



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE UN INTERMEDIO SINTÉTICO DEL
PRODUCTO NATURAL ÁCIDO PINOSÍLVICO**

(Química Orgánica)

TRABAJO FIN DE GRADO EN QUÍMICA

Susana Méndez Espín

Oviedo, Julio 2023

Índice

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	0
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1 ESTILBENOIDES	2
1.2 INTERÉS DE LOS ESTILBENOIDES	5
2. OBJETIVO	7
3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	8
3.1. ANÁLISIS RETROSINTÉTICO.....	8
3.2. SÍNTESIS DE 5,7-DIHIROXI-2,2-DIMETIL-4H-BENZO[D][1,3]-DIOXIN-4-ONA (4)	9
3.3. SÍNTESIS DE 5- HIDROXI-2,2-DIMETIL-7-(METOXIMETOXI)-4H-BENZO[D][1,3]DIOXIN-4-ONA (3)	12
3.4. SÍNTESIS DE 2,2-DIMETIL-7-(METOXIMETOXI)-4-OXO-4H-BENZO[D][1,3]-DIOXIN-5-ILO TRIFLUOROMETANOSULFONATO (2A)	15
3.5. SÍNTESIS DE (E)-5-ESTIRIL-2,2-DIMETIL-7-(METOXIMETOXI)-4H-BENZO[D][1,3]-DIOXIN-4-ONA (1)	18
4. PARTE EXPERIMENTAL	22
4.1. GENERALIDADES.....	22
4.1.1. <i>Condiciones de trabajo</i>	22
4.1.2. <i>Disolventes y reactivos</i>	22
4.1.3. <i>Técnicas instrumentales</i>	22
4.2. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	23
4.2.1. <i>Síntesis de 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (4)</i>	23
4.2.2. <i>Síntesis de 5-hidroxi-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (3)</i>	24
4.2.3. <i>Síntesis de 2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-il (2a)</i>	25
4.2.4. <i>Síntesis de (E)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (1)</i>	26
5. CONCLUSIONES	27
6. BIBLIOGRAFÍA	28
7. ANEXOS	29
7.1. ESPECTROS DE 5,7-DIHIROXI-2,2-DIMETIL-4H-BENZO[D][1,3]-DIOXIN-4-ONA (4) PURIFICADO.....	29
7.2. ESPECTROS DE 2,2-DIMETIL-7-(METOXIMETOXI)-4-OXO-4H-BENZO[D][1,3]-DIOXIN-5-ILO TRIFLUOROMETANOSULFONATO (2A) PURIFICADO.....	31
7.3. ESPECTROS DE 2,2-DIMETIL-7-(METOXIMETOXI)-4-OXO-4H-BENZO[D][1,3]-DIOXIN-5-IL (2A) PURIFICADO.....	33
7.4. ESPECTROS DE (E)-5-ESTIRIL-2,2-DIMETIL-7-(METOXIMETOXI)-4H-BENZO[D][1,3]-DIOXIN-4-ONA (1) PURIFICADO	35

Abreviaturas y símbolos

ac.: Acuoso

AcOEt: Acetato de etilo

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

DMF: *N,N*-dimetilformamida

Eq: Equivalentes

g: Gramos

h: Horas

Hex: Hexano

Hz: Herzios

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

J: Constante de acoplamiento

m: Multiplete

MOM: Metoximetil éter

MOMCl: Clorometil metil éter

OTf: Triflato

ppm: Partes por millón

q: Cuatriplete

RMN: Resonancia magnética nuclear

s: Singulete

t.a.: Temperatura ambiente

TEA: Trietilamina

TFA: Ácido trifluoroacético

TFAA: Anhídrid trifluoroacético

Tf₂O: Anhídrido trifluorometanosulfónico

THF: Tetrahidrofurano

TLC: Thin Layer Chromatography
(*Cromatografía de capa fina*)

°C: Grados Celsius

Resumen

En esta memoria se describe una ruta sintética para la preparación del compuesto (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona, un intermedio en la ruta sintética del ácido pinosilvico, ambos compuesto derivados del estilbeno.

La memoria se inicia con una introducción previa sobre la familia de los productos naturales derivados del estilbeno, los estilbenoides, describiendo su estructura química y las propiedades de interés de estos compuestos.

Tras esto, se discuten brevemente los resultados obtenidos a nivel experimental y se expone la metodología seguida en la síntesis, detallando las condiciones de trabajo.

Finalmente, se exponen una serie de conclusiones extraídas sobre el trabajo realizado.

1. Introducción

1.1 Estilbenoides

Se denomina estilbenoides/estilbenos a un grupo de compuestos naturales que se encuentran en varias plantas de familias botánicas filogenéticamente distantes. Estructuralmente están formados por dos anillos aromáticos unidos por un puente de eteno/etileno y difieren en el tipo y posición de los sustituyentes en los anillos aromáticos. Todos ellos son derivados del estilbeno (**Figura 1**). El estilbeno recibe su nombre del término griego “stilbos”, el cual significa “brillante”, dado que se les asocia una intensa absorción y propiedades fluorescentes, relacionadas con la excitación de los electrones p del puente de eteno conjugados con los orbitales p aromáticos.^[1]

Configuracionalmente, el estilbeno existe en sus formas *cis*- y *trans*-, siendo la *trans*- la forma más estable de ambas y además, en el contexto de los estilbenoides, la que presenta un mayor interés biológico. Este tipo de productos naturales pueden encontrarse como monómeros u oligómeros, de forma libre o conjugada.

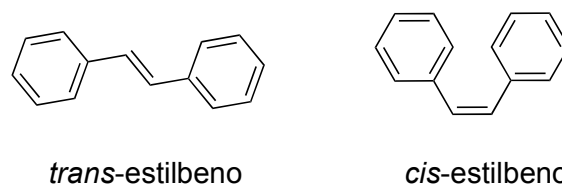


Figura 1. Diferentes configuraciones del estilbeno.

Además, habitualmente los anillos aromáticos de los estilbenoides están sustituidos con grupos hidroxilo. Por tanto, estos productos naturales también pueden ser considerados como compuestos polifenólicos. En la **Figura 2** se muestran algunos ejemplos de productos naturales de la familia de los estilbenos.

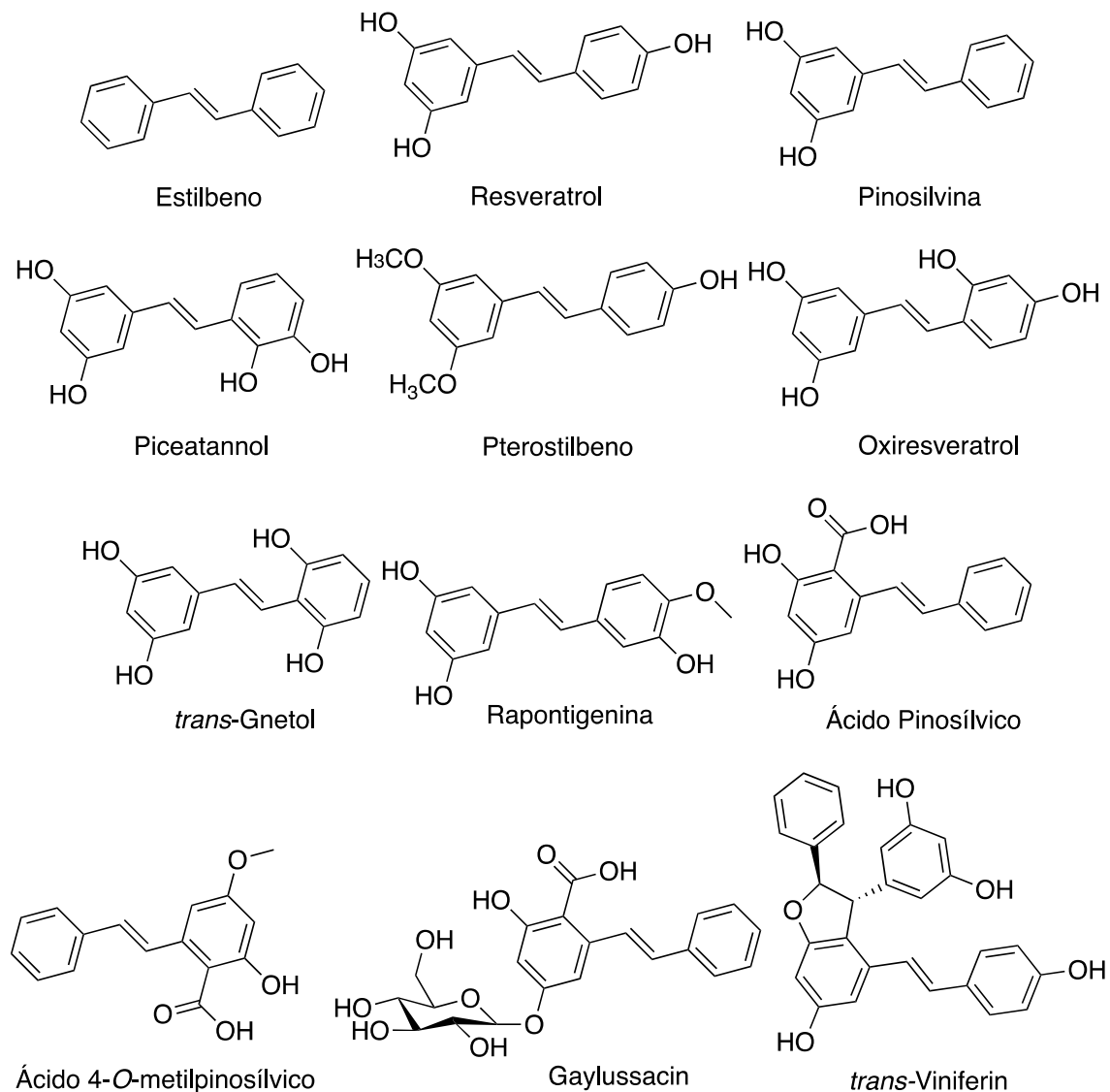
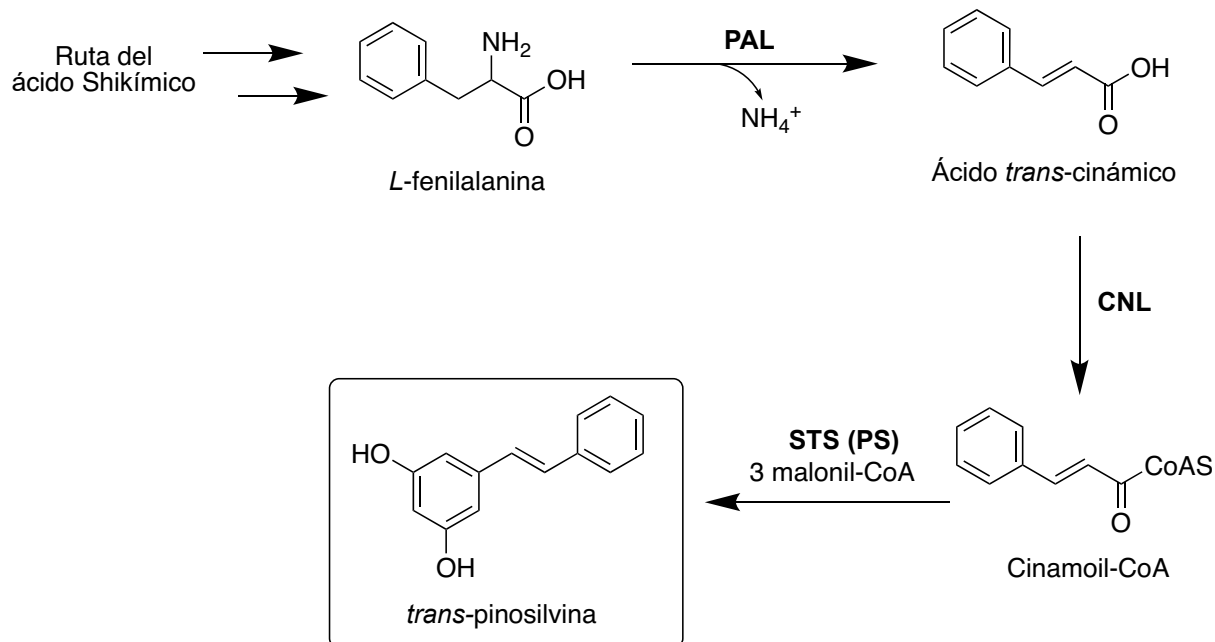


Figura 2. Estructuras estilbenoides y ejemplos de derivados

Los estilbenos son biosintetizados por la vía fenilpropanoide de la vía del ácido siquímico, la cual es responsable de la biosíntesis de numerosos metabolitos secundarios como los flavonoides o las cumarinas. Los estilbenoides se biosintetizan a partir de *L*-fenilalanina. Este aminoácido aromático sufre una desaminación no oxidativa promovida por la enzima fenilalanina amoniaco-liasa (PAL; EC 4.3.1.24) para producir ácido *trans*-cinámico. El ácido cinámico puede reaccionar con una molécula de coenzima A (CoA) en un proceso mediado por el enzima cinamato:CoA ligasa (CNL; EC 6.2.1.-) para formar cinamoil-CoA. Finalmente, la enzima estilbeno sintasa (STS), cataliza la formación directa del esqueleto del estilbenoide a través de una única reacción. Mencionar el caso de la reacción promovida por la pinosilvina sintasa (PS; EC 2.3.1.146), en la que participan 3 unidades de malonil-CoA y una de cinamoil-CoA para obtener el producto natural *trans*-pinosilvina como muestra el **Esquema 1**.^[2]



Esquema 1. Ruta biosintética *trans*-pinosilvina

En cuanto a su actividad biológica, los estilbenoides son fitoalexinas, su principal función es proteger a la planta que los produce frente a agentes patógenos como insectos, hongos y toxinas, además de frente radiaciones excesivas de luz ultravioleta y exposiciones a temperaturas demasiado elevadas, siendo su contenido en éstos muy variable e incrementándose bajo exposiciones de la planta a estrés.^[3]

1.2 Interés de los estilbenoides

En los últimos años ha aumentado la popularidad de los productos derivados de plantas. A raíz de estudios realizados sobre las plantas empleadas en medicinas tradicionales se ha encontrado que muchas de éstas contenían estilbenoides, y sus principales usos estaban orientados al tratamiento de problemas estomacales, hepatitis, enfermedades fúngicas o problemas de inflamación cutánea. Un ejemplo de esto lo constituye la medicina Ayurvedica, dónde se empleaban preparados cardiotónicos que fueron analizados por HPLC y se pudo comprobar la existencia en éstos de resveratrol y pterostilbeno (**Figura 2**).^[4]

Debido al creciente interés social por este tipo de remedios han surgido los denominados nutracéuticos, que son sustancias activas extraídas de plantas u otros organismos vivos, y administrados de una forma farmacéutica adecuada, se supone que ayudan a inhibir daños patológicos y enfermedades. En general, la mayoría de los nutracéuticos son agentes antioxidantes y/o antiinflamatorios con una buena tolerabilidad y biodisponibilidad, donde los polifenoles procedentes de plantas incluyendo los flavonoides de uvas y los estilbenos son eminentes ejemplos.^[5]

Históricamente, pese a que los estilbenos han estado presentes desde hace mucho tiempo en las medicinas tradicionales como se ha comentado previamente, la primera referencia al efecto beneficioso de estos compuestos se remonta a la denominada “paradoja francesa” (“french paradox”), que se refiere al bajo nivel de mortalidad por enfermedades coronarias en la población del suroeste de Francia pese a sus múltiples factores de riesgo, como sus dietas altas en colesterol, grasas saturadas y su consumo de tabaco. El primer intento de explicar esto se debe a Serge Renaud, un investigador francés que en 1992 observó que el consumo de vino era inversamente proporcional al nivel de mortalidad por estas enfermedades, postulando que esta población no se veía tan afectada debido a su consumo diario de vino.^[3] Esto llamó la atención de la investigación biomédica sobre los constituyentes fenólicos del vino tinto.

A raíz de esto se realizaron diversos estudios que sugieren los efectos beneficiosos de los estilbenoides en las funciones vasculares. Todo ello derivó en la investigación de estos compuestos y sus beneficios en el tratamiento de diversas enfermedades como aterosclerosis, estrés oxidativo, hipertrofia cardíaca, lesión por isquemia-reperusión, además de su posible uso terapéutico para la diabetes, la obesidad y como tratamiento y prevención del cáncer,^[4] e incluso con la reciente pandemia del SARS cov-19 se han realizado estudios sobre posibles estilbenoides que pueden usarse como tratamiento ante el mismo.^[6]

De los estilbenoides conocidos el más estudiado es sin duda el resveratrol (**Figura 2**), el cual se encuentra principalmente en el vino tinto, las uvas y las bayas. Éste ha demostrado

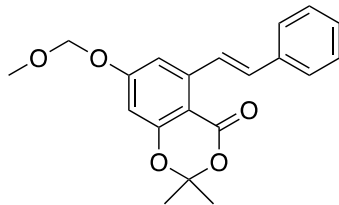
propiedades antioxidantes, antitumorales, antivirales, antiinflamatorias y como extensor de vida útil.^[3] Otro estilbenoide, estructuralmente muy parecido al resveratrol es la pinosilvina (**Figura 2**), que se encuentra en hojas y troncos de muchas especies de pinos, se conoce por su efecto en muchos procesos celulares importantes como la apoptosis y la proliferación celular, su acción antioxidante, además de funciones anti-diabéticas, anticáncer, antiinflamatorias y antimicrobiales,^[3] aunque su uso en altas concentraciones sigue siendo controversial a día de hoy.^[1] El piceatannol (**Figura 2**) es otro derivado del estilbeno con similitudes estructurales respecto a los anteriormente mencionados, este se encuentra en diversas plantas como el té blanco, fruta de la pasión, uvas, caña de azúcar o cacahuetes, comparte propiedades con los anteriores siendo su poder antioxidante y antiinflamatorio más efectivo que en el caso del resveratrol, y destacando su capacidad de supresión de la proliferación, invasión y migración celular, además de su poder de inducción de apoptosis contra diversos tipos de cáncer.^[7]

Pese a la gran cantidad de propiedades de interés para la salud humana como su uso en el tratamiento y prevención del cáncer, antiinflamatorios, anti-edad y antioxidantes entre muchas otras que han demostrado esta familia de compuestos, los estudios hasta la fecha se han centrado en estilbenos concretos y sigue en vía de desarrollo e investigación tanto sus propiedades como sus mecanismos de síntesis y vías de obtención.

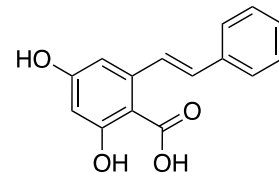
2. Objetivo

El objetivo de este trabajo es la síntesis de (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**Figura 3**), un intermediario clave en la síntesis del ácido 2,4-dihidroxi-6-[(1*E*)-2-fenileténil] benzoico (nombre IUPAC), denominado comúnmente como **ácido pinosilvico** (**Figura 3**), un estilbeno derivado de la pinosilvina que contiene un grupo ácido como sustituyente. Este compuesto puede sintetizarse a partir del ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico.

Se seleccionará la ruta sintética más adecuada y se llevará a cabo en el laboratorio, caracterizando tanto los intermediarios sintéticos como el producto final de la síntesis, en búsqueda de la obtención del mejor rendimiento posible.



(*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona
(Molécula objetivo)



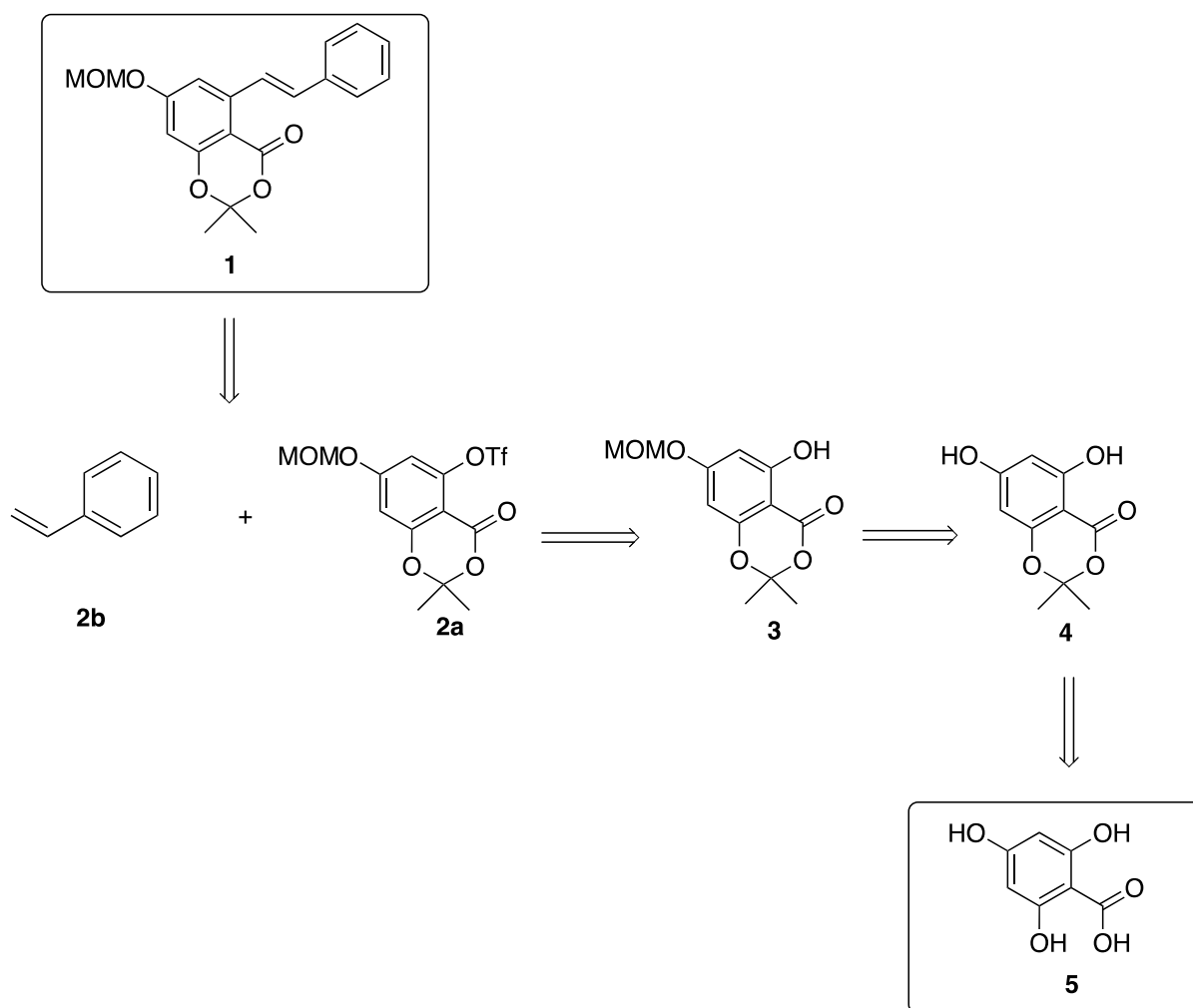
Ácido 2,4-dihidroxi-6-[(1*E*)-2-fenileténil] benzoico
(Ácido pinosilvico)

Figura 3. Objetivo sintético de este trabajo y producto natural relacionado

3. Discusión de resultados

3.1. Análisis retrosintético

Tras un estudio de la bibliografía existente en referencia a la síntesis de compuestos derivados del estilbena, se propone el siguiente esquema retrosintético para acceder al producto deseado **1** (**Esquema 2**).^[8]



Esquema 2. Análisis retrosintético de (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**1**)

Se establece que es posible la síntesis del compuesto de interés **1** a partir del derivado arilo **2a** y el estireno **2b** (asequible comercialmente) a través de una reacción de acoplamiento cruzado de Heck. El derivado arilo **2a** se podría obtener a partir del ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico (asequible comercialmente) a través de dos reacciones de protección de

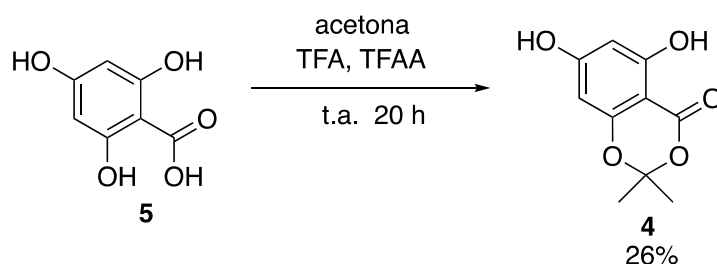
grupos funcionales que conducirían a los intermedios **3** y **4**, y una de transformación de uno de los grupos hidroxilo en un triflato.

A continuación, se detallan los resultados obtenidos en el laboratorio en cada paso de síntesis haciendo hincapié en la caracterización por RMN de los intermedios y el producto final, y también comentando los mecanismos de las reacciones implicadas.

3.2. Síntesis de 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**4**)

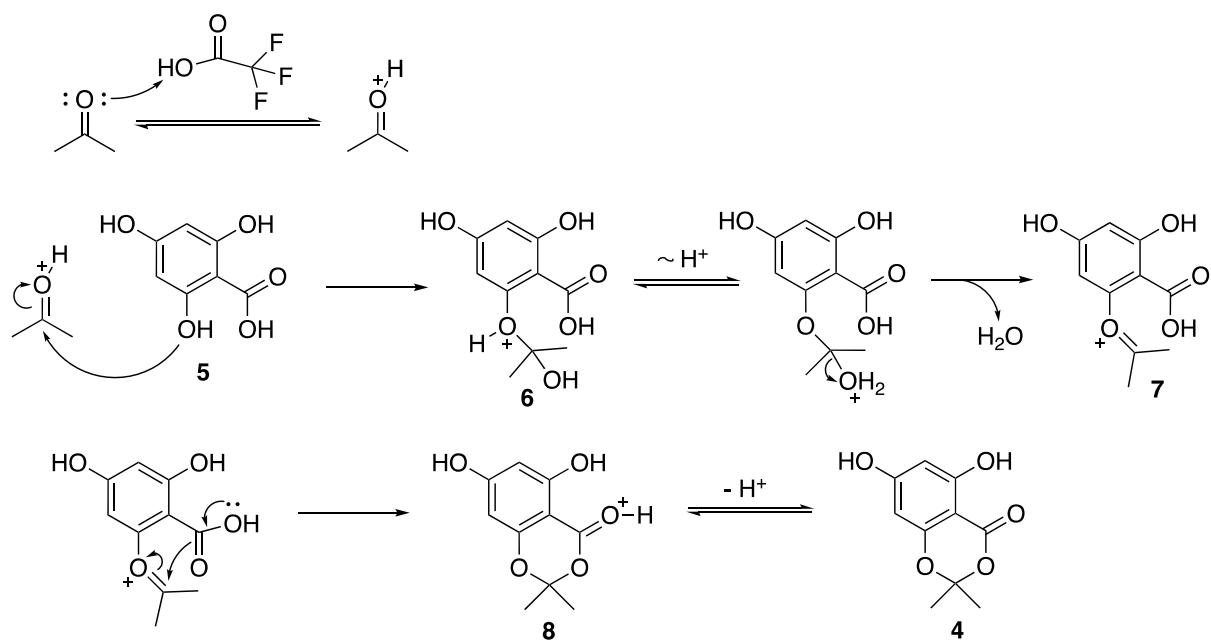
El primer paso de la síntesis consistió en la protección del grupo funcional ácido y uno de los grupos hidroxilo del material de partida (**5**) en forma de acetónido.

Para ello se trata el ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico (**5**) con ácido trifluoroacético y anhídrido trifluoroacético en acetona. La mezcla se dejó bajo agitación 22 horas como se muestra en el **Esquema 3**, tiempo suficiente para que se produjera la protección de ambos grupos, obteniéndose el producto **4** como un sólido con un rendimiento del 26% tras purificación por columna cromatográfica.



Esquema 3. Síntesis de 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**4**)

En cuanto al mecanismo de esta reacción, lo primero que sucede es la activación del grupo carbonilo de la acetona con el protón del ácido trifluoroacético. La acetona protonada es atacada por el oxígeno del grupo hidroxilo, en posición *orto* respecto al grupo ácido, con lo que se genera el intermedio **6**. Tras una trasposición de protón se produce una eliminación de agua y la formación del intermedio de tipo oxonio **7**. El ataque intramolecular del oxígeno nucleófilo del ácido al carbono electrófilo de esta especie de oxonio **7** genera el nuevo intermedio **8** que, tras pérdida de un protón, da lugar al producto final **4** tal y como se muestra en el **Esquema 4**.



Esquema 4. Mecanismo de síntesis del acetal (4)

Para la caracterización del sólido **4** se realizaron pruebas de resonancia magnética nuclear (1H , ^{13}C y DEPT).

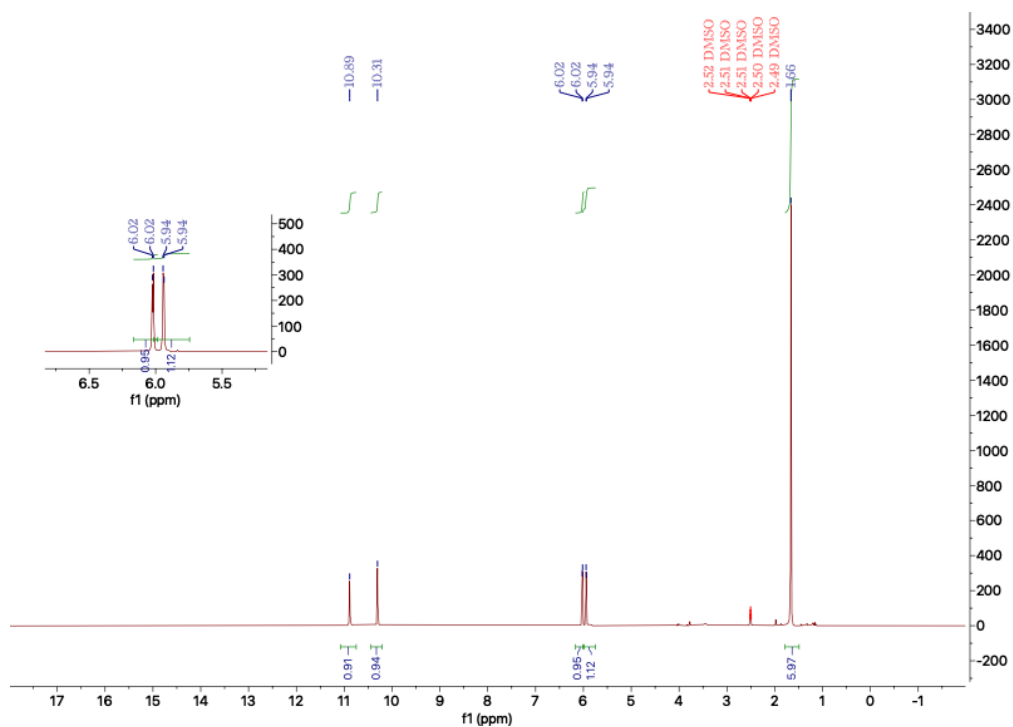


Figura 4. Espectro 1H RMN de 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**4**)

El espectro de ^1H se muestra en la **Figura 4**. En este espectro se pueden diferenciar claramente los dos protones más desapantallados que aparecen como singuletes, que pertenecen a los dos grupos hidroxilo presentes aún en la molécula a 10.89 y 10.31 ppm. También se distinguen los dos protones aromáticos como dobletes a 6.02 y 5.94 ppm (ambos $J=2.1$ Hz). La señal de los protones de los metilos aparece a 1.66 ppm como un singulete que integra para los 6 hidrógenos.

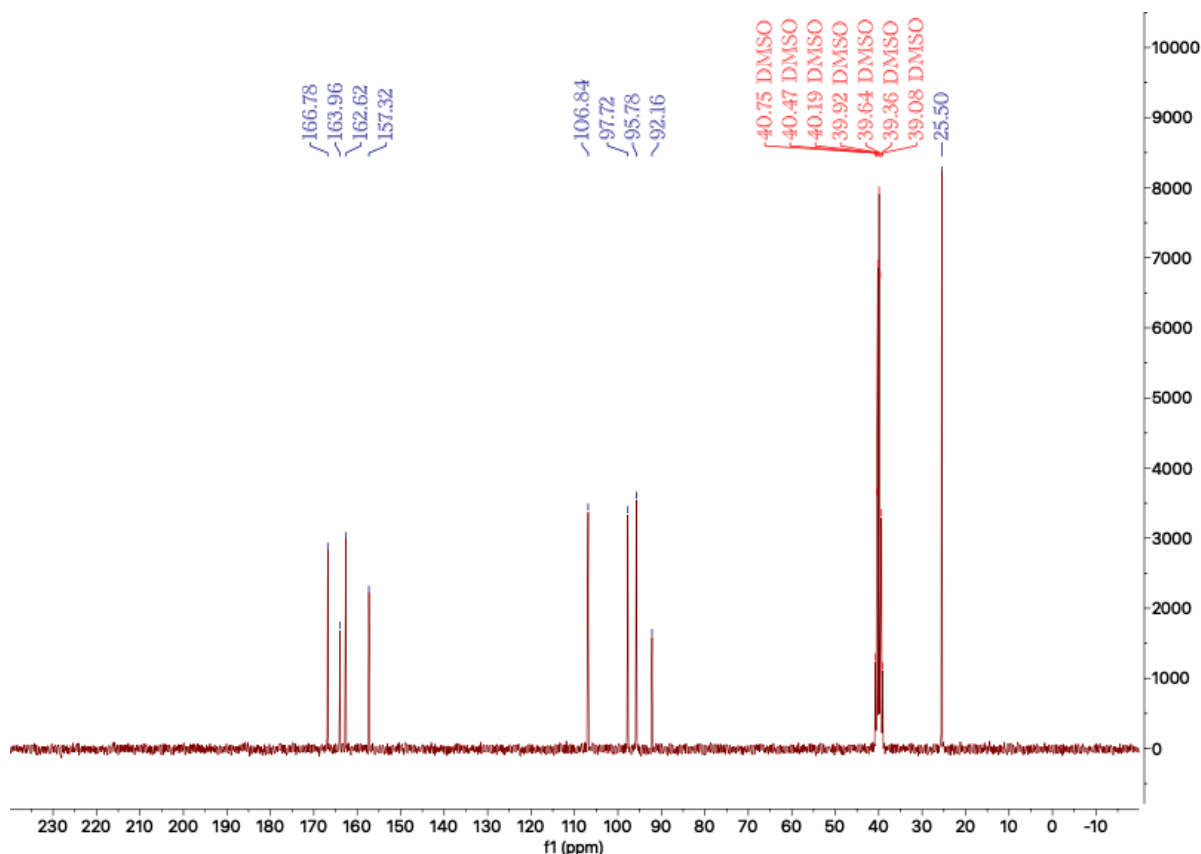
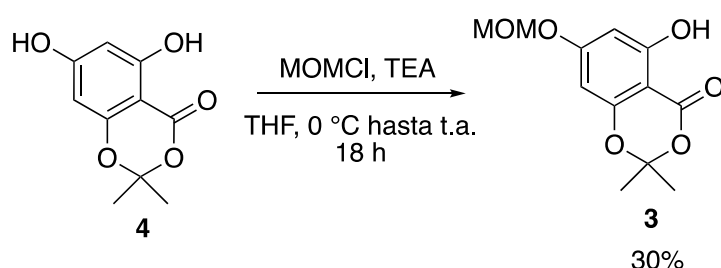


Figura 5. Espectro de ^{13}C de 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**4**)

El espectro de ^{13}C se muestra en la **Figura 5**. En primer lugar, se observan cuatro señales desapantalladas (166.78, 163.96, 162.62 y 157.32 ppm) que se corresponden al carbono carbonílico y los tres carbonos aromáticos unidos a oxígeno. Los carbonos aromáticos no sustituidos aparecen a 97.72 y 95.78 ppm, mientras que a 92.16 ppm aparece la señal del carbono aromático unido al carbonilo. Finalmente, el carbono cuaternario del grupo protector que se encuentra unido a los dos oxígenos aparece a 106.84 ppm y los dos carbonos de los grupos metilo aparecen como una única señal a 25.50 ppm.

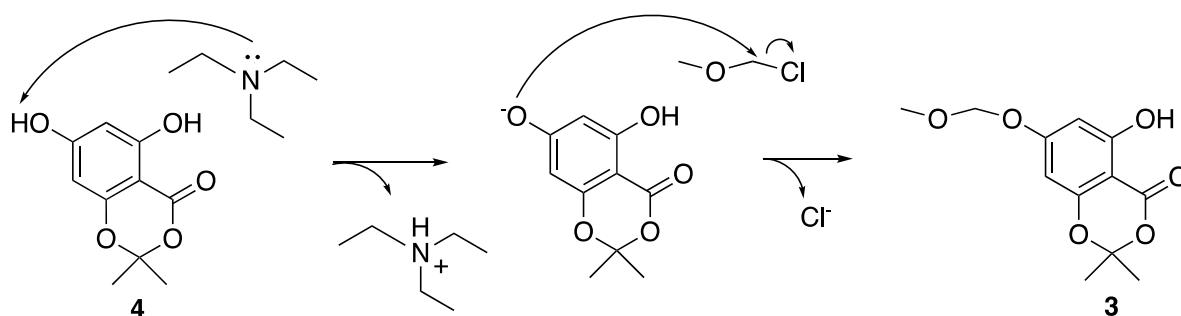
3.3. Síntesis de 5- hidroxil-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (3)

Una vez llevada a cabo la primera protección del ácido carboxílico y uno de los hidroxilos en forma de acetal se prosigue la síntesis con un paso más de protección de grupos funcionales. En este caso se trata de la protección del hidroxilo del carbono 7 de la molécula con clorometil metil éter para formar el grupo protector metoximetiléter (MOM). Para ello el acetal (4) se hizo reaccionar con clorometil metil éter en presencia de trietilamina en THF (**Esquema 5**), lo que permitió obtener el producto (3) con un 30% de rendimiento tras purificación por columna cromatográfica.



Esquema 5. Síntesis de 5-hidroxil-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (3)

El mecanismo de esta reacción se basa en una desprotonación del hidrógeno del grupo hidroxilo menos impedido estéricamente. Tras esta desprotonación el oxígeno queda cargado negativamente y se produce un ataque nucleófilo de éste a la molécula de clorometil metil éter, donde el cloro es eliminado como grupo saliente quedando el oxígeno protegido con el grupo MOM, como es muestra en el **Esquema 6**.



Esquema 6. Mecanismo de protección del grupo hidroxilo con clorometil metil éter (3)

Para la caracterización del sólido **3** se realizaron pruebas de resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C y DEPT).

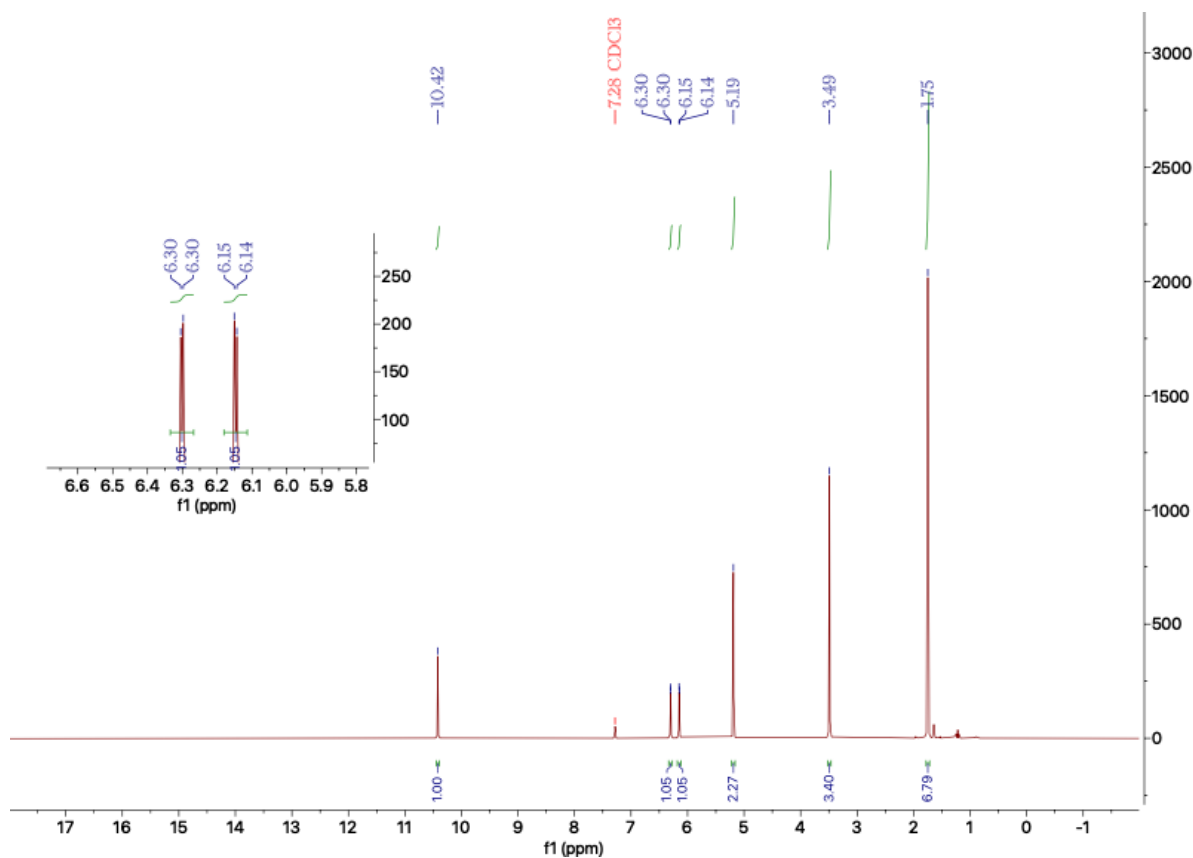


Figura 6. Espectro ^1H RMN de 5-hidroxi-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (**3**)

El espectro de ^1H se muestra en la **Figura 6**. Lo más destacado en este espectro es que únicamente se observa un protón a 10.42 ppm como singlete, el cual se corresponde con el protón del grupo hidroxilo que todavía está presente en la molécula. Esto ya nos indica que el otro hidroxilo ha sido protegido correctamente con el MOM. Además, aparece una señal singlete a 5.19 ppm que integra para dos protones que se corresponde con los hidrógenos del carbono que se encuentra entre los dos oxígenos del grupo MOM, y la señal singlete a 3.49 ppm pertenece al metilo de este grupo que se acaba de introducir en la molécula. Por otro lado, los hidrógenos aromáticos que ya se observaban anteriormente en el material de partida se mantienen a 6.30 y 6.14 ppm como dobletes (ambos con $J=2.2$ Hz), al igual que los de los 6 hidrógenos de los dos metilos del acetal como singlete a 1.75 ppm.

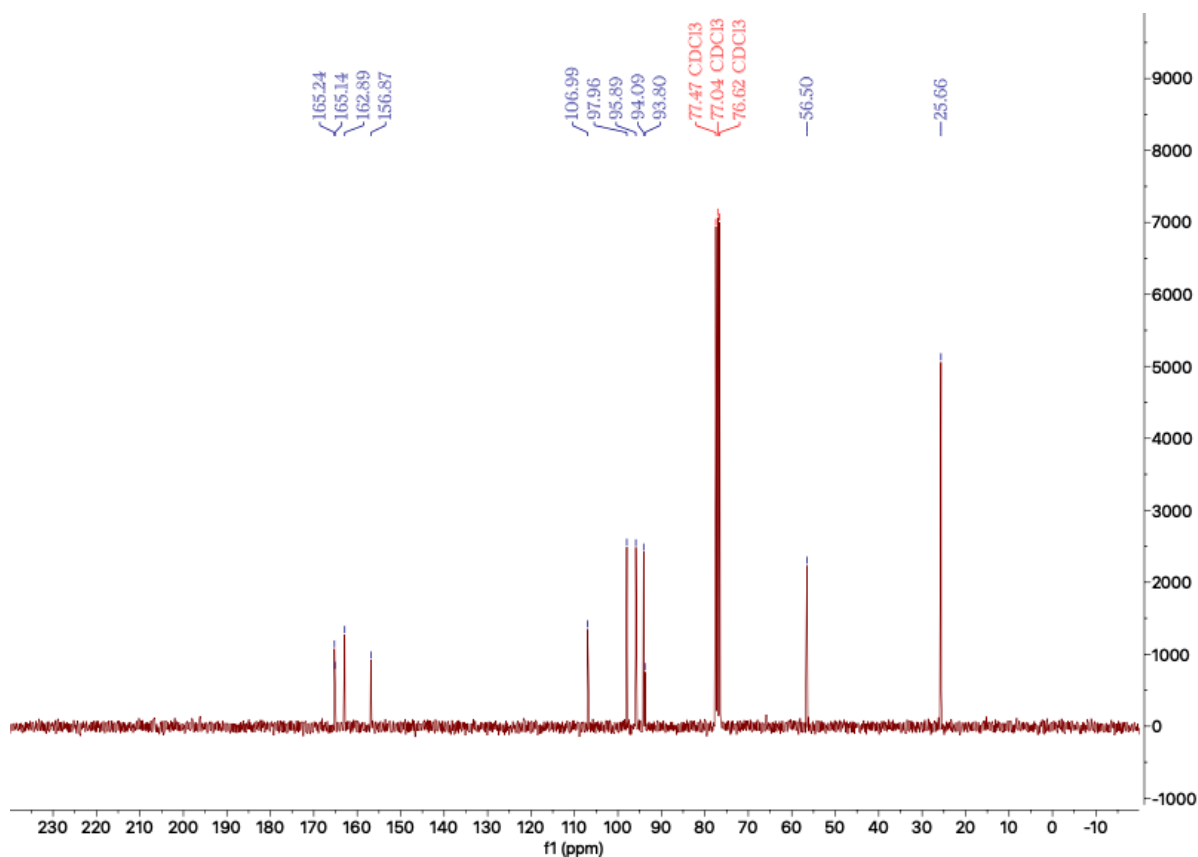
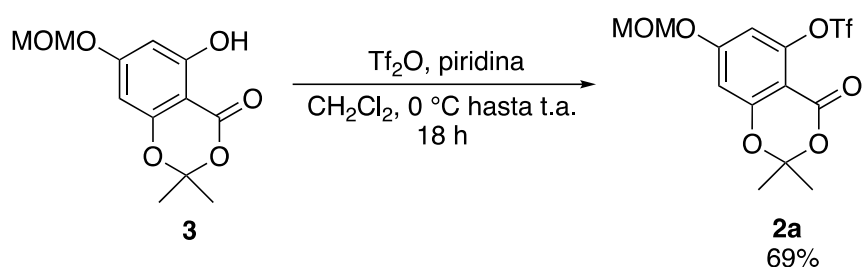


Figura 7. Espectro ^{13}C RMN de 5-hidroxi-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (**3**)

El espectro de ^{13}C se muestra en la **Figura 7**. Se distinguen cuatro señales desapantalladas (165.24, 165.14, 162.89 y 156.87 ppm) que se corresponden al carbono carbonílico y los tres carbonos aromáticos unidos a oxígeno. A 93.80 ppm se observa el carbono aromático unido al carbonilo. Los otros dos carbonos aromáticos no sustituidos aparecen a 97.96 y 95.89 ppm. Con respecto al nuevo grupo incorporado (MOM) se observa el carbono entre ambos oxígenos a 94.09 ppm y el carbono del grupo metoxi de éste a 56.50 ppm. El carbono cuaternario del acetal se encuentra a 106.99 ppm y los dos metilos de éste aparecen como una única señal a 25.66 ppm. Todas estas asignaciones se pudieron confirmar gracias al experimento DEPT (**Anexo 7.2.3**).

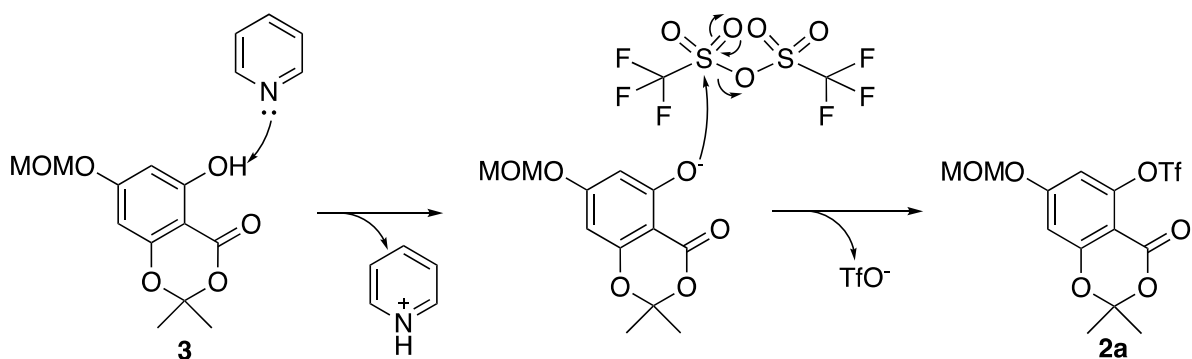
3.4. Síntesis de 2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-ilo trifluorometanosulfonato (2a)

Cuando todos los grupos funcionales de interés de la molécula han sido protegidos se prosigue con la sustitución del grupo hidroxilo restante por un grupo que permita una funcionalización de esta posición de la molécula. Por ello este grupo funcional se transformará en un triflato, para lo cual se hace reaccionar el producto obtenido en el paso previo (**3**) con anhídrido trifluorometanosulfónico y piridina en diclorometano durante 18 horas (**Esquema 7**), con lo que se obtuvo el producto deseado (**2a**) con un 69% de rendimiento.



Esquema 7. Síntesis de 2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-ilo trifluorometanosulfonato (**2a**)

El mecanismo de esta reacción tiene ciertas similitudes con el paso anterior, en este caso la base que actúa desprotonando el hidrógeno del grupo hidroxilo es la piridina. Con el oxígeno desprotonado se produce un ataque nucleófilo de éste al azufre del anhídrido trifluorometanosulfónico, lo que resulta en una adición-eliminación donde se elimina un radical triflato obteniéndose el derivado triflato de interés **2a** (**Esquema 8**).



Esquema 8. Mecanismo de síntesis del derivado triflato (**2a**)

Para la caracterización del sólido **2a** se realizaron pruebas de resonancia magnética nuclear (^1H y ^{13}C).

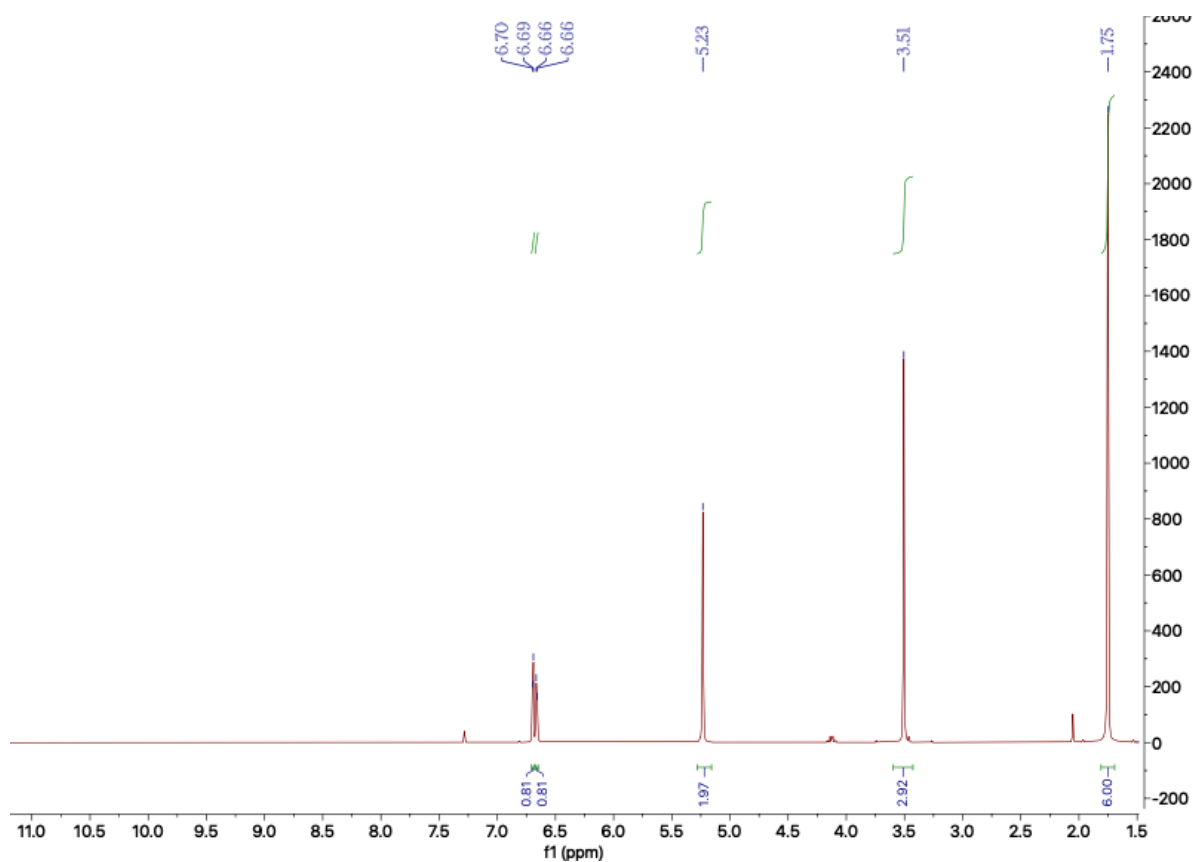


Figura 8. Espectro ^1H RMN de 2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-ilo trifluorometanosulfonato (**2a**)

El espectro de ^1H se muestra en la **Figura 8**. En el espectro se observa como ya todas las señales de hidrógenos de los hidroxilos han desaparecido y ahora únicamente se detectan las señales correspondientes a los hidrógenos aromáticos como dobletes a 6.69 y 6.66 ppm (ambos $J=2.3$ Hz). A 5.23 ppm aparecen como un singlete los dos hidrógenos del carbono intermedio a los dos oxígenos del grupo MOM. Aparecen como singlete los tres hidrógenos del metilo de este mismo grupo MOM a 3.51 ppm, y los seis hidrógenos de los dos metilos del acetal también aparecen como un único singlete a 1.75 ppm.

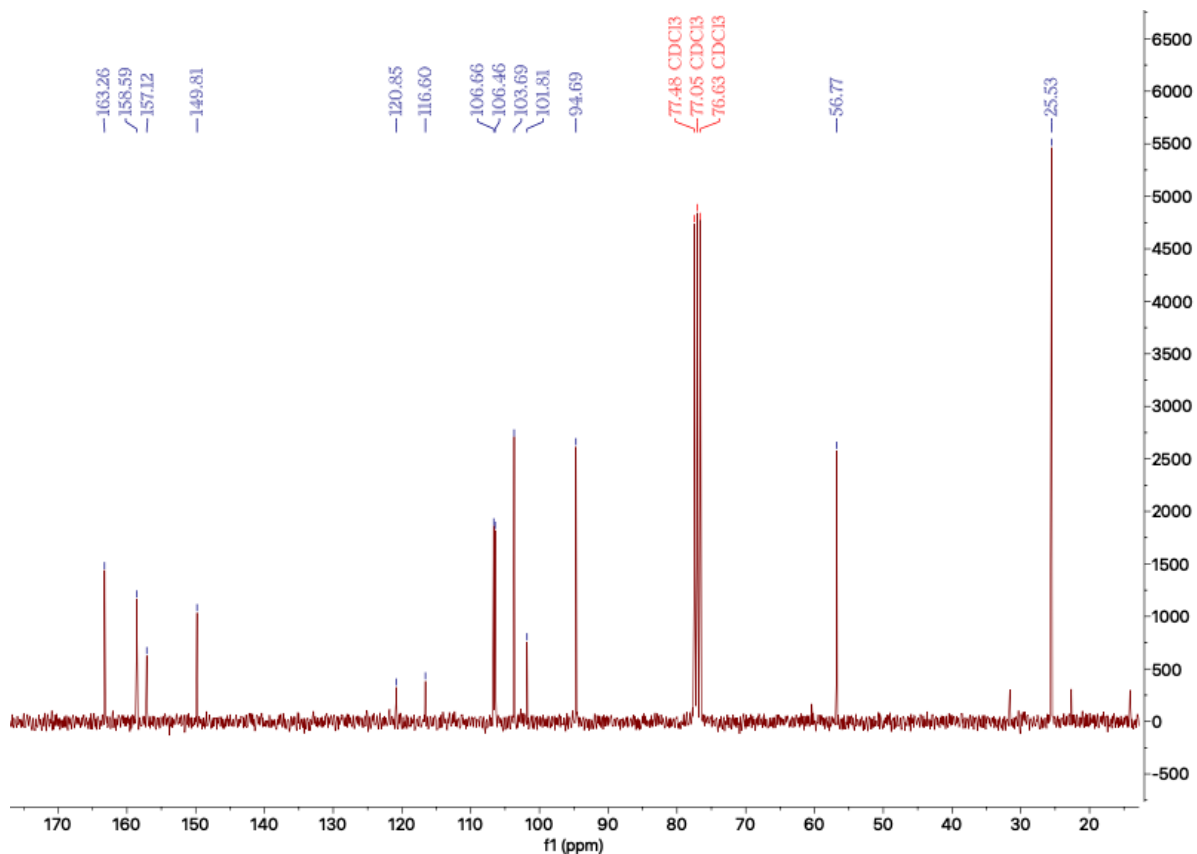
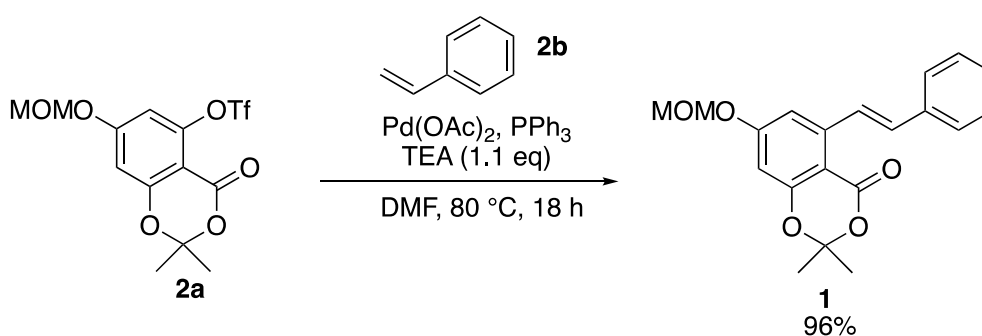


Figura 9. Espectro ^{13}C RMN de 2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-ilo trifluorometanosulfonato (**2a**)

El espectro de ^{13}C se muestra en la **Figura 9**. Como en los espectros de carbono de los productos anteriormente analizados, se observan cuatro señales desapantalladas (163.26, 158.59, 157.12 y 149.81 ppm) que se corresponden al carbono carbonílico y los tres carbonos aromáticos unidos a oxígeno. A 101.81 ppm aparece el carbono aromático unido al carbonilo, los otros dos carbonos aromáticos aparecen a 106.46 y 103.69 ppm. A 120.85 y 116.60 ppm aparecen dos señales que se corresponden con las dos señales centrales del cuatriplete esperado para el carbono del triflato debido al acoplamiento carbono-flúor ($J=320.7$ Hz). El carbono entre los oxígenos del grupo MOM aparece a 94.69 ppm y el carbono del grupo metoxi de éste a 56.77 ppm. El carbono del acetal unido a ambos oxígenos se encuentra a 106.66 ppm y los dos metilos de éste aparecen como una única señal a 25.53 ppm.

3.5. Síntesis de (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (1)

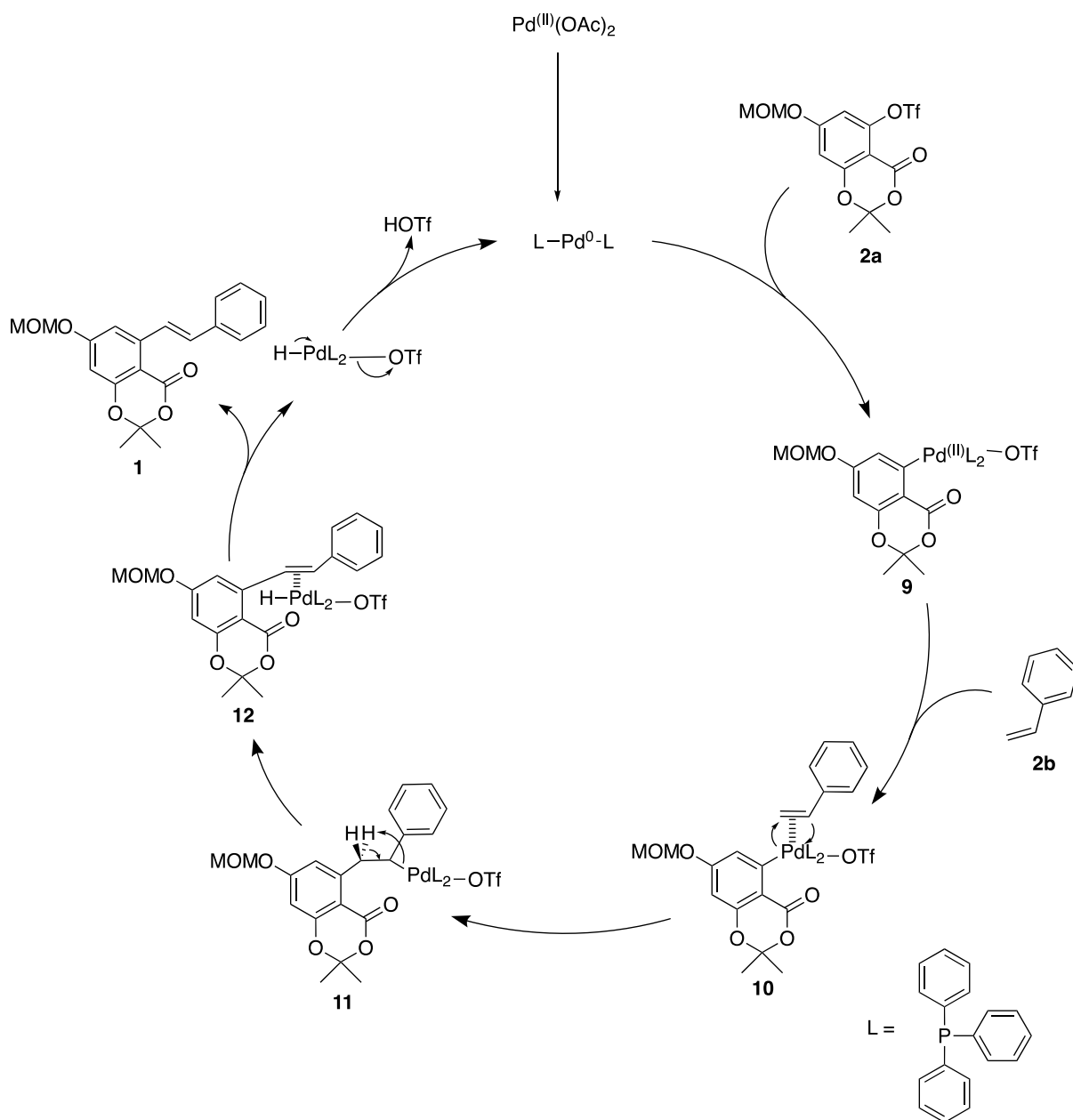
Con toda la molécula adecuadamente protegida y funcionalizada, el último paso de reacción para la obtención del producto deseado (**1**) es una reacción de formación de un nuevo enlace carbono-carbono. En este caso se trata de una reacción de acoplamiento cruzado tipo Heck, en la cual nuestro intermedio triflato (**2a**) se hizo reaccionar con el estireno empleando un catalizador de paladio, en este caso Pd(OAc)₂, junto con trietilamina y trifenilfosfina en DMF a 80°C durante 18 horas (**Esquema 9**), con lo que se obtuvo el producto de interés (**1**) con un rendimiento del 96%.



Esquema 9. Síntesis de (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**1**)

La reacción de Heck se trata de una reacción de acoplamiento cruzado en la que se crea un nuevo enlace carbono-carbono, su mecanismo se basa en un ciclo catalítico en el que se pueden distinguir 4 etapas principales (**Esquema 10**).

Previo al ciclo catalítico, el acetato de paladio (II) se reduce con trifenilfosfina a bis(trifenilfosfina)paladio (0), generando in situ el compuesto de paladio (0) que es la especie catalíticamente activa en el proceso. Una vez generado el catalizador, la primera etapa es la adición oxidante en la que el paladio se inserta en el enlace del triflato de arilo (**2a**), dando lugar al intermedio **9**. Tras esto se forma un complejo π (**10**) con el estireno (**2b**) y se pasa a la siguiente etapa en la que se produce una adición *sin* del grupo aromático y el paladio sobre el doble enlace del estireno, generando el intermedio **11**. Tras la adición se produce una β -eliminación de hidruro para dar lugar a la formación de un nuevo complejo π de paladio-alqueno (**12**). Finalmente, se llega a la última etapa del proceso en la que el paladio (0) se regenera nuevamente mediante una eliminación reductora del compuesto de paladio (II) con trietilamina, con lo que se vuelve al estado inicial del ciclo.



Esquema 10. Mecanismo de reacción de Heck y ciclo del paladio para la obtención del producto de interés (**1**)

Para la caracterización del sólido **1** se realizaron pruebas de resonancia magnética nuclear (¹H, ¹³C y DEPT).

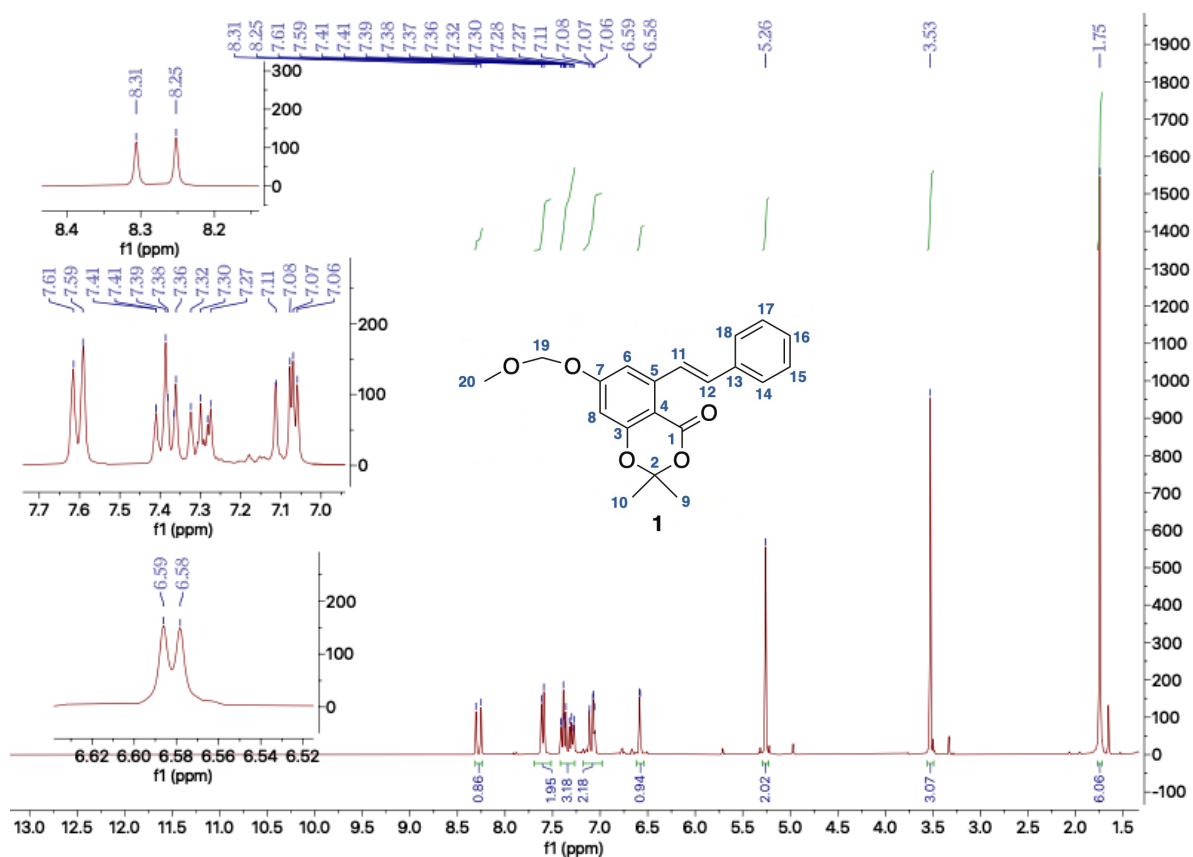


Figura 10. Espectro ¹H RMN (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**1**)

El espectro de ¹H se muestra en la **Figura 10**. En el espectro mostrado aparece como doblete a 8.28 ppm el hidrógeno del carbono C₁₂ ($J=16.2$ Hz), y a 7.09 ppm aparece también como doblete el hidrógeno del carbono C₁₁ ($J=16.2$ Hz). A 7.60 ppm aparecen como doblete los dos hidrógenos de los carbonos aromáticos C₁₄ y C₁₈ en *orto* ($J=7.3$ Hz). Entre 7.41-7.27 ppm se observan dos multipletes que se corresponden con los hidrógenos en *meta* y *para* del fenilo C₁₅, C₁₇ y C₁₆. A 7.07 ppm como aparece como doblete el hidrógeno del carbono aromático C₈ ($J=2.3$ Hz) y el hidrógeno del carbono aromático C₆ aparece como doblete a 6.58 ppm ($J=2.3$ Hz). Los dos hidrógenos del carbono del MOM sobre el carbono C₁₉ aparecen a 5.26 ppm como singulete y los tres hidrógenos del metoxi del MOM sobre el carbono C₂₀ aparecen a 3.53 ppm como singulete. Los seis hidrógenos de los dos metilos del acetal sobre los carbonos C₉ y C₁₀ se observan como singulete en una única señal a 1.75 ppm.

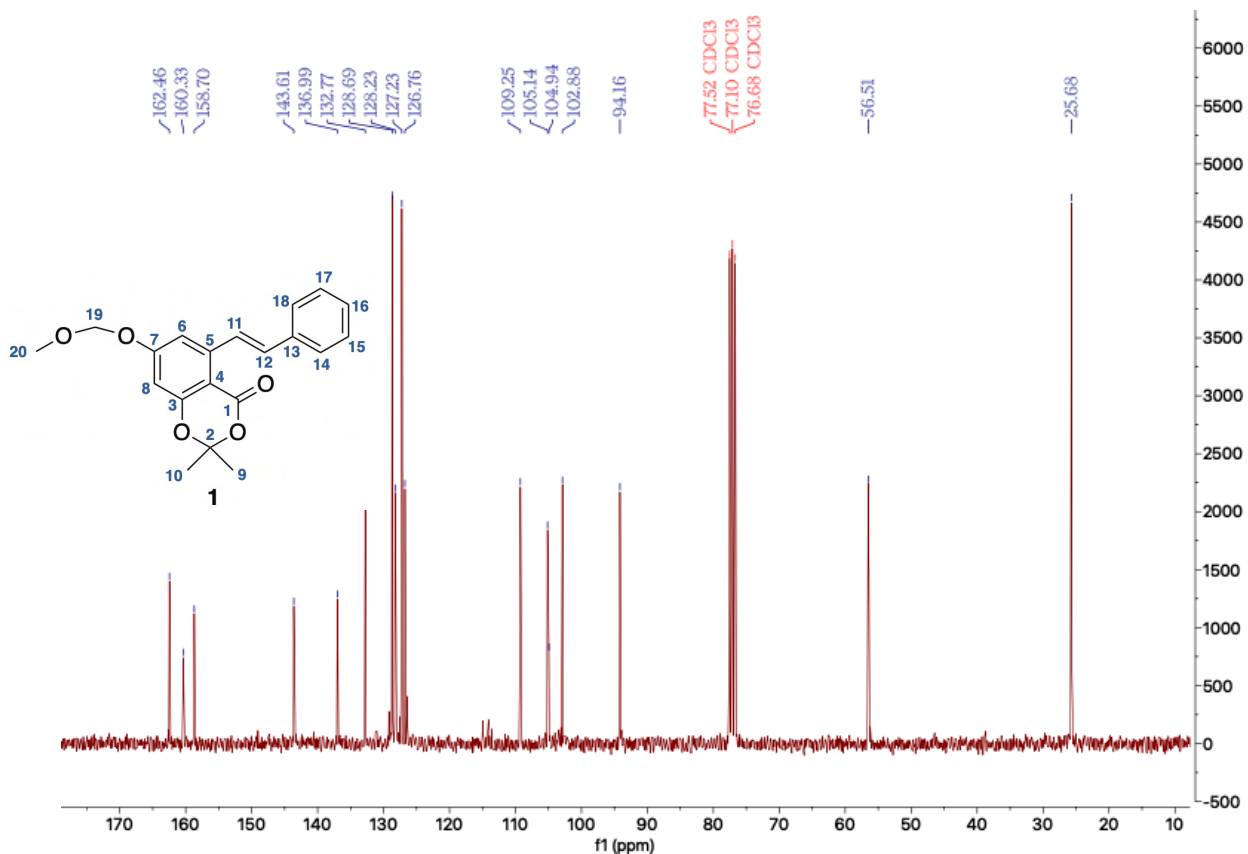


Figura 11. Espectro ^{13}C (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**1**)

El espectro de ^{13}C se muestra en la **Figura 11**. En este espectro, aparecen tres señales desapantalladas (162.46, 160.33 y 158.70 ppm) que se corresponden al carbono carbonílico C_1 y los dos carbonos aromáticos unidos a oxígeno C_3 y C_7 . A 143.61 ppm se encuentra el carbono *ipso* de unión con el estireno C_5 . Respecto al anillo aromático introducido en este paso se observan los carbonos en *orto* C_{18} y C_{14} como una única señal a 132.77 ppm, los carbonos en *meta* C_{15} y C_{17} también como una única señal a 128.69 ppm y el carbono en *para* C_{16} a 128.23 ppm, el carbono aromático de este anillo C_{13} aparece a 136.99 ppm. A 127.23 ppm se encuentra el carbono C_{11} y a 126.76 ppm el C_{12} . El carbono aromático C_8 aparece a 109.25 ppm y el C_6 aparece a 102.88 ppm. A 105.14 ppm el carbono cuaternario del acetal C_2 y a 104.94 ppm aparece el carbono aromático unido al carbono carbonílico C_4 . A 94.16 ppm se encuentra el carbono C_{19} del éter MOM y a 56.51 ppm el carbono C_{20} del metoxi del MOM. A 25.68 ppm como una única señal se encuentran los dos carbonos de los dos metilos del acetal C_9 y C_{10} . Todas estas asignaciones se pudieron confirmar gracias al experimento DEPT (**Anexo 7.4.3**).

4. Parte experimental

4.1. Generalidades

4.1.1. Condiciones de trabajo

Todas las reacciones descritas se llevaron a cabo bajo atmósfera inerte de argón, el material empleado estaba limpio y seco, además se evacuó y purgó previamente de su uso con vacío y argón.

Los disolventes secos se tomaron con jeringuillas previamente purgadas y evacuadas.

Las reacciones a 0 °C se realizaron con un baño de hielo, y la realizada a 80 °C con un baño de aceite calentado previamente a la temperatura necesaria.

4.1.2. Disolventes y reactivos

Los disolventes empleados son disolventes adquiridos comercialmente sin una purificación posterior, a excepción del DMF que se sometió a un tratamiento de secado en un dispositivo del propio laboratorio.

Los reactivos empleados son de adquisición comercial con la mayor pureza posible sin un tratamiento posterior, a excepción del TEA que se sometió a un tratamiento de secado en un dispositivo del propio laboratorio.

Las disoluciones de NH_4Cl ac., NaHCO_3 ac. saturada y NaCl ac. saturada (brine) se encontraban previamente preparadas en el laboratorio.

4.1.3. Técnicas instrumentales

El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía de capa fina (TLC) en placas de gel de sílice sobre soporte de aluminio. Su revelado se realizó por exposición a luz ultravioleta y/o baño en disolución de vainillina con su posterior calentamiento.

La comprobación de la pureza de los productos se realizó con pruebas de resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C y DEPT), estas se llevaron a cabo en un espectrómetro Bruker AV-300 equipado con un intercambiador automático de muestras. Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en partes por millón (ppm).

4.2. Procedimientos Experimentales

4.2.1. Síntesis de 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (4)

En un matraz de dos bocas seco, se introducen manteniendo una atmósfera inerte bajo agitación y a 0 °C 2.0065 g de ácido 2,4,6-trihidroxibenzóico monohidratado **5**, 18.7 mL de ácido trifluoroacético, 12.55 mL de anhídrido trifluoroacético y 5.85 mL de acetona.

La mezcla se deja calentar lentamente a temperatura ambiente y se mantiene bajo agitación durante 20 h.

La mezcla de reacción se transfiere a un matraz de fondo redondo y se le añaden 30 mL de tolueno para ayudar a la eliminación del ácido trifluoroacético y del anhídrido trifluoroacético en el rotavapor. Tras la eliminación de estos compuestos se le añaden 125 mL de una disolución saturada de NaHCO₃ ac. y la mezcla se lleva a un embudo de extracción, se separa la fase orgánica y la acuosa se extrae 3 veces con 75 mL de CH₂Cl₂. Las fases orgánicas extraídas se combinan y se secan con Na₂SO₄, el contenido se filtra y se recoge en un matraz de fondo redondo, se realiza una nueva TLC y se procede a la eliminación de disolventes en el rotavapor y la rotatoria. El producto obtenido se purifica por columna cromatográfica (AcOEt/Hex 1:4) obteniéndose **4** como un sólido amarillo blanquecino con un rendimiento del 26%.

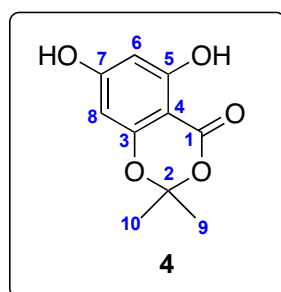


Figura 12. 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**4**)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 10.89 (s, 1H; C₅-OH), 10.31 (s, 1H; C₇-OH), 6.02 (d, *J*=2.1 Hz, 1H; H₆), 5.94 (d, *J*=2.1 Hz, 1H; H₈), 1.66 (s, 6H; H₉; H₁₀).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 166.78 (C₁), 163.96 (C₅), 162.62 (C₇), 157.32 (C₃), 106.84 (C₂), 97.72 (C₆), 95.78 (C₈), 92.16 (C₄), 25.50 (C₉; C₁₀).

4.2.2. Síntesis de 5-hidroxi-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (3)

En un matraz Schlenk seco en el que previamente se ha realizado vacío y llenado con argón, se introducen manteniendo una atmósfera inerte a 0 °C y bajo agitación 0.5273 g de **4**, 26 mL de THF y 0.7 mL de TEA seco, se mantiene bajo agitación a esta temperatura durante 20 minutos. Una vez transcurrido este tiempo se añade gota a gota 0.23 mL de cloro metil metil éter, terminada la adición se deja calentar a temperatura ambiente y se mantiene bajo agitación durante 16 h.

Pasado este tiempo se realiza una TLC para comprobar que ha terminado la reacción, se añaden 100 mL de una disolución saturada de NH₄Cl ac. y se transfiere a un embudo de extracción. La mezcla se diluye con 120 mL de H₂O, se separa la fase orgánica y la acuosa se extrae con 3x75 mL de AcOEt. Las fases orgánicas se combinan y secan con Na₂SO₄, el contenido se filtra y se recoge en un matraz de fondo redondo, se realiza una nueva TLC y se procede a la eliminación de disolventes en el rotavapor y la rotatoria. El producto obtenido se purifica por columna cromatográfica (AcOEt/Hex 1:6) obteniéndose **3** como un sólido blanco con un **30%** de rendimiento.

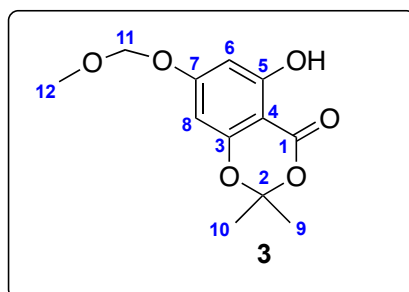


Figura 13. 5-hidroxi-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (3)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 10.42 (s, 1H; OH), 6.30 (d, *J*=2.2 Hz, 1H; H₈), 6.14 (d, *J*=2.2 Hz, 1H; H₆), 5.19 (s, 2H; H₁₁), 3.49 (s, 3H; H₁₂), 1.75 (s, 6H; H₉; H₁₀).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 165.24 (C₁), 165.14 (C₅), 162.89 (C₇), 156.87 (C₃), 106.99 (C₄), 97.96 (C₈), 95.89 (C₂), 94.09 (C₁₁), 93.80 (C₆), 56.50 (C₁₂), 25.66 (C₉; C₁₀).

4.2.3. Síntesis de 2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-il (2a)

En un matraz Schlenk seco en el que previamente se ha realizado vacío y llenado con argón, se introducen manteniendo una atmósfera inerte a 0 °C y bajo agitación 0.174 g de **3**, 7 mL de CH₂Cl₂, 0.11 mL de piridina y 0.17 mL de anhídrido trifluórometanosulfónico. La mezcla se mantiene bajo agitación a 0 °C durante una hora y a continuación se deja calentar a temperatura ambiente, la mezcla se deja agitando durante 18 h.

Transcurrido este tiempo se realiza una TLC (AcOEt/Hex 1:6) para comprobar que ha finalizado la reacción y se diluye con 32 mL de H₂O, se transfiere a un embudo de extracción y se separa la fase orgánica y la acuosa se extrae con 3x100 mL de CH₂Cl₂. Las fases orgánicas se combinan y secan con Na₂SO₄, el contenido se filtra y se recoge en un matraz de fondo redondo, se realiza una nueva TLC y se procede a la eliminación de disolventes en el rotavapor y la rotatoria. El producto obtenido se purifica por columna cromatográfica (AcOEt/Hex 1:6) obteniéndose **2a** como un aceite transparente con un **69%** de rendimiento.

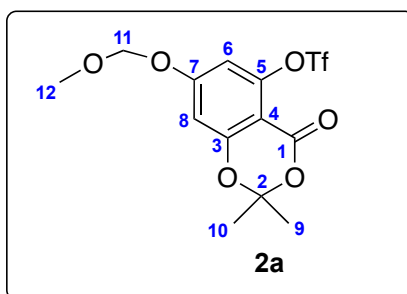


Figura 14. 2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-ilo trifluorometanosulfonato (**2a**)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 6.69 (d, *J*=2.3 Hz, 1H; H₈), 6.66 (d, *J*=2.3 Hz, 1H; H₆), 5.23 (s, 2H; H₁₁), 3.51 (s, 3H; H₁₂), 1.75 (s, 6H; H₉; H₁₀).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 163.26 (C₁), 158.59 (C₅), 157.12 (C₇), 149.81 (C₃), 118.73 (q, *J*=320.7 Hz, CF₃) 106.66 (C₂), 106.46 (C₆), 103.69 (C₈), 101.81 (C₄), 94.69 (C₁₁), 56.77 (C₁₂), 25.53 (C₉; C₁₀).

4.2.4. Síntesis de (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**1**)

En un matraz Schlenk seco en el que previamente se ha realizado vacío y llenado con argón, se introducen manteniendo una atmósfera inerte y bajo agitación 0,181 g del compuesto **2a** en 5 mL de DMF seco, 0.08 mL de estireno (**2b**), 0.07 mL de TEA seco, 0.0158 g de acetato de paladio (II) y 36.9 mg de trifenilfosfina. La mezcla de reacción se calienta a 80 °C y se mantiene bajo agitación durante 18 h.

Una vez completado el tiempo de reacción se deja enfriar a temperatura ambiente y se realiza una TLC del crudo para comprobar el avance de ésta. Tras esto se diluye con 37 mL de H₂O y 70 mL de éter, se transfiere a un embudo de extracción y se separa la fase orgánica y la acuosa se extrae con 3x70 mL de éter. Las fases orgánicas se combinan y se lavan con 150 mL de brine y se secan con Na₂SO₄, se filtra, se realiza una nueva TLC y se eliminan disolventes en el rotavapor y la rotatoria. El residuo final se purifica por columna cromatográfica (AcOEt/Hex 1:10) obteniéndose **1** (0,154 g) como un aceite amarillo con un **96%** de rendimiento.

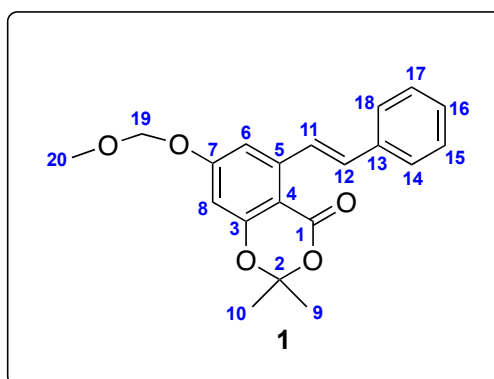


Figura 15. (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**1**)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8.28 (d, *J*=16.2 Hz, 1H; H₁₂), 7.60 (d, *J*=7.3 Hz, 2H; H₁₄; H₁₈), 7.41-7.27 (m, 3H; H₁₅; H₁₇;H₁₆), 7.09 (d, *J*=16.2 Hz, 1H; H₁₁), 7.07 (d, *J*=2.4 Hz, 1H; H₈), 6.58 (d, *J*=2.4 Hz, 1H; H₆), 5.26 (s, 2H; H₁₉), 3.53 (s, 3H; H₂₀), 1.75 (s, 6H; H₉; H₁₀).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 162.46 (C₁), 160.33 (C₃), 158.70 (C₇), 143.61 (C₅), 136.99 (C₁₃), 132.77 (C₁₄;C₁₈), 128.69 (C₁₅;C₁₇), 128.23 (C₁₆), 127.23 (C₁₁), 126.76 (C₁₂), 109.25 (C₈), 105.14 (C₂), 104.94 (C₄), 102.88 (C₆), 94.16 (C₁₉), 56.51 (C₂₀), 25.68 (C₉; C₁₀).

5. Conclusiones

- Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica que ha permitido diseñar una ruta sintética hacia la molécula objetivo (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (**1**). Dicha ruta parte de ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico y en un proceso de 4 etapas se pudo acceder al producto deseado.
- El primer paso de la ruta implicó la protección simultánea del ácido carboxílico y uno de los hidroxilos del material de partida en forma de acetónido. A continuación, se protegió otro de los grupos hidroxilo con el grupo protector MOM (metoximetil éter). El hidroxilo restante se transformó en un triflato con el objetivo de llevar a cabo una reacción tipo Heck en el último paso de la secuencia.
- Todos los intermedios de la ruta sintética y el producto final fueron oportunamente caracterizados a través de experimentos de Resonancia Magnética Nuclear.
- El desarrollo de este trabajo permitió familiarizarse con técnicas habituales en el contexto de síntesis de productos naturales como son, por ejemplo, la protección de grupos funcionales y las reacciones de acoplamiento cruzado catalizadas por complejos de paladio.

6. Bibliografía

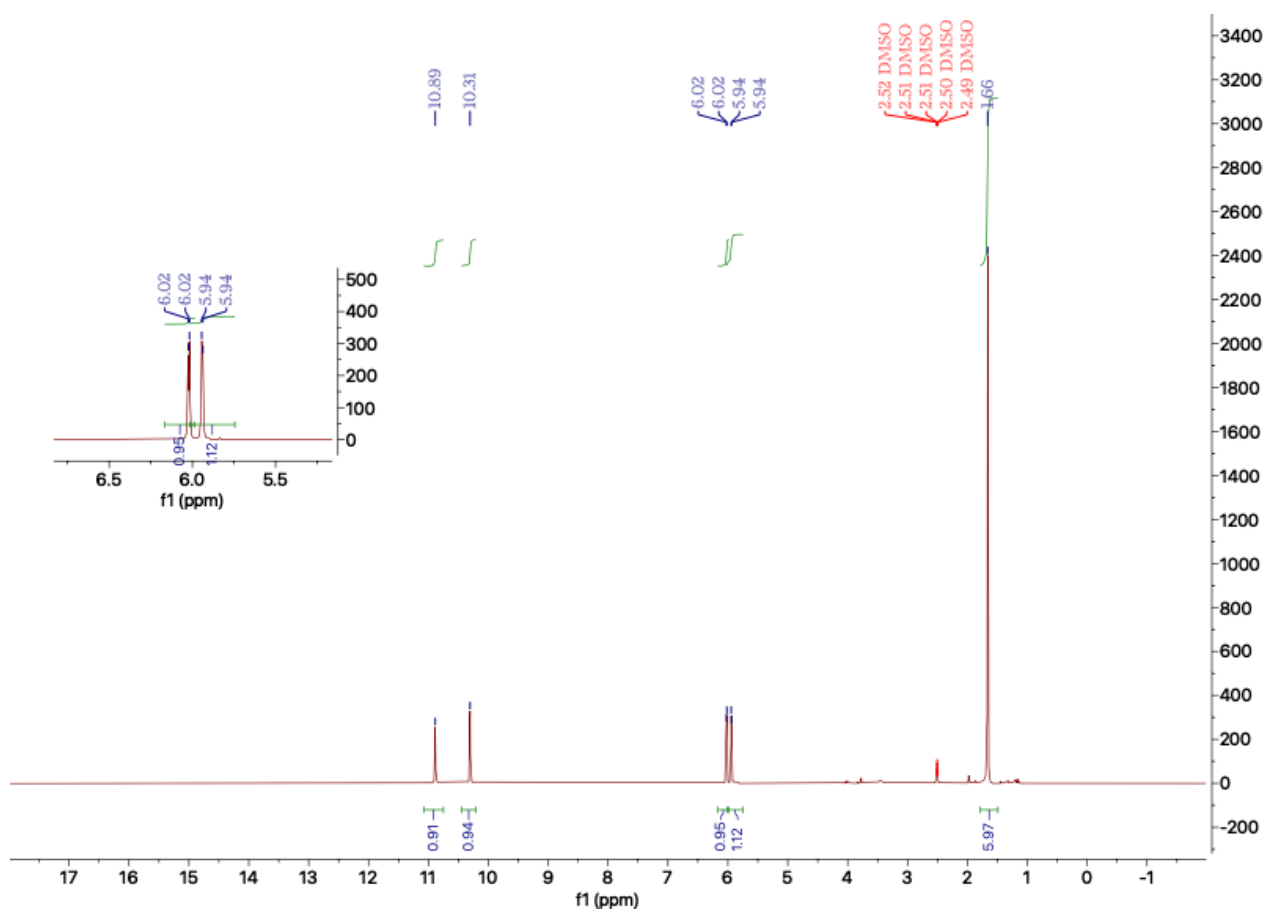
- [1] T. Teka, L. Zhang, X. Ge, Y. Li, L. Han, X. Yan, *Phytochemistry* **2022**, *197*, 113
- [2] A. Valletta, L. M. Iozia, F. Leonelli, *Plants* **2021**, *10*, 90
- [3] P. Pecyna, J. Wargula, M. Murias, M. Kucinska, *Biomolecules* **2020**, *10*, 1111
- [4] B. C. Akiwumi, K. M. Bordun, H. D. Anderson, *I. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 792
- [5] M. Dvorakova, P. Landa, *Pharmacol. Res.* **2017**, *124*, 126
- [6] M. W. Hussain, A. Sajjad, W. A. Sumra, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2021**, *39*, 3225
- [7] C. A. İlknur, G. Ebru, V. Hasibe, G. D. Hatice, *Mol. Bio. Reports* **2022**, *49*, 11947
- [8] I. Song, H. Lim, S. Chun, S. B. Lee, D. Oh, S. Hong, *J. Nat. Prod.* **2021**, *84*, 1366

7. Anexos

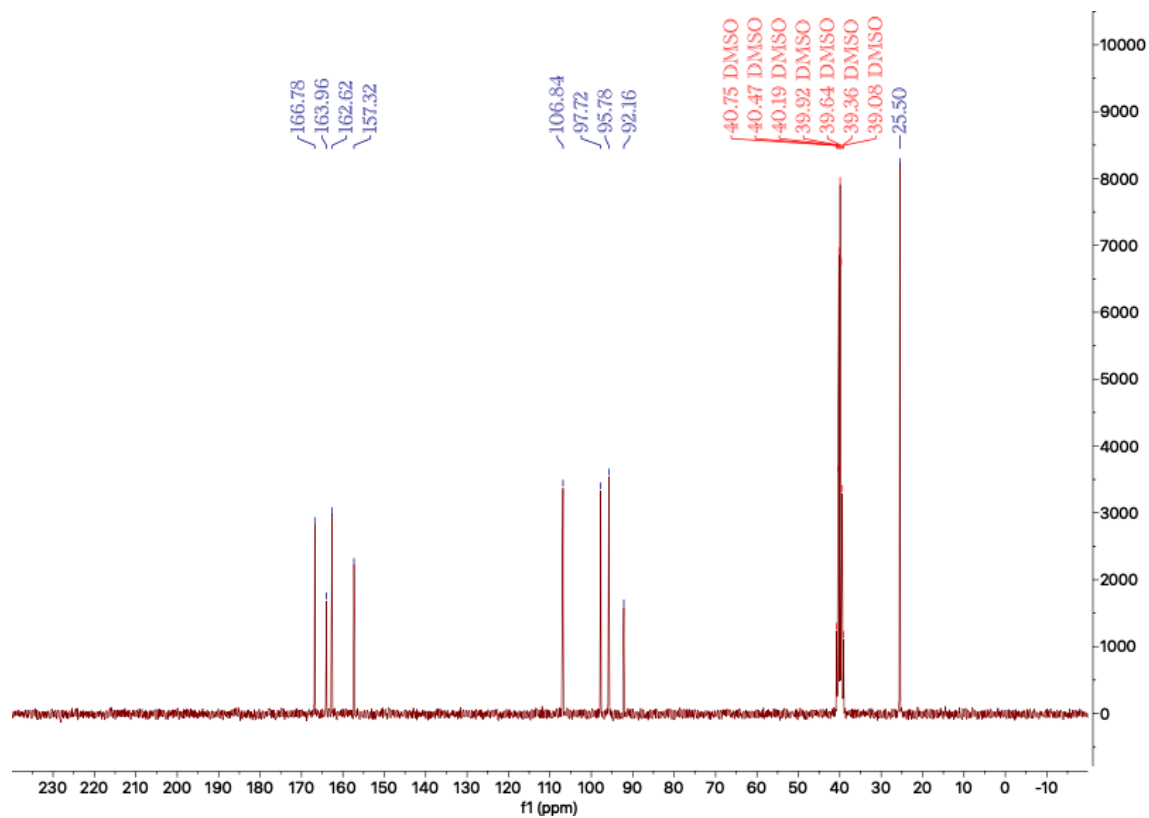
7.1. Espectros de 5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (4) purificado

Espectros del compuesto purificado realizados en las dependencias de los Servicios Científico Técnico de la Universidad de Oviedo, con espectrómetro Bruker AV-300 equipado con un intercambiador automático de muestras.

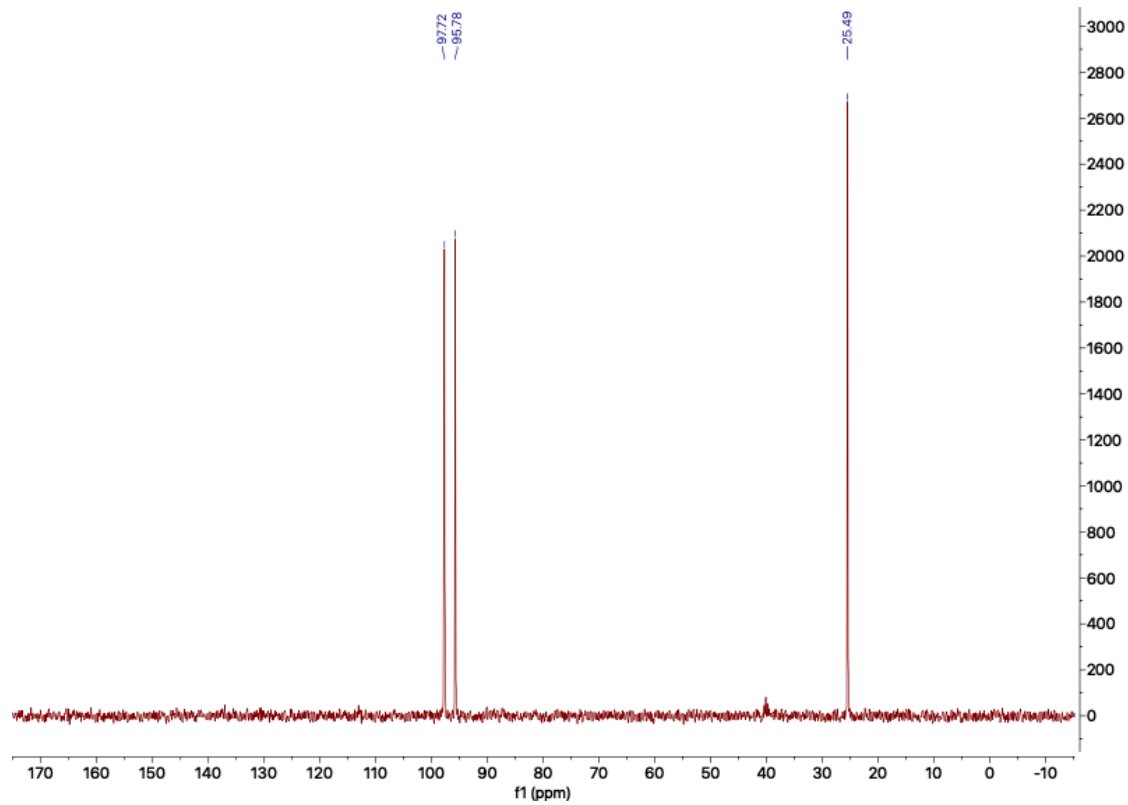
7.1.1. Espectro ^1H RMN



7.1.2. Espectro ^{13}C



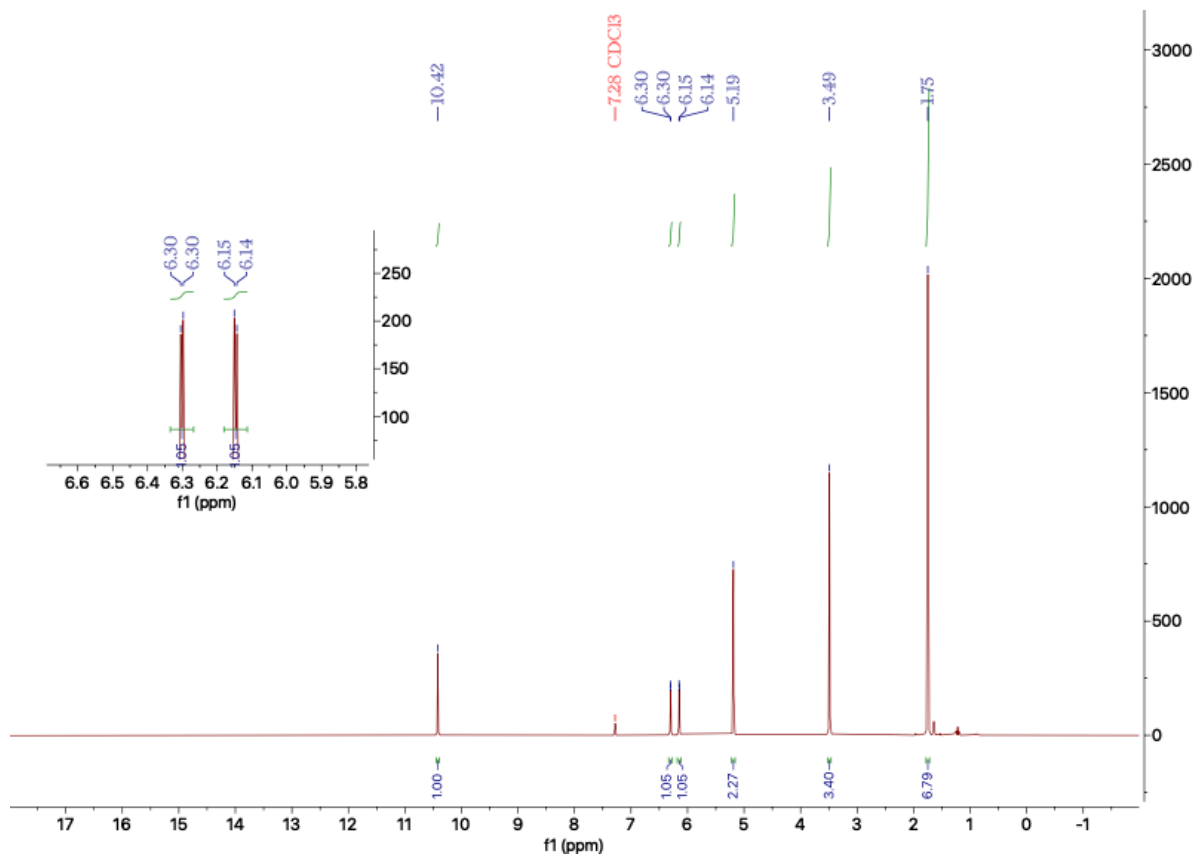
7.1.3. Espectro DEPT



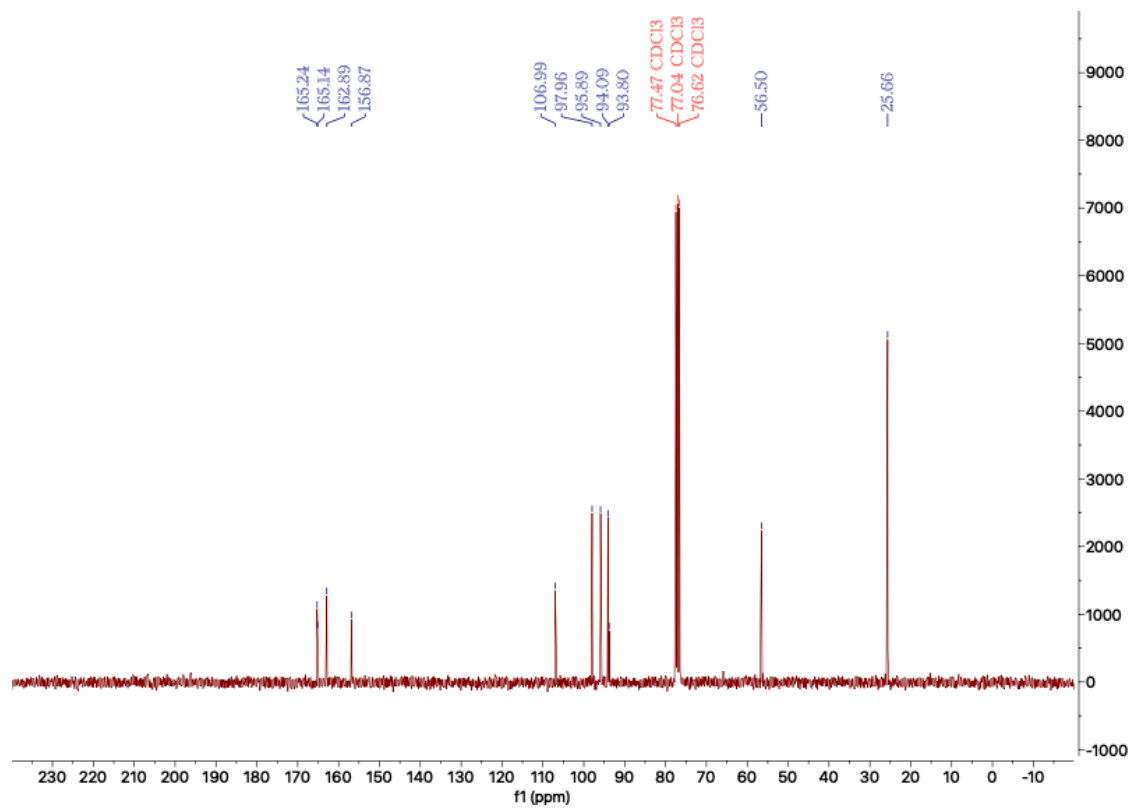
7.2. Espectros de 2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-ilo trifluorometanosulfonato (2a) purificado

Espectros del compuesto purificado realizados en las dependencias de los Servicios Científico Técnico de la Universidad de Oviedo, con espectrómetro Bruker AV-300 equipado con un intercambiador automático de muestras.

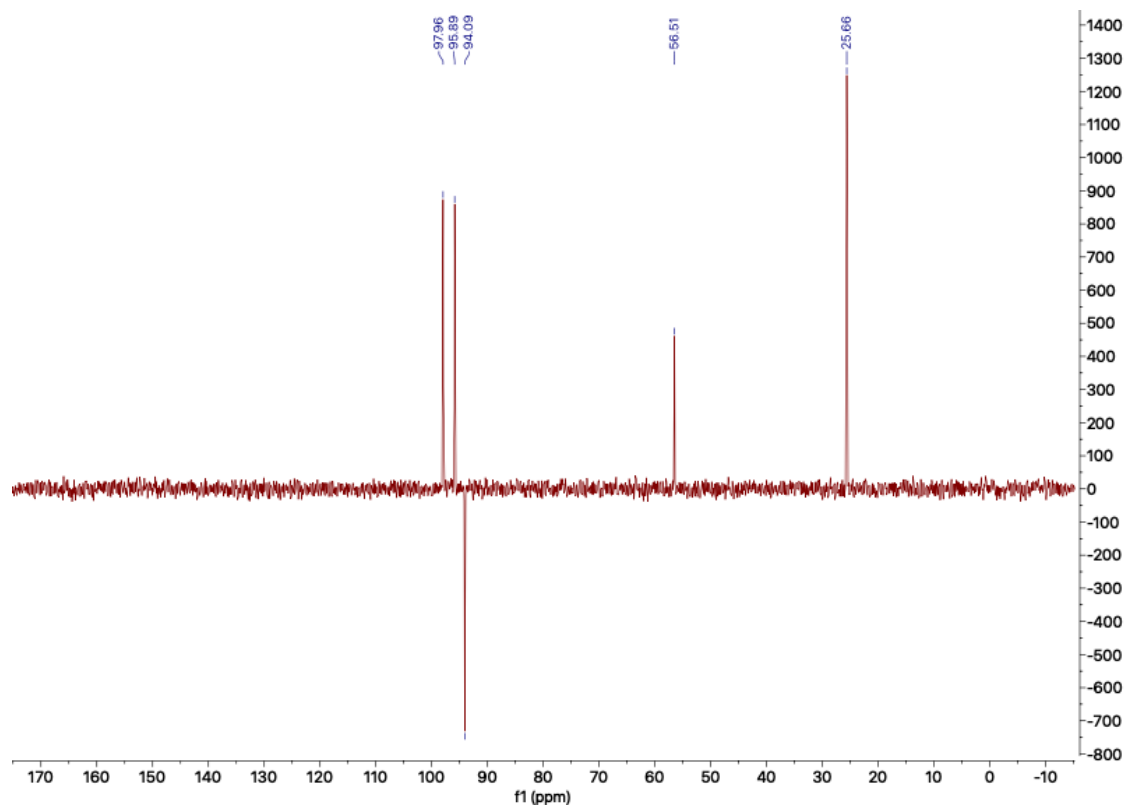
7.2.1. Espectro ^1H



7.2.2. Espectro ^{13}C



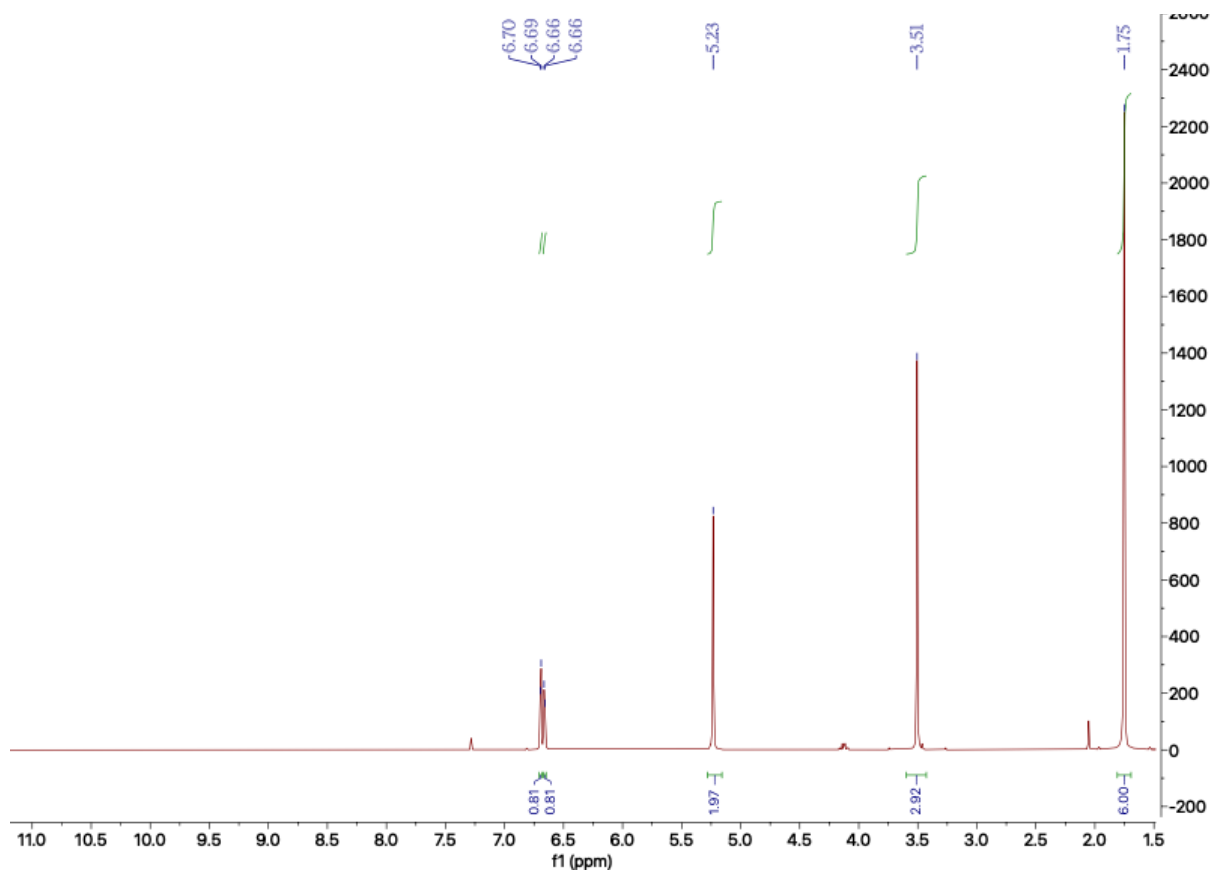
7.2.3. Espectro DEPT



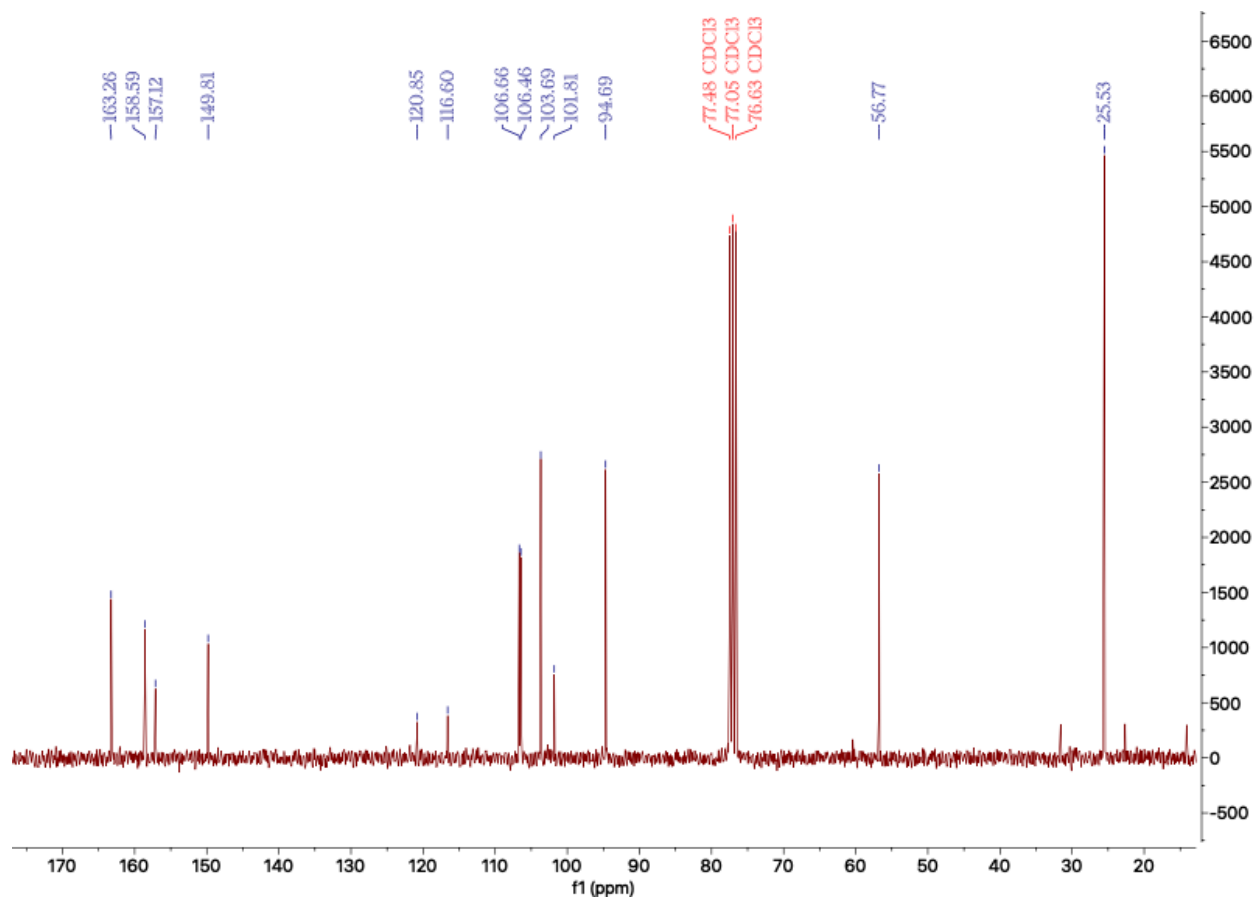
7.3. Espectros de 2,2-dimetil-7-(Metoximetoxi)-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-5-il (2a) purificado

Espectros del compuesto purificado realizados en las dependencias de los Servicios Científico Técnico de la Universidad de Oviedo, con espectrómetro Bruker AV-300 equipado con un intercambiador automático de muestras.

7.3.1. Espectro ^1H



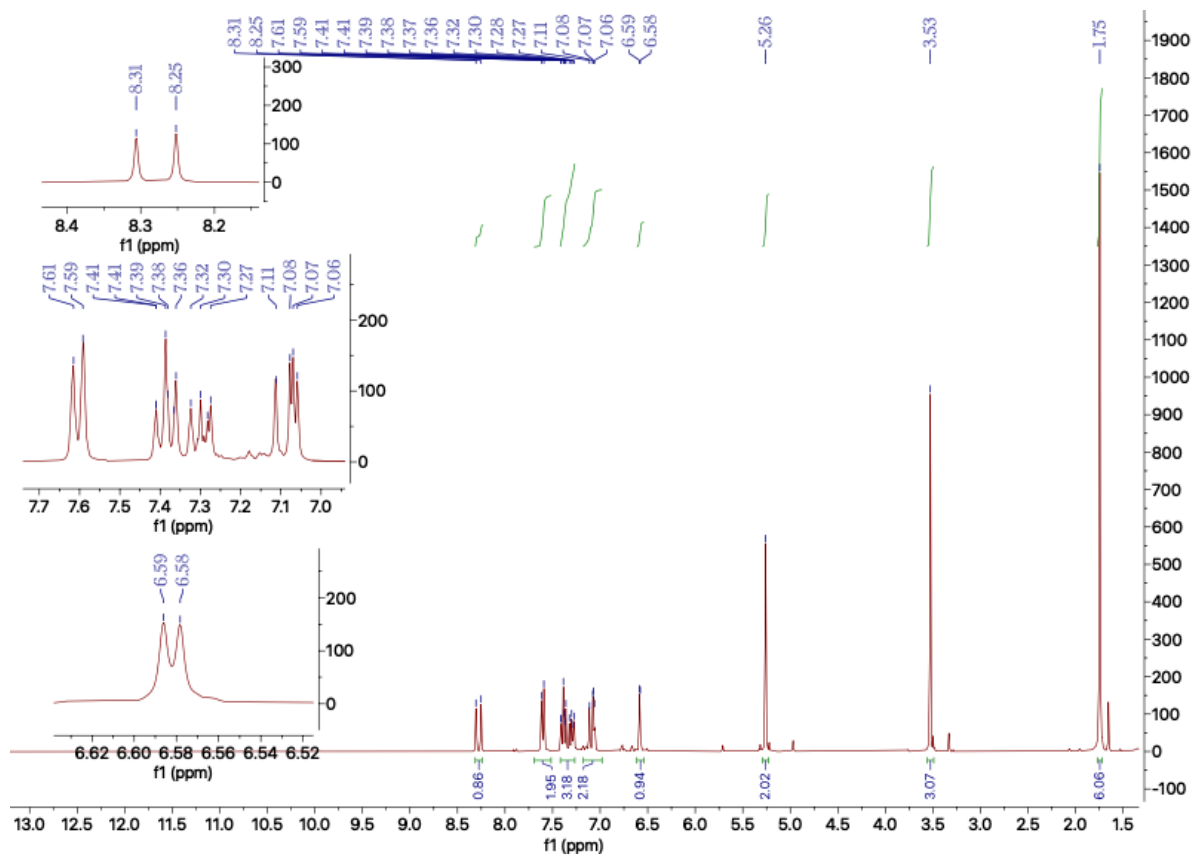
7.3.2. Espectro ^{13}C



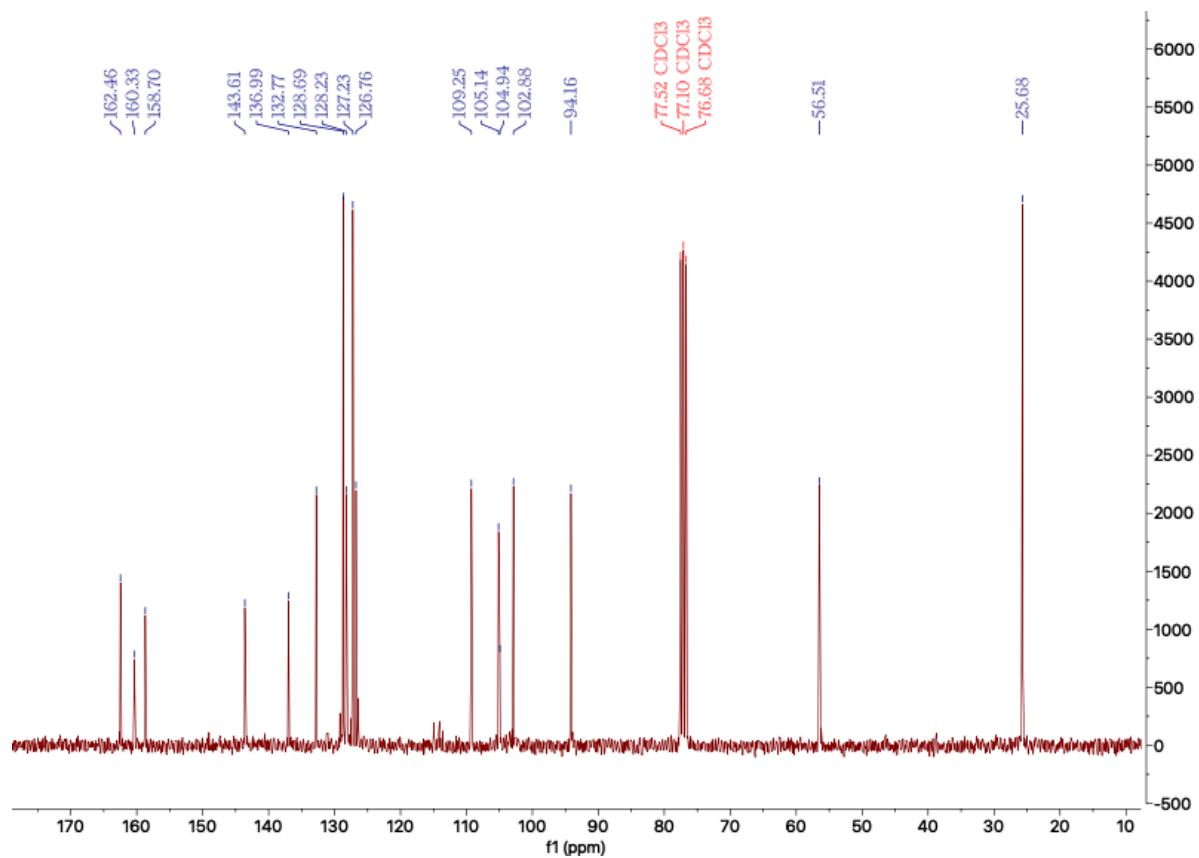
7.4. Espectros de (*E*)-5-estiril-2,2-dimetil-7-(metoximetoxi)-4H-benzo[d][1,3]-dioxin-4-ona (1) purificado

Espectros del compuesto purificado realizados en las dependencias de los Servicios Científico Técnico de la Universidad de Oviedo, con espectrómetro Bruker AV-300 equipado con un intercambiador automático de muestras.

7.4.1. Espectro ^1H



7.4.2. Espectro ^{13}C



7.4.3. Espectro DEPT

