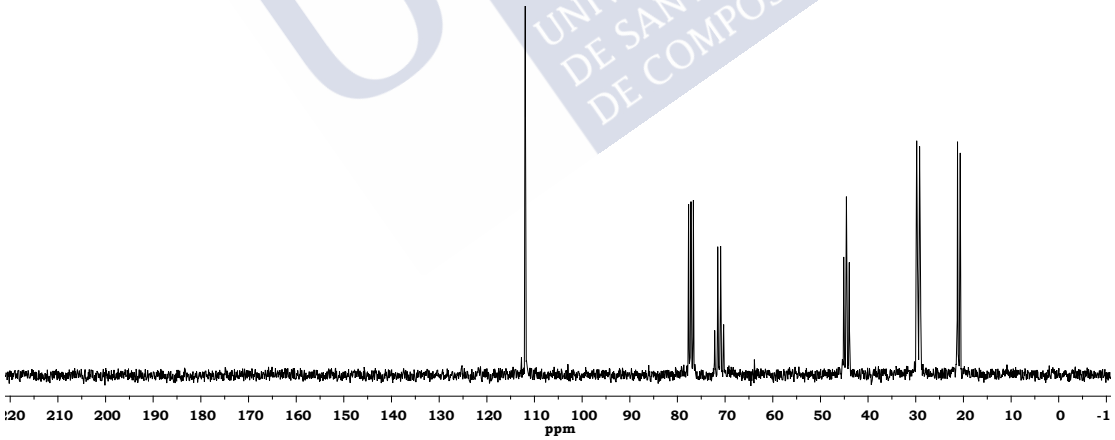


3

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.35 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, H-6), 5.98 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, H-7), 5.29 (d, *J* = 158.9 Hz, 1H, H-19), 4.97 (d, *J* = 160.7 Hz, 1H, H-19), 4.40 (dt, *J* = 7.6, 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.20 (tt, *J* = 6.8, 3.5 Hz, 1H, H-3), 2.79 (dd, *J* = 12.0, 3.9 Hz, 1H), 2.57 (dd, *J* = 13.4, 3.4 Hz, 1H), 2.28 (dd, *J* = 13.4, 6.6 Hz, 1H), 1.97 (dd, *J* = 9.9, 5.5 Hz, 3H), 1.91 – 1.84 (m, 2H), 1.66 – 1.62 (m, 2H), 1.45 (dt, *J* = 16.4, 6.5 Hz, 4H), 1.32-1.28 (m, 6H), 1.27 – 1.23 (m, 3H), 1.06 (dd, *J* = 7.4, 3.6 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.90 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.51 (s, 3H, Me-18).



^{13}C NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ 111.9 (s, C-19), 71.2 (q, *J* = 39.0 Hz, C-25), 44.5 (t, *J* = 36.6 Hz, C-24), 29.4 (dd, *J* = 39.3, 7.9 Hz, C-26 + C-27), 20.9 (d, *J* = 35.0 Hz, C-23).



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Bibliografía

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

(1) **(a)** Mellanby E. Cantag MD. Experimental investigation on rickets. *Lancet* **1919**, *196*, 407-412. **(b)** Mellanby E. Experimental rickets. Med Res. (G.B.), *Special Report Series* **1921**, *SRS-61*, 1-78.

(2) McCollum EV, Simmonds N, Becker IE, Shipley PG. Studies on experimental rickets: XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J. Biol. Chem.* **1922**, *53*, 293-312.

(3) Lund J, DeLuca HF. Biologically active metabolite of vitamin D3 from bone, liver, and blood serum. *J. Lipid Res.* **1966**, *7*, 739-744.

(4) **(a)** Norman AW. *Vitamin D: The calcium homeostatic steroid hormone*. Academic Press: New York, **1979**. **(b)** Chen TC, Castillo L, Korycka-Dahl M, DeLuca HF. Role of vitamin D metabolites in phosphate transport of rat intestine. *J. Nutr.* **1974**, *104*, 1056-1060.

(5) **(a)** DeLuca HF, Zierold C. Mechanisms and functions of vitamin D. *Physiol. Rev.* **1998**, *56*, 54-75. **(b)** Bouillon R, Okamura WH, Norman AW. Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. *Endocr. Rev.* **1995**, *16*, 200-257.

(6) Calberg C, Mouriño A. New vitamin D receptor ligands. *Expert Opin. Ther. Patents* **2003**, *13*, 761-722.

(7) **(a)** Definitive rules of nomenclature of steroids. *Pure Appl. Chem.* **1972**, *31*, 283-322. **(b)** Nomenclature of vitamin D. *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 1511-1516.

(8) Zhu GD, Okamura WH. Synthesis of vitamin D. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1877-1952.

(9) Andersen R, Brot C, Ovensen L. Towards a strategy for optimal vitamin D fortification. *NMCD* **2001**, *11*, 74-77.

(10) **(a)** Holick MF, Schoes HK, DeLuca HF, Gray RW, Boyle IT, Suda T. Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry* **1971**, *10*, 2799-2805. **(b)** Holick MF, Tian XQ, Allen M. Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D_3 in the skin of poikilothermic animals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA **1995**, *92*, 3124-3126.

(11) **(a)** Blunt JW, DeLuca HF, Schnoes HK. 25-Hydroxycholecalciferol. A biologically active metabolite of vitamin D_2. *Biochemistry* **1969**, *35*, 182-185. **(b)** Horsting M, DeLuca HF. In vitro production of 25-hydroxycholecalciferol. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1969**, *36*, 251-256.

(12) Masumoto O, Ohyama Y, Okuda K. Purification and characterization of vitamin D 25–hydroxylase from rat liver mitocondria. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 14256-14260.

(13) Dean DD, Boyan BD, Schwart Z, Muniz OE, Carreno MR, Maeda S, Howell DS. Effect of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and 24*R*,25-dihydroxyvitamin D_3 on metalloproteinase activity and cell maturation in growth plate cartilage *in vivo*. *Endocrine* **2001**, *14*, 311-323.

(14) **(a)** Tanaka Y, Castillo L, DeLuca HF, Ikekawa N. The 24-hydroxilation of 1,25-dihydoxyvitamin D_3. *J. Biol. Chem.* **1977**, *252*, 1421-1424. **(b)** Tanaka Y, Castillo L, De Luca HF, Ikekawa N. On the physiological role of 1,24,25-trihydroxyvitamin D_3. *Miner. Electroyte Metab.* **1978**, *1*, 198-207.

(15) Ponchon G, DeLuca HF. Metabolism nd biologiacal activity of vitamin D. *Calc. Tiss. Res.* **1970**, *4*, 43-44.

(16) **(a)** Vitamin D. Feldman D, Glorieoux FH, Pike JW, (Eds.). Academic Press: New York, **2005**. **(b)** Dusso AS, Brown AJ, Slatopolski E. Vitamin D. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* **2005**, *289*, F8-F28.

(17) **(a)** Ettinger RA, DeLuca HF. The vitamin D endocrine system and its therapeutical potential. *Adv. Drug Res.* **1996**, *28*, 269-312. **(b)** Stein MS, Wark DL. An update on the therapeutic potential of the vitamin D analogues. *Expert. Opin. Invest. Drugs.* **2003**, *12*, 825-840. **(c)** Debb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 684-700.

(18) Calberg C, Molnar F. Current status of vitamin D signaling and its therapeutic applications. *Curr. Top. in Med. Chem.* **2012**, *12*, 528-547.

(19) White P, Cooke N. The multifunctional properties and characteristics of vitamin D binding protein. *Trends Endocr. Metab.* **2000**, *16*, 320-327.

(20) Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **2005**, *289*, F8-28.

(21) Verboven C, Rabijns A, De Maeyer M, Van Baelen H, Bouillon R, Ranter C. A structural basis for the unique binding features of the human vitamin D-binding protein. *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 131-136.

(22) **(a)** Las imágenes de estructuras cristalinas presentes en esta memoria se obtuvieron de la base de datos de estructuras cristalográficas RCSB PDB, www.rcsb.org. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliand G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 235-242. **(b)** Las representaciones tridimensionales de moléculas y proteínas se realizaron empleando el software PyMOL Molecular Graphics System, Versión 1.8 Schrödinger, LLC.

(23) Kawata M. Subcellular steroid/nuclear receptor dynamics. *Arch. Histol. Cytol.* **2001**, *64*, 353-368.

(24) **(a)** Norman AW, Mizwicki MT, Norman DP. Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2004**, *3*, 27-41. **(b)** Norman AW. Vitamin D receptor: New assignments for an already busy receptor. *Endocrinology.* **2006**, *147*, 5542–5548. **(c)** Zanello LP, Norman AW. Stimulation by 1α,25$(OH)_2$-vitaminD_3 of whole cell chloride currents in osteoblastic ROS 17/2.8 cells: a structure-function study. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 22617–22622.

(25) Huhtakangas JA, Olivera CJ, Bishop JE, Zanello LP, Norman AW. The vitamin D receptor is present in caveolae-enriched plasma membranes and binds 1α,25$(OH)_2$-vitamin D_3 in vivo and in vitro. *Mol. Endocrinol.* **2004**, *18*, *2660–2671*.

(26) Norman AW, Okamura WH, Hammond MW, Bishop JE, Dormanen MC, Bouillon R, Van Baelen H, Ridall AL, Daane E, Khoury R, Farach-Carson MC. 1997 Comparison of 6-s-*cis* and 6-s-*trans* locked analogs of 1α,25$(OH)_2$-vitamin D_3 indicates that the 6-s-*cis* conformation is preferred for rapid nongenomic biological responses and that neither 6-s-*cis* nor 6-s-*trans* locked analogs are preferred for genomic biological responses. *Mol. Endocrinol.* **1997**, *11*, 1518–1531.

(**27**) **(a)** Nguyen TM, Lieberherr M, Fritsch J, Guillozo H, Alvarez ML, Fitouri Z, Jehan F, Garabedian M. The rapid effects of 1,25-$(OH)_2D_3$ require the VDR and influence 24-hydroxylate activity: studies in human skin fibroblasts bearing vitamin D receptor mutations. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 7591–7597. **(b)** Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol–vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci. Signal.* **2009**, *2*, 1-14.

(28) Mizwicki MT, Keidel D, Bula CM, Bishop JE, Zanello LP, Wurtz JM, Moras D, Norman AW. Identification of an alternative ligand-binding pocket in the nuclear vitamin D receptor and its functional importance in 1α,25$(OH)_2$-vitamin D_3 signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101*, 12876-12881.

(29) Evans RM, The steroid and thyroid hormone suprafamily. *Science.* **1988**, *240*, 889-895.

(30) Jurutka PW, Whitfield GK, Hsieh JC, Thompson PD, Haussler CA, Haussler MR. Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **2001**, *2*, 203-216.

(31) Shaffer PL, Gewirth DT. Structural analysis of RXR-VDR interactions on DR3 DNA. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2004**, *89-90*, 215-219.

(32) Rochel N, Wurtz JM, Mitschler BK, Moras D. The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. *Mol. Cell.* **2000**, *5*, 173-179.

(33) Yamada S, Shimizu MN, Yamamoto K. Structure-function relationships of vitamin D including ligand recognition by the vitamin D receptor. *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 89-115.

(34) Rochel N, Moras D. Ligand binding domain of vitamin D receptor. *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, *6*, 1229-1241.

(35) Dai H, Posner GH, Synthetic approaches to vitamin D. *Synthesis* **1994**, *12*, 1383-1398.

(36) **(a)** Lythgoe B. Synthetic approaches to vitamin D and its relatives. *Chem. Soc. Rev.* **1980**, *9*, 449-475. **(b)** Lythgoe B, Moran T, Nambudiry M, Ruston S. Allylic phosphine oxides as precursors of dienes of defined geometry: synthesis of 3-deoxyvitamin D_2. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *44*, 3863-3866 **(c)** Kocienski P, Lythgoe B, Waterhouse I. The influence of chain-branching on the steric outcome of some olefin forming reactions. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1980**, 1045-1050.

(37) Kabat MM, Radinov R. The practical synthesis of vitamin D analogs: a challenge for process research. *Curr. Opin Drug. Discov. Devel.* **2001**, *4*, 808-833.

(38) Schering Aktiengesellshaft: WO00107405 (**2000**).

(39) Andrews DR, Barton D, Hesse RH. Synthesis of 25-hydroxy-and 1α,25-dihydroxy-vitamin D_3 from vitamin D_2. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4819-4828.

(40) Calverley MJ. Synthesis of MC903, a biologically active vitamin D metabolite analogue. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *43*, 4609-4619.

(41) Hammond ML, Mouriño A, Okamura WH. Sigmatropic rearrangement of vinylallenes: a novel route to the 1-hydroxivitamin D system. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4907-4908.

(42) Dixon J. Littlewood PS, Lythgoe B, Saksena AK. Total synthesis of Precalciferol$_3$. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1970**, *0*, 993-994.

(43) Mascareñas JL, Sarandeses LA, Castedo L, Mouriño A. Palladium catalyzed coupling of vinyl triflates with enynes and its application to the synthesis of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3. *Tetrahedron* **1991**, *20*, 3485-3489.

(44) Okamura WH, Aurrecoechea JM, Gibbs RA, Norman AW. Synthesis and biological activity of 9,10-dehydrovitamin D_3 analogues: stereoselective preparation of 6β-vitamin D vinylallenes and a concise enynol synthesis for preparing the A-ring. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4072-4083.

(45) Ono K, Yoshida A, Saito N, Fujishima T, Honzawa S, Suhara Y, Kishimoto S, Sugiura T, Waku K, Takayama H, Kittaka A. Efficient synthesis of 2-modified 1α,25-dihydroxy-19-nor-vitamin D_3 with Julia olefination: high potency in induction of differentiation on HL-60 cells. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7407-7415.

(46) Trost BM, Dumas J, Villa M. New strategies for the synthesis of vitamin D metabolites via Pd-catalyzed reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9836-9845.

(47) Gogoi P, Sigüeiro R, Eduardo S, Mouriño A. An expeditious route to 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by an aqueous tandem palladium catalyzed A-ring closure and Suzuki coupling to the C/D unit. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1432-1435.

(48) Norman, AW, Koeffler HP, Bishop JE, Collins ED, Sergeev, IN, Zhou LX, Nemere, I, Zhou, J, Henry HL, Okamura WH. Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system for 1,25$(OH)_2D_3$ analogs. Vitamin D: Gene regulation, struc ture-function analysis and clinical application. Walter de Gruyter, **1991**, 146-154.

(49) Norman AW, Bouillon R, Farach-Carson MC, Bishop JE, Zhou LX, Nemere I, Zhao J, Muralidharan KR, Okamura WH. Demonstration that 1β,25-dihydroxyvitamin D_3 is an antagonist of the nongenomic but not genomic biological responses and profile of the three A-ring diasteromers of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 20022-20030.

(50) Muralidharan KR, de Lera AR, Issaef SD, Norman AW, Okamura WH. Studies on the A-ring diastereomers of l,25-dihydroxyvitamin D_3, *J. Org. Chem.* **1993** *58* 1895–1899.

(51) Hanzawa T, Koyama A, Nakata K, Okamoto S, Sato F. New convergent synthesis of 1, 25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogues by Suzuki–Miyaura coupling between A-ring and CD-ring parts, *J. Org. Chem.* **2003**, *68,* 9767– 9772. **(52)** Lythgoe B, Roberts DA, Waterhouse I. Calciferol and its relatives. Part 20. A synthesis of Windaus and Grundmann's C19 ketone, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1,* **1977**, *0*, 2608–2612.

(53) Mouriño A, Sardina J. Studies on the synthesis of side-chain hydroxylated metabolites of vitamin D_2. Stereocontrolled synthesis of 25-hydroxyvitamin D_2. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1264-1269.

(54) Garegg PJ, Samuelson B. Novel reagent system for converting a hydroxy-group into an iodo-group in carbohydrates with inversión of configuration. *Chem. Comm.* **1979**, 978-980.

(55) Pérez-Sestelo J, Mascareñas JL, Castedo L, Mouriño A. Ultrasonically induced conjugate addition of iodides to electron-deficient olefins and its application to the synthesis of side-chain analogs of the hormone 1α,25-dihydroxyvitamin D_3. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 118-123.

(56) **(a)** Ishiyama T, Murata M, Miyaura N. Palladium(0)-catalyzed cross-coupling reaction of alkoxydiboron with haloarenes: A direct procedure for arylboronic esters. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508 –7510. **(b)** Ishiyama T, Ishida K, Miyaura N. Synthesis of pinacol arylboronates via cross-coupling reaction of bis(pinacolato)diboron with chloroarenes catalyzed by palladium (0)-tricyclohexylphosphine complexes. *Tetrahedron* **2001**, 57, **9813-9816.**

(57) Luche JL. Lanthanides in organic chemistry. Selective 1,2 reductions of conjugated ketones. *J Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2226-2227.

(58) Sharpless KB, Michaelson RC. High stereo and regioselectivities in the transition metal catalyzed epoxidations of olefinic alcohols by tert-buthyl hydroperoxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *5*, 6139-6137.

(59) Daniewski AR, Garofalo LM, Hutching SD, Kabat MM, Liu W, Okabe M, Radinov R. Efficient synthesis of the A-ring phosphine oxide building block useful for 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and analogues. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1580-1587.

(60) Schreiber SL, Liew WF. Criegee rearrangement of α-alkoxy hydroperoxides a synthesis of esters and lactones that complements the Baeyer-Villiger oxidation of ketones. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *23*. 2363-2366.

(61) Corey EJ, Fuchs PL. Synthetic method for conversion of formyl groups into ethynyl groups. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3769-3772.

(62) Comins DL, Dehghani A. Pyridine derived triflating reagents: an improved preparation of vinyl triflates from metallo enolates. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6299-6302.

(63) Miyaura N, Suzuki A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.

(64) Bricogne G, Blanc E, Brandl M, Flensburg C, Keller P, Paciorek W, Roversi P, Sharff A, Smart OS, Vonrhein C, Womack WO. BUSTER version 2.11.2. Cambridge, United Kingdom: Global Phasing Ltd **2011**.

(65) PHENIX: building new software for automated crystallographic structure determination. Adams PD, Grosse-Kunstleve RW, Hung LW, Ioerger TR, McCoy AJ, Moriarty NW, Read RJ, Sacchettini JC, Sauter NK, Terwilliger TC. *Acta Cryst.*, **2002**, *58*, 1948-1954.

(66) Emsley P, Lohkamp B, Scott WG. Features and development of Coot. *Acta. Cryst.* **2010**, *66*, 486-501.

(67) López-Pérez B, Maestro MA, Mouriño A. Total synthesis of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 (calcitriol) through a Si-assisted allylic substitution. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 8144-8147.

(68) Mouriño A, Torneiro M, Vitale C, Fernández S, Pérez-Sestelo J. Anné S, Gregorio C. Efficient and versatile synthesis of A-ring precursors of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 and analogues. Application to the synthesis of Lythgoe-Roche phosphine oxide. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4713-4716.

(69) Gonzalez J, Aurigemma C, Truesdale L, Denmark SE, Tymonko SA, Cottell JJ, Gomez L. Synthesis of (+)-(1*S*,2*R*)- and (-)-(1*R*,2*S*)-*trans*-2-phenylcyclohexanol via Sharpless asymmetric dihydroxylation (AD): [Cyclohexanol,2-phenyl-, (1*S*-*trans*)- and cyclohexanol, 2-phenyl-, (1*R*-*trans*)-]. *Org. Synth.* **2002**, *79*, 93-98.

(70) Pappo R, Allen DS, Lemieux RU, Johnson WS. Osmium tetroxide-catalyzed periodate oxidation of olefinic Bonds. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478-479.

(71) **(a)** Mikami K, Loh TP, Nakai T. Diastereocontrol via lewis acid-promoted ene reaction with glyoxylates and its application to stereocontrolled synthesis of a 22*R*-hydroxy-23-carboxylate steroid side chain. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *48*, 6305-6308. **(b)** Whitesell JK, Lawrence RM, Chen HH. Auxiliary structure and asymmetric induction in the ene reactions of chiral glyoxylates. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4779-4784.

(72) **(a)** Saksena AK, Mangiaracina P. Recent studies on vertrum alkaloids: a new reaction of sodium triacetoxyborhydryde [$NaBH(OAc)_3$]. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 273-276. **(b)** Evans DA, Chapman KT. The directed reduction of β-hydroxy ketones employing $Me_4NHB(OAc)_3$. *Tettrahedron Lett.* **1986**, *27*, 5939-5942.

(73) Webb D, Jamison TF. Diisobutylaluminum hydride reductions revitalized: A fast, robust, and selective continuous flow system for aldehyde synthesis. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 568-571.

(74) Canales A, Angulo J, Ojeda R, Bruix M, Fayos R, Lozano R, Giménez-Gallego G, Martín-Lomas M, Nieto PM, Jiménez-Barbero J. Conformational flexibility of a synthetic glycosylaminoglycan bound to a fibroblast growth factor. FGF-1 recognizes both the (1)C(4) and (2)S(O) conformations of a bioactive heparin-like hexasaccharide. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5778-5779.

(75) Nestor G, Anderson T, Oscarson S, Gronenborn AM. Exploiting uniformly ^{13}C-labeled carbohydrates for probing carbohydrate-protein interactions by NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 6210-6216.

(76) De Graaf RA, Chowdhurry GMI, Behar KL. Quantification of high-resolution ^1H[^{13}C] NMR spectra from rat brain extracts. *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 5032−5038.

(77) Eguchi T, Kakinuma K, Ikekawa N. Synthesis of 1α-[19-^{13}C]-hydroxyvitamin D_3 and ^{13}C NMR analysis of the conformational equilibrium of the A-ring. *Bioorg. Chem.* **1991**, *19*, 327-332.

(78) Okamura WH, Zhu GD, Hill DK, Thomas RJ, Ringe K, Borchardt DB, Norman AW, Mueller LJ. Synthesis and NMR studies of ^{13}C-labeled vitamin D metabolites. *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 1637-1650.

(79) Brown HC. Organic synthesis via boranes. *John Wiley & Sons*. New York, 1975.

(80) Burchat AF, Chong JM, Nielsen N. Titration of alkyllithiums with a simple reagent to a blue endpoint. *J. Organomet. Chem.* **2007**, *542*, 284-283.

(81) Corey EJ, Schmidt G. Useful procedures for the oxidation of alcohols involving pyridinium dichromate in approtic media. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 399-402.

(82) Vassilikogiannakis G, Hatzimarinaki M, Orfanopoulos M. Mechanism of the [2 + 2] photocycloaddition of fullerene C60 with styrenes. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8180-8187.

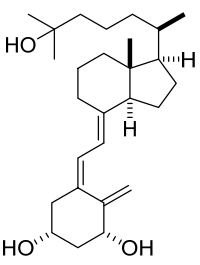
(83) Comins DL, Dehghani A, Foti, CJ, Joseph, SP. Pyridine-derived triflating reagents: N -(2-pyridyl)triflimide and N -(5-chloro-2-pyridyl)triflimide. *Organic Syntheses* **1997**, *74*, 77-83.

(84) Still WC, Khan MY, Mitra A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolutions. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

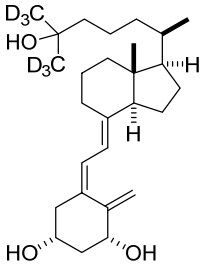
(85) Coffey S. Rodd's chemistry of carbon compounds. Vol II. Part D*: Steroids*. Elsevier. London **1970**.

Índice de estructuras

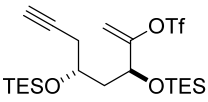
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA



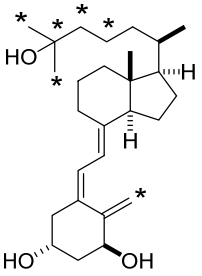
1a



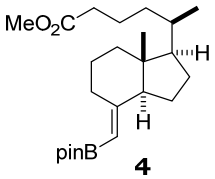
1b



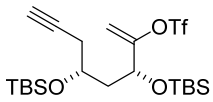
2



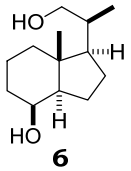
3



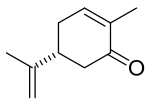
4



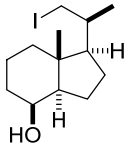
5



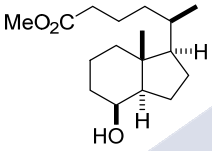
6



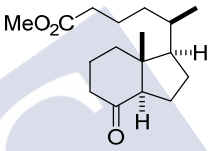
(*R*)-carvona



7



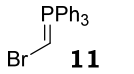
8



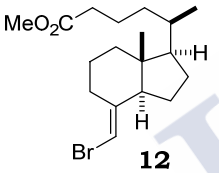
9

$(Ph_3PCH_2Br)Br$

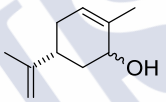
10



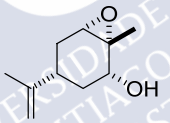
11



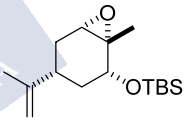
12



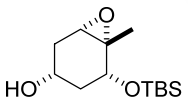
13



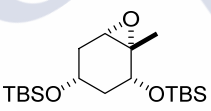
14



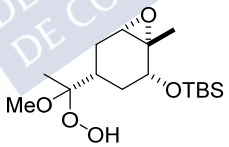
15



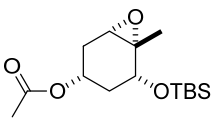
16



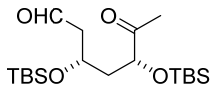
17



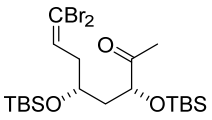
18



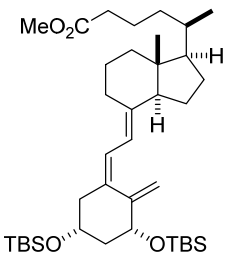
19



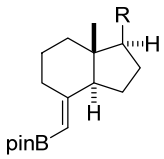
20



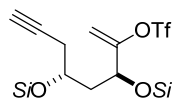
21



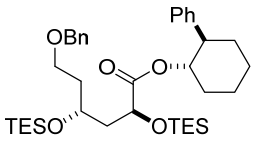
22



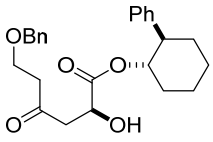
23



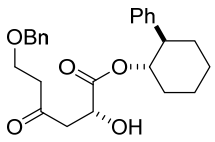
24



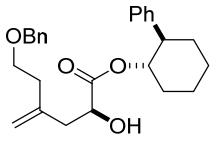
25



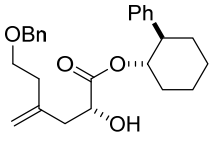
26a



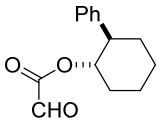
26b



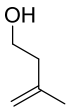
27a



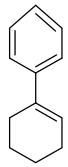
27b



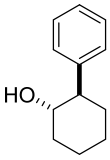
28



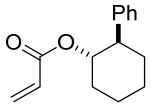
29



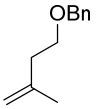
30



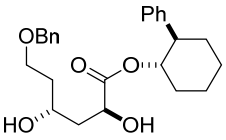
31



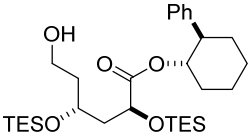
32



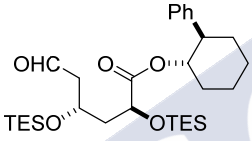
33



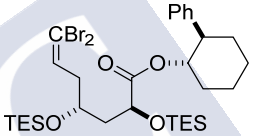
34



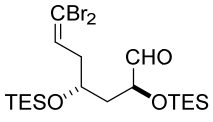
35



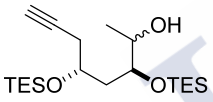
36



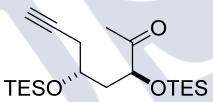
37



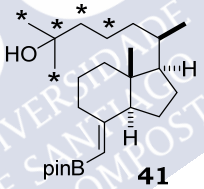
38



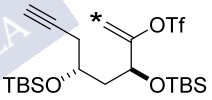
39



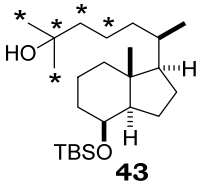
40



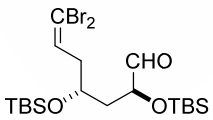
41



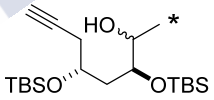
42



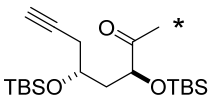
43



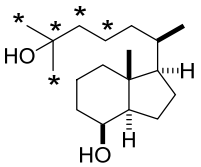
44



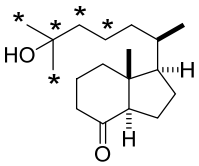
45



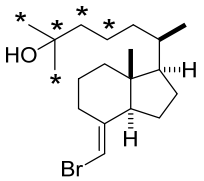
46



47



48



49