



Productos inesperados en la transformación química de derivados de la podofilotoxona a través de la reacción de Takai

J. Andrés Abad-Reyes^{1*}, José Luis López-Pérez², Carolina Santiago¹, Paulino Delgado¹, Alí Bahsas¹, Juan Manuel Amaro-Luis¹ y Esther del Olmo¹

- 1) Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- 2) Departamento de Química Farmacéutica, Universidad de Salamanca, Salamanca, España.

(* abadjos@ula.ve)

Recibido: 14/02/2008

Revisado: 22/04/2008

Aceptado: 30/04/2008

Resumen:

En un intento por preparar, a partir de la podofilotoxona y a través de varias rutas, el éster metílico del ácido 7-deoxo-7-metilen-homothuriférico, usando la reacción de Takai, se obtuvieron varios productos inesperados. En este trabajo se describe la secuencia de reacciones utilizada, la caracterización estructural de los productos obtenidos y también se comentan brevemente los posibles mecanismos de formación de estos productos.

Palabras claves: Lignan; Podofilotoxona; Ácido thuriférico; Reacción de Takai.

Abstract

In an unsuccessful attempt to prepare through several routes the 7-deoxo-7-methylene-homothuriferic acid methyl ester from podophyllotoxone, using the Takai reaction, several unexpected products were obtained. In this paper the reaction sequences used and the structural characterization of products obtained are described, as well as an approach on their possible formation mechanisms is briefly commented.

Keywords: Lignan; Podophyllotoxone; Thuriferic acid; Takai reaction.

Introducción

La podofilotoxina **1** es un lignano natural de gran utilidad como producto de partida para el diseño de nuevos agentes quimioterapéuticos utilizados contra el cáncer. Ejemplos de estos agentes son los fármacos conocidos como etopósido y tenipósido (Fig. 1), los cuales resultan útiles en el tratamiento de diversas neoplasias tales como linfomas, leucemias agudas, el sarcoma de Kaposi asociado al síndrome de inmunodeficiencia adquirida y cánceres de pulmón, ovario, testículo, vejiga y cerebro¹⁻³. La podofilotoxina **1** es un potente inhibidor de la polimerización de la tubulina, una proteína que constituye los microtúbulos del huso acromático^{4,5}. Los derivados semisintéticos etopósido y tenipósido, actúan como inhibidores de la topoisomerasa II, una enzima nuclear que resuelve diversos problemas topológicos del ADN, los cuales surgen en procesos biológicos involucrados en la

división celular, tales como transcripción, recombinación-replicación y repartición cromosómica^{6,7}.

El etopósido y el tenipósido, han sido sometidos a extensas modificaciones estructurales con la finalidad de incrementar su eficacia clínica y superar algunos de los problemas asociados con su uso, tales como desarrollo de resistencias, mielosupresión y baja biodisponibilidad por vía oral^{8,9}; estas modificaciones estructurales, además, han permitido avanzar en el entendimiento de las relaciones estructura-actividad¹⁰. Entre los productos más interesantes generados en estas modificaciones estructurales, destacan el TOP53, el GL331 y el etopofos¹¹ (Fig. 1). Etopofos es un profármaco que tiene incorporado un grupo fosfato en el hidroxilo situado en C-4', lo cual hace que el mismo sea soluble en agua; el etopofos es reconvertido "in vivo" a etopósido por acción de las fosfatasa endógenas, exhibiendo un perfil farmacológico y fármaco-cinético si-

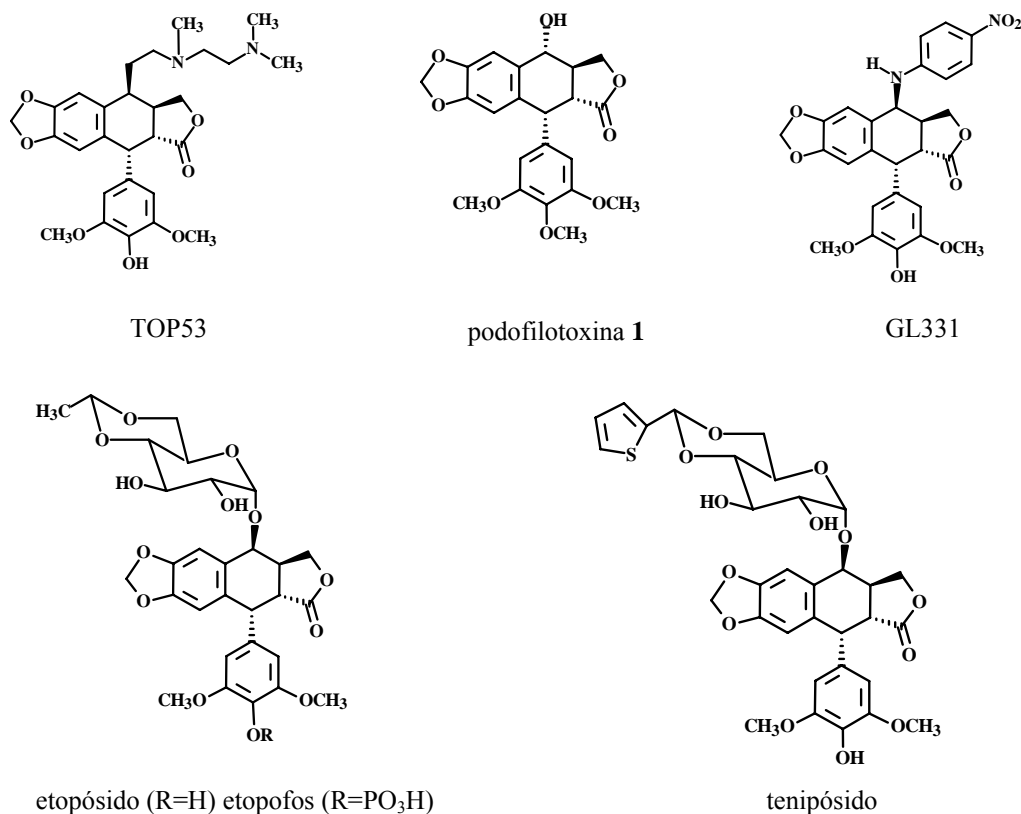


Figura 1: Fármacos análogos a la podofilotoxina 1

milar al de éste, con notable mejora de su biodisponibilidad, aunque no de su toxicidad. El GL331 es un derivado 7 β -arilamino del etopósido, que también actúa como inhibidor de las topoisomerasas tipo II y que es muy efectivo frente a algunas líneas celulares cancerosas que son resistentes al etopósido¹². El TOP53 es un derivado 7 β -alquilado del etopósido que, de igual manera, exhibe una notable actividad contra células cancerosas insensibles a los tratamientos con etopósido¹³.

En un esfuerzo por diseñar nuevas estructuras de interés terapéutico, nuestro grupo ha sintetizado una serie de derivados de la podofilotoxina 1 con excelente actividad contra un gran número de células cancerosas^{14,15}. Continuando con esta línea de investigación, intentamos preparar el dieno 12, a partir de la podofilotoxina 1. El planteamiento propuesto consistía en obtener por oxidación de la podofilotoxina 1, la podofilotoxona 2, y a partir de ésta, por apertura de la lactona, el ácido thuriférico 3 el cual se metilaría para dar el éster 4 y éste se transformaría posteriormente en el dieno 12 mediante la reacción de Takai¹⁶. Esta reacción es un excelente procedimiento para obtener olefinas a partir de carbonilos α,β -insaturados, especialmente en los casos en que la reacción de Wittig no es procedente por incompatibilidad del sustrato¹⁷, como ocurre con la podofilotoxona 2¹⁸.

El empleo de la reacción de Takai, permitiría obtener derivados de la podofilotoxona 2 y sus congéneres, conteniendo un sistema de dieno conjugado, los cuales podrían emplearse como sustratos en reacciones de Diels-Alder, dirigidas a generar nuevas estructuras con uno o más anillos adicionales. Nuestro intento no resultó exitoso en este objetivo, puesto que no se logró sintetizar el dieno 12 por esta vía, ni tampoco por las vías alternativas a través de los compuestos 5 y 6 (Fig. 2). No obstante, como productos no deseados se lograron identificar una serie de compuestos, algunos de los cuales no han sido descritos en la literatura. Por considerarlo de utilidad para la comunidad científica, en el presente trabajo se describen las reacciones llevadas a cabo, la identificación y elucidación estructural de los productos obtenidos y un breve planteamiento de los posibles mecanismos de reacción.

Parte Experimental

1. Técnicas generales

1.1. *Puntos de Fusión:* Se determinaron en un aparato Büchi 510, en un baño de silicona.

1.2. *Espectros de RMN ¹H y ¹³C:* Se realizaron en un espectrómetro Bruker ARX 400 (400 MHz), utilizando

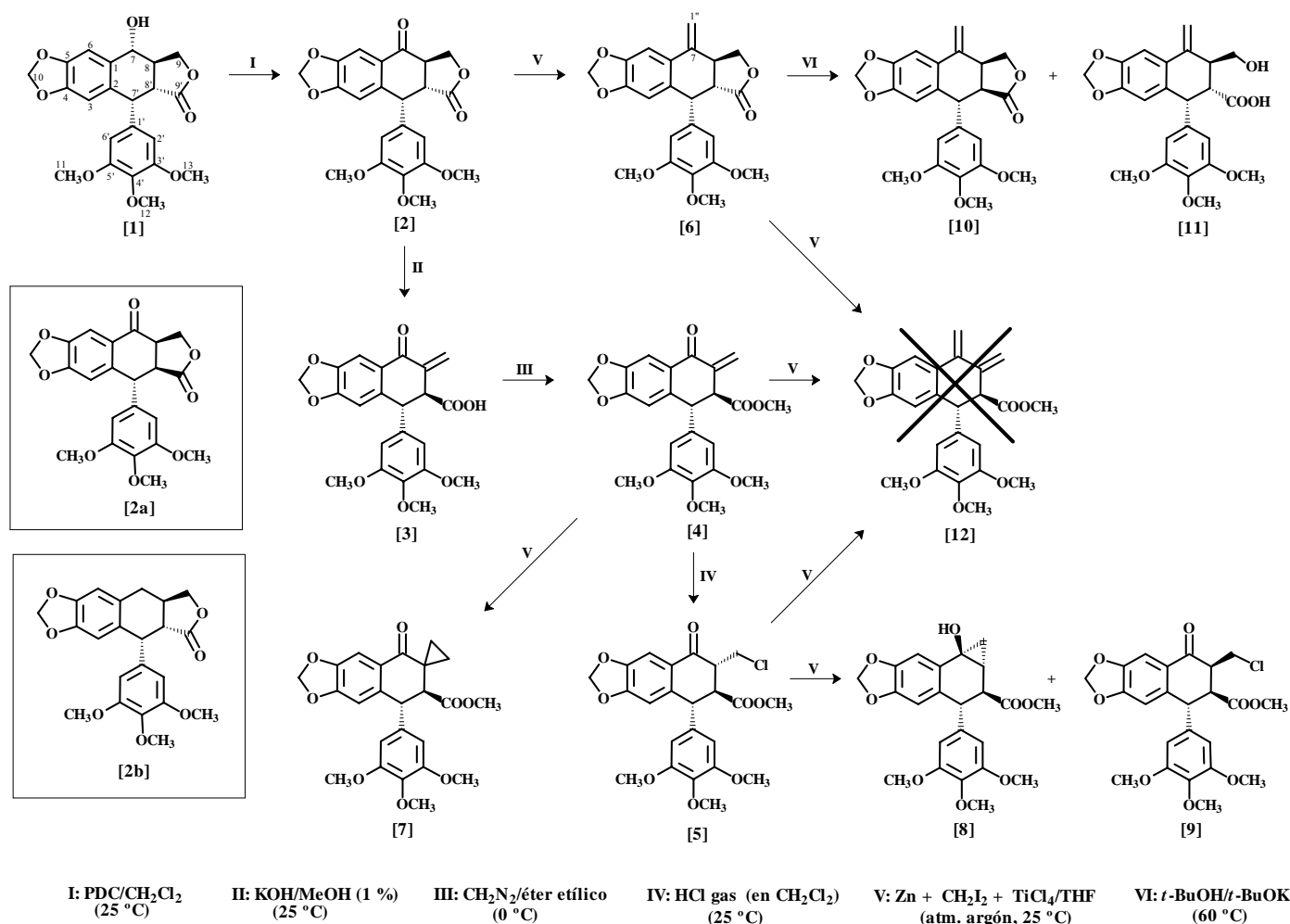


Figura 2. Esquema sintético

CDCl₃ y TMS. Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

1.3. Cromatografía de Capa Fina: Cromatofolio de gel de sílice Polychrom (SiF₂₅₄) de 0,25 mm de espesor. Para el revelado se utilizó una disolución de ácido sulfúrico al 10% en etanol, y posterior calentamiento a 100 °C durante algunos minutos.

1.4. Cromatografía en Columna: Se utilizó gel de sílice 60 (63-200 μ m, 70-230 mesh) de la casa Merck en una proporción de 40 g de gel por cada gramo de sustancia a cromatografiar.

2. Productos de partida y síntesis de compuestos

2.1. Podofilotoxina 1: 100 g de resina comercial (Aldrich) de *Podophyllum emodi* (Berberidaceae) fueron extraídos con acetato de etilo (AcOEt) y después fraccionados con una disolución acuosa al 1% de hidróxido sódico. La parte neutra fue recrystalizada sucesivamente en benceno,

obteniéndose 25 g (25%) de podofilotoxina **1** [polvo blanco amorfo; PF: 183-185 °C; $[\alpha]_D = -122,2$ (c=0,99, cloroformo)]. RMN ¹H (Tabla 1) y RMN ¹³C (Tabla 2).

2.2. Podofilotoxona 2: 8,20 g (20,0 mmoles) de podofilotoxina **1**, disueltos en 50 mL de diclorometano se trataron con 7,70 g (20,0 mmoles) de dicromato de piridinio (PDC). La mezcla se mantuvo en agitación magnética durante 24 horas a temperatura ambiente. Mediante cromatografía “flash”, utilizando como eluyentes hexano y AcOEt en proporción 1:1, se obtuvieron 6,9 g (84%) de podofilotoxona **2** [polvo blanco; PF= 202 °C; $[\alpha]_D = -112,5$ (c= 1, cloroformo)]. RMN ¹H (Tabla 1) y RMN ¹³C (Tabla 2).

2.3. Ácido Thuriférico 3: 1,0 g de podofilotoxona **2** fue tratado con KOH/MeOH (1%) y mantenido en agitación durante 5 minutos a temperatura ambiente. La disolución básica fue extraída con AcOEt para eliminar la podofilotoxona que quedó sin reaccionar, y luego fue acidulada con HCl 2N y extraída de nuevo con AcOEt; la

segunda fase orgánica se lavó con una disolución acuosa de NaHCO₃ hasta neutralidad, luego con agua y finalmente se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La evaporación del disolvente permitió obtener 880 mg (88%) de ácido thuriférico **3**. RMN ¹H (Tabla 1) y RMN ¹³C (Tabla 2).

2.4. Thuriferato de Metilo 4: 300 mg (0,73 mmoles) de ácido thuriférico **3**, se hicieron reaccionar con diazometano en éter etílico, obteniéndose thuriferato de metilo **4**, en forma cuantitativa. RMN ¹H (Tabla 1) y RMN ¹³C (Tabla 2).

2.5. 9-Cloro-8,9-Dihydrothuriferato de Metilo 5: A través de una disolución de 250 mg (0,59 mmoles) de thuriferato de metilo **4**, en 50 mL de diclorometano anhidro, se hizo pasar una corriente de cloruro de hidrógeno seco durante 30 minutos. La corriente de cloruro de hidrógeno se generó *in situ* por goteo de ácido sulfúrico concentrado, sobre una disolución acuosa saturada de NaCl y se secó haciéndola pasar por un frasco lavador que contiene ácido sulfúrico, para luego dejarla fluir a través de la muestra. De esta manera se obtuvo el derivado clorado **5** en forma cuantitativa. RMN ¹H (Tabla 1) y RMN ¹³C (Tabla 2).

2.6. Compuesto 6: A 0,42 g de zinc (6,5 mmoles) suspendidos en 10 mL de THF anhidro y mantenidos a 20 °C bajo atmósfera de argón, se le añadieron 300 µL (3,7 mmoles) de diyodometano. La mezcla se mantuvo en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se enfrió a 0 °C y se le añadieron 400 µL de TiCl₄ (3,7 mmoles). Al cabo de 30 minutos y a temperatura ambiente, se le añadieron 300 mg (0,73 mmoles) de podofilotoxona **2** disueltos en 15 mL de THF anhidro. La reacción se mantuvo en agitación durante 2 horas adicionales. Posteriormente se diluyó con 20 mL de CH₂Cl₂, se lavó con HCl 2N y con agua saturada de NaCl. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó, obteniéndose 250 mg de un crudo de reacción, que se resolvió mediante cromatografía “flash” empleando como adsorbente gel de sílice y como eluyente mezclas hexano- AcOEt (4:1). De la fracción 19 se obtuvo **6** (60%), como un polvo blanco amorfo. P.F = 160-162 °C; [α]_D = -141 (c=1, cloroformo); IR, ν_{max.} (cm⁻¹): 2999, 2965, 2942, 2904, 2841, 1781, 1588, 1504, 1480, 1463. EM, (m/z): 410 [M⁺]. RMN ¹H (Tabla 1) y RMN ¹³C (Tabla 2).

2.7. Compuesto 7: Mediante la metodología y condiciones empleadas para la obtención del producto **6**, y utilizando 0,14 g de zinc (2,13 mmoles) suspendidos en 10 µL de THF anhidro, 100 µL (1,23 mmoles) de diyodometano, 130 µL de TiCl₄ (1,20 mmoles) y 100 mg (0,23 mmoles) de thuriferato de metilo **4**, disueltos en 10 mL de THF anhidro, se obtuvo un crudo de reacción, que fue resuelto mediante cromatografía “flash” en columna de gel de sílice, eluida con mezclas hexano-AcOEt (7:3). De la

fracción 11 se separó el compuesto **7** (66%) como un polvo blanco amorfo. [α]_D = -79 (c=0,5, cloroformo). EM, (m/z): 440 [M⁺]. RMN ¹H (Tabla 3) y RMN ¹³C (Tabla 4).

2.8. Compuestos 8 y 9: La obtención de estos productos se llevó a cabo utilizando, en las mismas condiciones, la metodología descrita en los dos casos anteriores. En esta oportunidad la reacción se realizó con 0,14 g de zinc (2,13 mmoles) suspendidos en 10 mL de THF anhidro, 100 µL (1,23 mmoles) de diyodometano, 130 µL de TiCl₄ (1,20 mmoles) y 100 mg (0,22 mmoles) de **5**, disueltos en 10 mL de THF anhidro. Al completar el tiempo de reacción (2 horas) se recuperó un residuo crudo en el que se detectaron por TLC tres manchas, observándose que la más intensa correspondía a producto de partida sin reaccionar. Mediante cromatografía “flash” sobre columna de gel de sílice, eluida con mezclas hexano-AcOEt en orden de polaridad creciente, se logró separar de la fracción 15 (7:3) el producto **8** (15%) y de la 34 (3:2) el **9** (7%). **8:** Aceite amarillo soluble en cloroformo y diclorometano. EM, (m/z): 428 [M⁺]. **9:** Polvo blanco amorfo. RMN ¹H (Tabla 3) y RMN ¹³C (Tabla 4). Se recuperó material de partida en cantidades considerables no cuantificadas.

2.9. Compuestos 10 y 11: A 30 mg (0,073 mmoles) de **6** disueltos en 2 mL de *t*-BuOH se le añadieron 3 mL de *tert*-butoxido de potasio (*t*-BuOH/*t*-BuOK al 1%), y la reacción se mantuvo en agitación a reflujo (60 °C), durante 1 hora. Posteriormente se evaporó el disolvente, se añadió agua y se extrajo con AcOEt, recuperándose una fase orgánica que después de lavarla con disolución acuosa saturada de NaCl y secarla con Na₂SO₄ anhidro, se evaporó, obteniéndose 18 mg de **10** como un polvo blanco. RMN ¹H (Tabla 3) y RMN ¹³C (Tabla 4). La fase acuosa se neutralizó con HCl 2N y luego se extrajo con AcOEt de la manera habitual; una vez evaporado el disolvente, se obtuvieron 7 mg de **11** como un polvo blanco amorfo. RMN ¹H (Tabla 3) y RMN ¹³C (Tabla 4).

Resultados y discusión

El producto de partida, podofilotoxina **1**, fue aislado de la resina comercial de *Podophyllum emodi* y transformado en podofilotoxona **2** mediante oxidación con dicromato de piridinio (PDC). Durante su purificación por cromatografía “flash”, se detectó la presencia de picropodofilotoxona **2a**, formada por epimerización del C-8' en el curso de la reacción. Los compuestos **2**, **3**, **4** y **5** se obtuvieron siguiendo la metodología utilizada por López y colaboradores^{14,15}. La caracterización de estos productos se realizó mediante comparación de sus datos espectroscópicos de RMN ¹H y de RMN ¹³C (Tablas 1 y 2) con los descritos en la bibliografía^{19,20}.

Tabla 1: Espectros de RMN-¹H (400Mz) de los compuestos **1**, **2**, **3**, **4**, **5** y **6**

H	1	2	3	4	5	6
3	6,49 <i>s</i>	6,71 <i>s</i>	6,55 <i>s</i>	6,57 <i>s</i>	6,28 <i>s</i>	6,54 <i>s</i>
6	7,11 <i>s</i>	7,52 <i>s</i>	7,57 <i>s</i>	7,61 <i>s</i>	7,55 <i>s</i>	7,22 <i>s</i>
7	4,77 <i>d</i> (8,4)	-	-	-	-	-
8	2,61-2,81 <i>m</i>	3,50 <i>m</i>			3,30 <i>m</i>	3,20-3,39 <i>m</i>
9 a	4,50-4,56 <i>m</i>	3,35 <i>dd</i> (9,0; 7,0)	5,39 <i>sa</i>	5,36 <i>sa</i>	4,50 <i>dd</i> (11,7; 3,0)	4,56 <i>dd</i> (8,0; 6,3)
9 b	3,98-4,12 <i>m</i>	4,55 <i>dd</i> (10,0; 9,0)	6,37 <i>sa</i>	6,37 <i>sa</i>	3,60 <i>dd</i> (11,7; 3,0)	4,20 <i>dd</i> (10,0; 8,4)
10 a	5,95 <i>d</i> (1,1)	6,10 <i>s</i>	6,02 <i>s</i>	6,03 <i>s</i>	6,01 <i>s</i>	5,54 <i>s</i>
10 b	5,96 <i>d</i> (1,1)	6,11 <i>s</i>				5,53 <i>s</i>
11/13	3,73 <i>s</i>	3,75 <i>s</i>	3,72 <i>s</i>	3,75 <i>s</i>	3,83 <i>s</i>	3,76 <i>s</i>
12	3,80 <i>s</i>	3,81 <i>s</i>	3,80 <i>s</i>	3,81 <i>s</i>	3,88 <i>s</i>	3,80 <i>s</i>
2'/6'	6,37 <i>s</i>	6,34 <i>s</i>	6,22 <i>s</i>	6,24 <i>s</i>	6,39 <i>s</i>	6,36 <i>s</i>
7'	4,57 <i>d</i> (4,2)	4,85 <i>d</i> (4,2)	4,63 <i>d</i> (3,1)	4,64 <i>d</i> (3,7)	4,36 <i>d</i> (11,4)	4,66 <i>d</i> (4,7)
8'	2,61-2,81 <i>m</i>	3,33 <i>dd</i> (15,5; 4,2)	3,90 <i>d</i> (3,1)	3,91 <i>d</i> (3,7)	3,50 <i>dd</i> (11,4; 10,4)	2,88 <i>dd</i> (14,6; 4,7)
1''a/1''b	-	-	-	-	-	5,54 / 4,70 <i>d</i> (2,2)
OCH ₃	-	-	-	3,61 <i>s</i>	3,69 <i>s</i>	-

Tabla 2: Espectros de RMN-¹³C (100 MHz) de los compuestos **1**, **2**, **3**, **4**, **5** y **6**

C	1	2	3	4	5	6
1	133,4	128,3	127,0	127,58	126,6	128,2
2	131,3	141,6	139,5	106,80	136,9	132,4
3	109,8	109,7	108,5	148,10	108,4	110,3
4	147,6	152,2	152,7	153,01	147,5	147,7
5	147,6	148,2	147,6	108,96	152,9	148,6
6	106,4	106,1	106,2	139,78	106,2	103,4
7	72,8	192,4	184,1	184,09	191,3	141,4
8	40,9	43,5	137,9	138,43	48,9	37,8
9	71,3	67,0	126,0	125,96	41,8	69,8
10	101,4	102,5	101,7	102,05	102,1	101,5
11/13	56,5	56,7	55,8	56,25	56,3	56,2
12	56,5	60,8	60,3	60,83	60,9	60,7
1'	135,4	132,2	136,7	137,16	141,7	130,0
2'/6'	109,1	108,0	105,3	105,70	106,2	108,0
3' 5'	152,8	153,2	152,9	153,42	153,5	152,7
4'	137,7	138,0	136,7	137,16	137,5	137,2
7'	44,2	44,8	47,7	48,35	50,4	44,6
8'	45,4	46,7	54,9	55,59	51,5	47,4
9'	174,3	173,0	174,5	172,02	172,5	174,6
1''	-	-	-	-	-	105,5
OCH ₃	-	-	-	52,54	50,0	-

Tabla 3: Espectros de RMN-¹H (400Mz) de los compuestos 7-11

H	7	8	9	10	11
3	6,56 s	6,38 s	6,25 s	6,67 s	6,29 s
6	7,53 s	7,32 s	7,46 s	7,00 s	7,06 s
8	-	1,86 m	1,90-2,05 m	3,56-3,67 m	3,40 m
9a	1,68 m	1,23 dd (7,5; 5,7)	3,22 t (11,4)	4,49 dd (16,0; 8,8)	3,75-3,85 m
9b	1,02 m	0,84 t (5,7)	3,22 t (11,4)	4,19 dd (8,8; 2,2)	3,45-3,65 m
10a	6,03 s	5,95 d (1,3)	5,98 s	5,94 s	5,91 s
10b	6,02 s	5,92 d (1,3)	5,99 s		
11/13	3,75 s	3,76 s	3,81 s	3,74 s	3,78 s
12	3,82 s	3,82 s	3,86 s	3,79 s	3,81 s
2'/6'	6,27 s	6,18 s	6,36 s	6,33 s	6,37 s
7'	4,61 d (3,1)	4,44 d (4,4)	4,74 d (11,4)	4,55 dd (1,82)	4,36 d (10,5)
8'	2,76 d (3,5)	3,25 dd (3,5; 4,4)	2,9 dd	3,3 dd (8,8; 1,82)	3,25 dd (10,5; 2,2)
2''a	0,74 m			5,46 sa	5,50 sa
2''b	0,40 m			5,07 sa	5,13 sa
OCH ₃	3,62 s	3,64 s	3,58 s		

Tabla 4: Espectros de RMN-¹³C (100 MHz) de los compuestos 7-11

C	11	10	7	8	9
1	127,0	128,9	127,9	126,2	127,2
2	132,0	130,5	137,6	133,5	136,8
3	109,5	109,4	109,0	109,7	108,4
4	147,0	147,9	147,7	146,2	147,3
5	148,1	148,5	152,4	147,0	152,3
6	104,4	105,4	106,1	106,6	106,2
7	143,1	144,3	195,0	54,2	195,2
8	45,0	39,4	25,3	25,2	49,2
9	61,4	74,9	22,2	22,3	25,0
10	101,3	101,3	101,9	101,0	101,8
11/13	56,2	56,0	56,2	56,2	56,2
12	60,9	60,7	60,9	60,9	60,9
1'	141,0	138,1	138,3	139,6	141,9
2'/6'	106,6	104,4	105,7	105,3	106,2
3'/5'	153,1	148,5	152,2	153,1	153,4
4'	136,6	136,6	137,1	136,6	137,3
7'	47,0	45,8	47,8	46,6	49,6
8'	51,2	46,5	55,1	46,6	54,6
9'	175,5	175,3	173,2	174,8	172,7
2''	127,0	111,7	14,0		
OCH ₃			52,3	52,2	52,0

Por reacción de podofilotoxona **2** con diyodometano siguiendo el protocolo descrito para la reacción de Takai, se obtuvo un residuo del cual se separaron por cromatografía, producto de partida sin reaccionar, desoxipodofilotoxina **2b** y la olefina **6** (60 %), la cual fue caracterizada por sus datos espectrales. El espectro de masas de este producto muestra un ión molecular a

m/z 410 [M^+] y en su espectro de RMN ¹³C se observan dos señales de carbonos olefinicos, un metileno a δ_C : 105,5 y un carbono no protonado a δ_C : 141,4 asignables a C-1'' y C-7, respectivamente. En su espectro de RMN ¹H se aprecian dos dobletes ($J = 2,2$ Hz) centrados a δ_H : 5,54 y δ_H : 4,70 característicos de los hidrógenos (H-1'') del nuevo metileno exocíclico. Los desplazamientos

químicos y multiplicidades de las restantes señales se corresponden con sus análogos en el producto de partida.

Cuando el thuriferato de metilo **4**, se sometió a la reacción de Takai, se obtuvo con rendimiento aceptable (66%) el compuesto **7** (polvo blanco amorfo; $[\alpha]_D = -79$). En su espectro de masas se observa el ión molecular a m/z 440 $[M^+]$, esto es, 14 unidades de masa mayor que el del compuesto de partida, lo que indica la incorporación de la unidad metilénica procedente del diyodometano. Al comparar sus espectros de RMN (Tablas 1 y 2) con los del ácido thuriférico, **3**, se observa que la señal correspondiente al carbono carbonílico permanece, pero la misma resuena a campos más bajos (δ_C : 195,0) en concordancia con una pérdida de conjugación; paralelamente se aprecia en el espectro de RMN- ^{13}C la desaparición de las señales características del metileno exocíclico presente en el ácido thuriférico y la sustitución de éstas por tres nuevas señales que resuenan a δ_C : 14,0 (C-2''), δ_C : 22,2 (C-9) y δ_C : 25,3 (C-8), caracterizando a los dos metilenos y al carbono cuaternario de un espirociclopropano. La detección en el espectro de RMN- 1H de cuatro multipletes a δ_H : 0,40 (H-2''b), δ_H : 0,74 (H-2''a), δ_H : 1,02 (H-9b) y δ_H : 1,68 (H-9a) confirman la presencia de este nuevo anillo. En consecuencia, es obvio que **7** procede de la adición al doble enlace conjugado de un carbeno, generado durante la reacción entre el diyodometano y el tetracloruro de titanio, hecho éste que está de acuerdo con el desplazamiento a campo bajo del carbono carbonílico cetónico, con respecto al del ácido thuriférico. Existen antecedentes en la reacción de Zn/CH_2I_2 con cetonas α,β -insaturadas que producen espirociclopropanos análogos a **7**^{21,22}, pero esta es la primera vez que se obtiene este tipo de compuestos a partir de derivados de la podofilotoxona **2**.

El 8-cloro-8,9-dihydrothuriferato de metilo **5**, obtenido al burbujear cloruro de hidrógeno sobre una disolución de **4** en diclorometano, fue también tratado con diyodometano siguiendo el protocolo para la reacción de Takai. Del crudo de reacción, se logró separar por cromatografía producto de partida, y en menor proporción los productos **8** (15%) y **9** (7%). Ambos productos resultaron ser inestables hasta el punto de descomponerse parcialmente en presencia de $CDCl_3$ en

el tubo de RMN cuando se intentó la realización de las medidas espectrales.

El compuesto **8** presenta en su espectro de masas el ión molecular a m/z 428 $[M^+]$, con 34 unidades de masa menos que el compuesto de partida **5**, lo que supone la pérdida del átomo de cloro. En su espectro de RMN ^{13}C no aparece la señal del carbono carbonílico pero se aprecia una nueva señal a δ_C : 54,2, correspondiente a un carbono sp^3 no protonado unido a un átomo de oxígeno (C-7) y otros dos picos propios de un anillo ciclopropánico: δ_C : 25,3 ($>CH$, C-8) y δ_C : 22,2 ($-CH_2$, C-9). Estos datos fueron corroborados en el espectro de RMN- 1H , en el que se observa un multiplete a δ_H : 1,86 atribuible al protón del metino (H-8), además de un doblete de dobletes ($J = 5,7$ y $7,5$ Hz) a δ_H : 1,23 y un triplete ($J = 5,7$ Hz) a δ_H : 0,84, asignables a los protones del metileno (H-9), del ciclopropano. La formación de **8** en el curso de la reacción se puede explicar tomando en cuenta que el zinc es capaz de coordinarse al oxígeno del carbonilo generando un radical en C-7, el cual atacaría al metileno en C-9 seguido de la eliminación radicalaria del cloro asistida por el zinc (Fig. 3).

En el caso de **9**, no fue posible obtener el espectro de masas, debido a su degradación en la columna del sistema GC-MS. En sus espectros de RMN- 1H y RMN ^{13}C (Tablas 3 y 4), se observan las mismas señales que en los del producto de partida **5**, con ligeras variaciones en sus desplazamientos químicos. Con esta información se dedujo que **9** es el epímero en C-8 de **5**, el cual probablemente se formó por enolización entre los carbonos C-7 y C-8 de **5**, con posterior inversión de la configuración.

El tratamiento de la lactona **6** con *ter*-butóxido de potasio a 60 °C da lugar a los compuestos **10** y **11**. El compuesto **10** se origina por epimerización del C-8' para dar la *cis*- lactona, la cual es más estable que la *trans*-lactona. El compuesto **11** (hidroxiácido) se forma simplemente por apertura de la lactona, sin epimerización. Los datos espectrales de estos dos productos son congruentes con las estructuras propuestas (Tablas 3 y 4). A diferencia de lo observado en la obtención del ácido thuriférico **3** a partir de la podofilo-

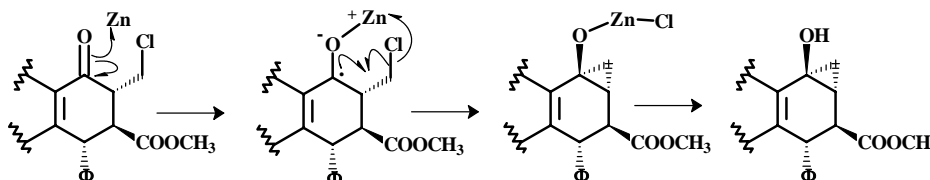


Figura 3: Posible mecanismo para la formación de **8** a partir de **5**

toxona **2**, en este caso no se produce la eliminación del hidroxilo. Este hecho es justificable, porque la formación del doble enlace exocíclico en el ácido thuriférico, se debe a la mayor estabilidad del carbonilo α,β -insaturado con respecto a la hidroxiketona.

Agradecimiento

Este trabajo fue realizado en el marco del "Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Red Temática 406RT0284". El mismo ha sido parcialmente financiado por el CDCHT-ULA (proyecto C-1512-07-03-B) en conjunto con la Junta de Castilla y León, España (Proyecto SA030A6).

Referencias

- Xiao-Kang Z., Guan J., Xiao Z., Cosentino L. M. and Lee K-H. Anti-AIDS agents. Part 61: Anti-HIV activity of new podophyllotoxin derivatives. **BioOrg. Med. Chem.**, **12**, 4267-4273 (2004).
- Jardine I. Podophyllotoxin. En: J. M. Cassady and J. D. Douros (Eds.) "Anticancer agents based on natural product models", pág. 319-351. Academic Press. New York. (1980).
- Xiao Z., Vance J. R., Bastow K. F., Brossi A., Wang H-K and Lee K-H. Antitumor agents. Part 235: Novel 4'-ester etoposide analogues as potent DNA topoisomerase II inhibitors with improved therapeutic potential. **BioOrg. Med. Chem.**, **12**, 3363-3369 (2004).
- Jordan A., Hadfield J., Lawrence N. J. and McGown A. Tubulin as a target for anticancer drugs: Agents which interact with the mitotic spindle. **Med. Res. Rev.**, **18**, 259-296 (1998).
- Schönbrunn E., Phlippen W., Trinczek B., Sack S., Eschenburg S., Mandelkow E-M. and Mandelkow E. Crystallization of a macromolecular ring assembly of tubulin liganded with the anti-mitotic drug podophyllotoxin. **J. Struct. Biol.**, **128**, 211-215 (1999).
- Alton P. A. and Harris A. L. The role of DNA topoisomerases II in drug resistance. **Br. J. Haematol.**, **85**, 241-245 (1993).
- Osheroff N., Zechiedrich E. L. and Gale K. C. Catalytic function of DNA topoisomerase II. **BioEssays**, **13**, 269-275 (1991).
- Xiao Z., Bastow K. F., Vance J. R. and Lee K-H. Antitumor agents. Part 227: Studies on novel 4'-O-demethyl-epipodophyllotoxins as antitumor agents targeting topoisomerase II. **BioOrg. Med. Chem.**, **12**, 3339-3344 (2004).
- Shah J. C., Chen J. R. and Chow D. Preformulation study of etoposide: Identification of physicochemical characteristics responsible for the low erratic oral bioavailability of etoposide. **Pharm. Res.**, **6**, 408-412 (1989).
- Damayanthi Y. and Low J. W. Podophyllotoxins: Current status and recent developments. **Curr. Med. Chem.**, **5**, 205-252 (1998).
- Xiao Z., Han S., Bastow K. F., Vance J. R., Sidwell R. S., Wang H-K., Chen M. S., Shi Q. and Lee K-H. Antitumor agents. Part 234: Design, synthesis and biological evaluation of novel 4 β -[(4''-benzamido)-amino]4'-O-demethyl-epipodo-phyllotoxin derivatives. **J. Med. Chem.**, **47**, 5140-5148 (2004).
- Huang T.-S., Shu C.-H., Lee C.-C., Chen L.-T. and Whan-Peng J. "In vitro" evaluation of GL331's cancer cell killing and apoptosis-inducing activity in combination with other chemotherapeutic agents. **Apoptosis**, **5**, 79-85 (2000).
- Utsugi T., Shibata J., Sugimoto Y., Aoyagi K., Wierzba K., Kobunai T., Terada T., Oh-hara T., Tsuruo T. and Yamada Y. Antitumor activity of a novel podophyllotoxin derivative (TOP-53) against lung cancer and lung metastatic cancer. **Cancer Res.**, **56**, 2809-2814 (1996).
- López-Pérez J. L., del Olmo E., de Pascual-Teresa B., Abad A. and San Feliciano A. Synthesis and cytotoxicity of hydrophobic ester of podophyllotoxins. **BioOrg. Med. Chem. Lett.**, **14**, 1283-1286 (2004).
- López-Pérez J. L., Abad A., del Olmo E. and San Feliciano A. Correct structures of Diels-Alder adducts from the natural cyclolignan thuriferic acid and its 8-epimer. **Tetrahedron**, **62**, 2370-2379 (2006).
- Takai K., Kakiuchi T., Kataoka Y. and Utimoto K. A novel catalytic effect of lead on the reduction of a zinc carbenoid with zinc metal leading to a geminal dizinc compound. Acceleration of the Wittig-type olefination with the RCHX₂-TiCl₄-Zn systems by addition of lead. **J. Org. Chem.**, **59**, 2668-2670 (1994).
- Hibino J., Okazoe T., Takai K. and Nozaki H. Carbonyl methylenation of easily enolizable ketones. **Tetrahedron Letters**, **26**, 5579-5580 (1985).
- Roulland E., Magiatis P., Arimondo P., Bertounesque E. and Monneret C. Hemi-synthesis and biological activity of new analogues of podophyllotoxin. **BioOrg. Med. Chem.**, **10**, 3463-3471 (2002).
- Miguel del Corral J. M., Gordaliza M., López J. L., del Olmo E., Castro M. A., and López M. L. Reassignment of the configuration of several keto-cyclolignans prepared from podophyllotoxin. **Helv. Chim. Acta**, **78**, 1793-1796 (1995).
- López-Pérez J. L., del Olmo E., de Pascual-Teresa B., Merino M. and San Feliciano A. The Stereochemistry of thuriferic and epithuriferic acids. **Tetrahedron**, **52**, 4903-4910 (1996).
- Reddy, V. P., Olah, G. A. and Prakash, G. K. S. 2-methylbicyclo[3.2.2]non-3-en-2-yl cation involving rearrangement of 1,3'-spirocyclopropylbicyclo[2.2.2]oct-2'-yl cation. **J. Org. Chem.**, **58**, 7622-7623 (1993).
- Olah, G. A., Reddy, V. P., Rasul, G. and Prakash, G. K. S. ¹³C NMR spectroscopy of tertiary spiro[cyclopropane-3'-norbornan]-2'-yl cations and their rearrangements. **J. Org. Chem.** **57**, 1114-1118 (1992).