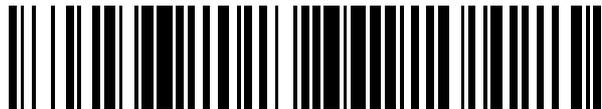


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 898**

51 Int. Cl.:

C07D 311/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.06.2009 E 09757992 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.12.2015 EP 2300450**

54 Título: **Método para la preparación de flavonoides acoplados en C-4, proantocianidinas y análogos de los mismos**

30 Prioridad:

06.06.2008 ZA 200804953

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.03.2016

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF THE FREE STATE (100.0%)
Nelson Mandela Drive
9301 Bloemfontein, ZA**

72 Inventor/es:

**VAN DER WESTHUIZEN, JAN HENDRIK;
ACHILONU, MATHEW y
BONNET, SUSANNA LUCIA**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PALMERO, Fe

ES 2 561 898 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para la preparación de flavonoides acoplados en C-4, proantocianidinas y análogos de los mismos

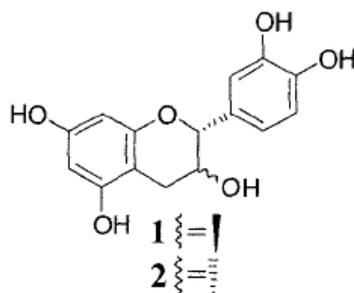
Campo de la invención

Esta invención se refiere a un procedimiento novedoso para la preparación de flavonoides acoplados en C-4, proantocianidinas y análogos de los mismos.

Antecedentes de la invención

Las proantocianidinas (también conocidas como procianidina, proantocianidina oligomérica (OPC) o taninos condensados) están ubicuas en plantas y son constituyentes importantes de la dieta humana. Se han atribuido a esta clase de compuestos una amplia gama de actividades biológicas potencialmente significativas que incluyen efectos antioxidantes, antiateroscleróticos, antiinflamatorios, antitumorales, antiosteoporóticos y antivirales

Las proantocianidinas son dímeros, trímeros, oligómeros o polímeros de flavanoles. Los flavanoles (también denominados flavan-3-oles) son una clase de flavonoides e incluyen (+)-catequina (compuesto 1) de fórmula (A) y (-)-epicatequina (compuesto 2) de fórmula (A). El compuesto 1 o compuesto 2, como unidades de monómero, están enlazados a través de sus posiciones 4 y 8, o 4 y 6 para formar proantocianidinas. Avances en la química y la biología de estos compuestos han sido lentos debido a la dificultad de aislar y sintetizar compuestos fenólicos libres puros.



Fórmula A

La producción de proantocianidinas y análogos de las mismas mediante la introducción de flavanilo, flavonoide y otros restos fenólicos en C-4 de flavan-3,4-dioles se conoce en la técnica y se ha logrado mediante la condensación catalizada por ácido de las unidades electrófilas y nucleófilas apropiadas. Estos métodos sintéticos estereoselectivos iniciales desempeñaron un papel importante en la aclaración de estructuras de las profisetinidinas y prorobinetinidinas económicamente importantes de *Acacia mearnsii* (*Black Wattle*) y *Schinopsis spp* hasta el nivel tetramérico.

Sin embargo, los métodos anteriores se vieron obstaculizados por los laboriosos procedimientos de extracción requeridos para obtener materiales de partida ópticamente activos que se producen en bajas concentraciones en el material vegetal.

Se ha mejorado en gran medida el acceso sintético a dímeros, trímeros, tetrámeros, oligómeros superiores y polímeros de proantocianidina, así como análogos de la misma, por la introducción de un grupo saliente C-4 con los propósitos de aumentar la electrofilia en la posición bencílica C-4 de (+)-catequina (compuesto 1) y (-)-epicatequina (compuesto 2) disponibles comercialmente. La introducción de un grupo saliente C-4, por tanto, requiere la realización de una etapa adicional en la síntesis, concretamente, la preparación de lo que en el presente documento se denominarán precursores funcionalizados en C-4. Desventajas adicionales asociadas con ella se discuten a continuación.

La preparación de precursores funcionalizados en C-4 se conoce en la técnica y se logra, entre otros métodos, por la bromación selectiva en C-4 de los compuestos 1 y 2. La bromación sólo es posible con peracetatos en los que la reactividad de los anillos aromáticos hacia la bromación competitiva se suprime mediante grupos acetato aceptores de electrones. Sin embargo, con el fin de controlar el grado de polimerización, se requirió la protección en C-8 de las especies electrófilas antes de la condensación.

Otros métodos, que implican la introducción de azufre u oxígeno en C-4, también se han notificado y se han utilizado como paso intermedio para introducir un resto flavanilo o fenólico en C-4 de flavan-3-oles para la producción de proantocianidinas y análogos de las mismas.

Una desventaja adicional asociada con los métodos de la técnica anterior discutidos anteriormente en el presente documento, reside en la autocondensación indeseable de los precursores funcionalizados en C-4. Esta autocondensación de los precursores con un grupo saliente en C-4 tiene un efecto significativo sobre el grado de polimerización. Por consiguiente, el grado de polimerización es difícil de controlar de tal manera que se forma una mezcla compleja de dímeros, trímeros, tetrámeros y oligómeros superiores, así como una mezcla compleja de análogos. Se apreciará que cada precursor funcionalizado en C-4 contiene un centro electrófilo, con el resultado de que después de la formación del enlace C-C entre dicho precursor y un nucleófilo, un centro electrófilo y uno nucleófilo están presentes que pueden reaccionar adicionalmente y de manera desventajosa no puede controlarse el grado de polimerización. Cuando el precursor y un nucleófilo son idénticos, se forma indeseablemente una mezcla compleja de dímeros, trímeros, tetrámeros y oligómeros superiores, mientras que se forma una mezcla compleja de análogos indeseable en el caso de un precursor y nucleófilo no idénticos. La presente invención permite un control mejorado sobre el grado de polimerización y la disminución de la autopóimerización.

Sin embargo, una desventaja adicional de los métodos previamente conocidos para la preparación sintética de proantocianidinas y análogos de las mismas, que implica la introducción de grupos salientes en el carbono C-4 de flavan-3-oles, tales como catequina o epicatequina, es que los procesos conocidos generalmente favorecen la formación predominante de isómeros 3,4-trans de proantocianidinas con, generalmente, muy bajos rendimientos de los isómeros 3,4-cis. Por el contrario, la presente invención permite rendimientos mejorados enormemente de los isómeros 3,4-cis.

El término "flavonoide" se usa en esta descripción y en las reivindicaciones dependientes en su significado más amplio que incluye los compuestos conocidos como flavonoides.

En esta memoria descriptiva, el término "proantocianidina" indica un compuesto que es esencialmente un multímero de desde dos hasta veinte unidades monoméricas idénticas que tienen estructuras de base de flavonoide y que están unidos juntos en una cadena de tales unidades mediante enlaces interflavanilos carbono-carbono entre un carbono de un anillo aromático de una unidad y el carbono en C-4 de otra unidad. Así, el compuesto catequina-(4 β →8)-catequina es un ejemplo de una proantocianidina según el significado que denota ese término en esta descripción de la invención y las reivindicaciones adjuntas.

La expresión "análogo de proantocianidina", tal como se usa en el presente documento, denota un compuesto que se compone esencialmente de una a veinte unidades monoméricas que tienen estructuras de base de flavonoide y que, si hay más de una unidad que tiene una base de flavonoide, están unidas entre sí en una cadena de tales unidades mediante enlaces interflavanilos carbono-carbono entre un carbono de un anillo aromático de una unidad y el carbono C-4 de otra unidad, pero en el que al menos algunas de las unidades monoméricas de base de flavonoide son diferentes en la estructura de las otras, y en el que una o más de las unidades pueden ser una unidad o unidades de base no de flavonoide, siempre que tal unidad o tales unidades no de flavonoide incluyan un resto aromático nucleófilo, y un carbono de tal resto aromático nucleófilo forme un enlace carbono-carbono con el carbono C-4 de una unidad de base de flavonoide. Así, el compuesto (2R,4R)-4-(1,3,5-tri-O-metilfloroglucinol)-5,7,3'4'-tetra-O-metil-flavan-3-ona es un ejemplo de un análogo de proantocianidina con el significado atribuido a aquella expresión para los propósitos de la presente descripción y las reivindicaciones adjuntas en relación con la presente invención.

También en esta memoria descriptiva, los términos "dímero" y "trímero" denotan, respectivamente, una asociación de dos y tres unidades constituyentes idénticas unidas entre sí, y los términos, oligómero y polímeros tienen significados correspondientes. Por consiguiente, la formación de un dímero según el método de la presente invención da como resultado una proantocianidina.

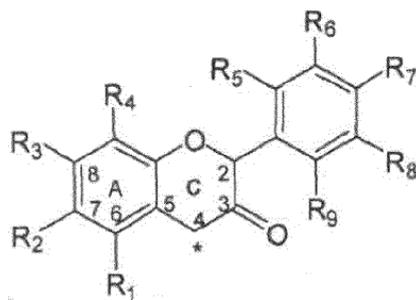
Además, en esta memoria descriptiva, el término "aducto" denota una asociación de dos unidades constituyentes no idénticas unidas entre sí por medio de enlaces carbono-carbono. La formación de un aducto según el método de la presente invención da como resultado un análogo de proantocianidina.

Sumario de la invención

La siguiente ruta de reacción (no según la invención) ilustra las etapas de la secuencia en más detalle.

Según una aplicación específica de la divulgación, se proporciona un método para la preparación de proantocianidinas y análogos de proantocianidina, comprendiendo el método las etapas de

- (a) proporcionar un derivado 3-oxo de un flavan-3-ol, representado por la fórmula (I) (denominado en lo sucesivo "el derivado 3-oxo"):



Fórmula (I)

en la que

5 cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈ y R₉ se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H, -OH, grupos hidrocarbilo, restos sacáridos y -OR₁₀; en el que R₁₀ se selecciona del grupo que consiste en un grupo hidrocarbilo, un grupo acilo y un grupo bencilo; y

10 en la que los grupos hidrocarbilo en cualquiera de R₁ a R₁₀ y el grupo acilo contiene de 1 a 10 átomos de carbono

(b) proporcionar un compuesto adicional que es para constituir al menos parte de la proantocianidina o análogo de proantocianidina, y compuesto adicional que tiene un resto aromático nucleófilo (denominado en lo sucesivo "el compuesto adicional").

15 (c) proteger cada grupo hidroxilo fenólico y cada grupo hidroxilo sacárido del derivado 3-oxo y del compuesto adicional para formar un derivado 3-oxo protegido y compuestos adicionales protegidos;

20 (d) poner en contacto el derivado 3-oxo protegido o el derivado 3-oxo sin grupos hidroxilo fenólicos o grupos hidroxilo sacáridos con el compuesto adicional protegido o compuesto adicional sin ningún grupo hidroxilo fenólico o sacárido en presencia de un agente oxidante;

25 (e) permitir un enlace C-C directo para formar entre el átomo de carbono en la posición 4 del derivado 3-oxo (mostrado por "*" en la fórmula (I)) y un átomo de carbono que es parte del resto aromático nucleófilo del compuesto adicional;

30 (f) opcionalmente, y cuando el compuesto adicional tiene una estructura de base de flavonoide que no tiene sustituyente en su posición C-4 y un grupo hidroxilo en su posición C-3, oxidar el grupo hidróxido para proporcionar un derivado 3-oxo secundario;

35 (g) y opcionalmente además proporcionar un compuesto adicional secundario que es para constituir al menos parte de la proantocianidina o análogo de proantocianidina, y compuesto adicional secundario que tiene un resto aromático nucleófilo (denominado en lo sucesivo "el compuesto adicional secundario");

(h) poner en contacto el derivado 3-oxo secundario con el compuesto adicional secundario en presencia de un agente oxidante;

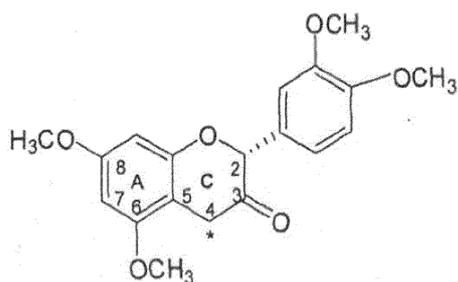
40 (i) opcionalmente repetir las etapas (f), (g) y (h) las veces que sean necesarias para conseguir la incorporación del número deseado de unidades monoméricas en la proantocianidina resultante o análogo de proantocianidina;

45 (j) opcionalmente además reducir la proantocianidina o el análogo de proantocianidina resultante para convertir el grupo oxo en las diversas posiciones C-3 de las respectivas unidades de derivado 3-oxo introducidas en los productos resultantes a un grupo hidróxido; y

(k) eliminar opcionalmente cualquier o todos los grupos protectores de hidroxilo fenólico o sacárido para producir los compuestos hidroxilo desprotegidos.

50 El experto apreciará que la estereoquímica en C-2 del compuesto de fórmula (I) permite al producto de fórmula (I) existir en forma alfa o beta o como una mezcla de ambos. Se apreciará además que la estereoquímica antes mencionada del compuesto de fórmula (I) proporciona un producto enantioméricamente puro y ópticamente activo.

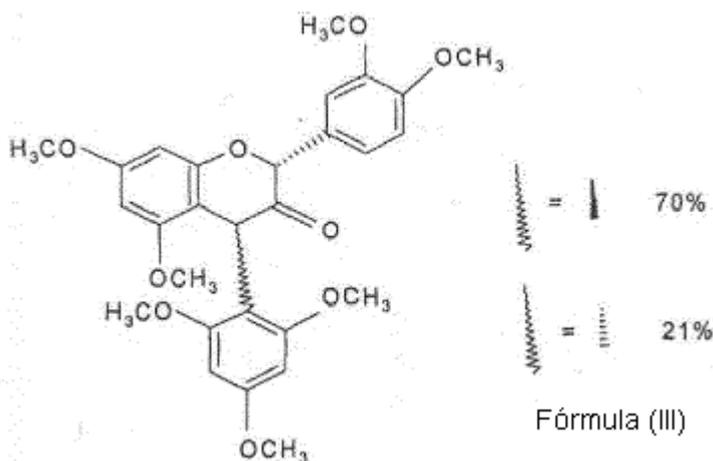
- 5 El derivado 3-oxo de flavan-3-ol puede prepararse a partir de un flavan-3-ol en el que el grupo hidroxilo en la posición 3 de flavan-3-ol se oxida para dar un grupo oxo. Esto puede conseguirse por cualquier medio conocido en la técnica. Tal preparación puede, por ejemplo, efectuarse mediante el procedimiento conocido como oxidación de Dess-Martin. Se prevé que haciendo esto, el derivado 3-oxo tenga una electrofilia mejorada en C-4 en virtud del sustituyente oxo en C-3.
- 10 Los grupos hidrocarbilo de los que pueden seleccionarse $R_1 - R_{10}$, pueden ser grupos hidrocarbilo lineales o grupos hidrocarbilo cíclicos.
- 15 Los grupos hidrocarbilo lineales pueden seleccionarse del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo y decilo.
- El hidrocarbilo cíclico puede seleccionarse del grupo que consiste en ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoilo y ciclodecilo.
- 20 Los grupos hidrocarbilo de los que puede seleccionarse R_{10} son preferiblemente un grupo bencilo o un grupo acilo.
- 25 Los restos sacáridos pueden seleccionarse del grupo que consiste en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, polisacáridos y análogos de estos sacáridos.
- El compuesto que tiene un resto aromático nucleófilo puede ser un compuesto que tiene un resto fenólico, flavanilo o flavonoide.
- 30 Cuando el compuesto que tiene un resto aromático nucleófilo es un compuesto que tiene un resto fenólico, el compuesto que contiene dicho resto fenólico (a continuación en el presente documento denominado las "especies fenólicas"), es preferiblemente 1,3,5-trimetoxibenceno. El acoplamiento de los derivados 3-oxo y especies fenólicas da como resultado la formación de un aducto de 4-arilflavan-3-ona que comprende el derivado 3-oxo y los restos fenólicos.
- 35 Cuando el compuesto que tiene un resto aromático nucleófilo es un compuesto que tiene un resto flavanilo o flavonoide, el compuesto que contiene dicho resto flavanilo o flavonoide (a continuación en el presente documento denominado las "especies de flavanol") es preferiblemente flavan-3-ol, lo más preferiblemente 5,7,3',4'-tetra-O-metilcatequina. El acoplamiento de los derivados 3-oxo y de las especies de flavanol da como resultado la formación de un aducto que comprende el derivado 3-oxo y los restos flavanol o flavonoide.
- 40 El experto en la técnica apreciará que pueden usarse compuestos que tienen otros restos aromáticos nucleófilos adecuados sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.
- 45 El agente oxidante puede seleccionarse del grupo que consiste en $AgBF_4$, $Pb(Oac)_4$, DDQ, OsO_4 , reactivo de Tollens, $KMnO_4$ y clorocromato de piridinio. En una realización preferida de la invención, el agente oxidante es $AgBF_4$. $AgBF_4$ es un agente oxidante débil con un contraión $(BF_4)^-$. Los rendimientos más altos se obtuvieron con $AgBF_4$ y, sin querer restringirse a la teoría, se sugiere que el contraión $(BF_4)^-$ facilita la estabilización de los productos intermedios de meturo de quinina formados durante la formación del enlace C-C.
- 50 El compuesto que tiene un resto aromático nucleófilo, el derivado 3-oxo y el agente oxidante pueden mezclarse entre sí en presencia de un disolvente. El disolvente se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en tetrahidrofurano (continuación en el presente documento denominado "THF"), dietil éter o cualquier disolvente aprótico que pueda disolver dicho compuesto y el derivado 3-oxo que van a acoplarse a través de un enlace C-C.
- 55 Según la invención, R_1 , R_3 , R_6 y R_7 son iguales y R_2 , R_4 , R_5 , R_8 y R_9 son H en la fórmula (I). Cada uno de R_1 , R_3 , R_6 y R_7 es OR_{10} , en el que R_{10} es $-CH_3$ y C-2 está en la configuración (2R). En tal caso, el derivado 3-oxo es tetra-O-metil-3-oxo-catequina representado por la fórmula (II):



Fórmula II

5 Oxidando el flavan-3-ol para dar el derivado 3-oxo, la reactividad del anillo de benceno "A" en las fórmulas (I) y (II) se reduce hasta tal grado que se evita la autocondensación entre átomos del derivado 3-oxo y el compuesto que tiene el resto aromático nucleófilo. Esto, a su vez, permite el aislamiento del aducto que se forma cuando el derivado 3-oxo se acopla al resto aromático nucleófilo del compuesto.

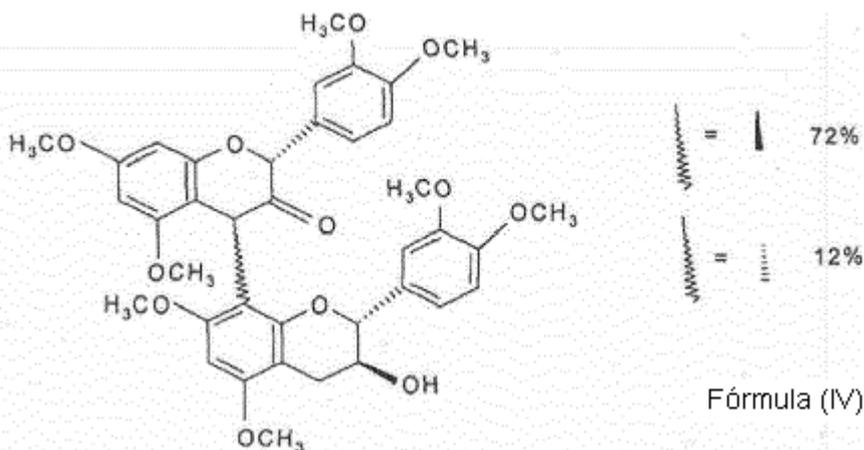
Cuando una especie fenólica, que no es la misma que el derivado 3-oxo, se pone en contacto con el derivado 3-oxo, el aducto resultante es un análogo de proantocianidina representado por la fórmula (III):



Fórmula (III)

10

Según la invención, cuando la especie de flavanol se pone en contacto con el derivado 3-oxo, la proantocianidina resultante se representa por la fórmula (IV):



Fórmula (IV)

15

20 Los compuestos resultantes representados por las fórmulas (III) y (IV) pueden someterse a reducción, en particular la reducción con hidruro metálico en la que se forman diastereómeros cis y trans de los aductos. Sorprendentemente, la reducción con hidruro metálico proporciona una estereoquímica predominantemente 3,4-cis de los compuestos. Durante esta etapa de reducción, el grupo oxo en la posición 3 del derivado 3-oxo se sustituye por un grupo hidroxilo. La reducción con hidruro metálico puede tener lugar según cualquier medio conocido en la técnica. En una realización preferida de la invención, se

5 usa NaBH₄ para lograr la reducción con hidruro metálico del aducto. Como se mencionó anteriormente, la reducción del grupo carbonilo tiene lugar de manera estereoselectiva de tal manera que se forma predominantemente el isómero 3,4-cis. Una mezcla de compuestos flavonoides preparados mediante el método de la invención descrito anteriormente en el presente documento, que tienen sustituyentes en sus carbonos C-3 y C-4, en los que la configuración 3,4-cis de tales compuestos está presente en una cantidad mayor que la configuración 3,4-trans de tales compuestos, es por consiguiente un aspecto adicional de esta invención.

10 La invención proporciona además que el compuesto resultante con un resto flavanol (fórmula (IV)) se someta a oxidación, en la que el grupo hidroxilo en la posición 3 de la especie de flavanol (especie que está acoplada al derivado 3-oxo) se oxida para dar un grupo oxo con el fin de activar el C-4 de la especie de flavanol acoplada. Este dímero activado puede entonces ponerse en contacto con un compuesto adicional que tiene un resto aromático nucleófilo del tipo descrito anteriormente en el presente documento, en presencia de un agente oxidante, preferiblemente AgBF₄, como se ha descrito anteriormente en el presente documento para producir un trimero. De esta manera, se logra una polimerización controlada. En ausencia de dicha oxidación, el aducto resultante no puede experimentar una reacción adicional.

20 Según una realización adicional de la divulgación y en la que R₁₀ es bencilo, puede emplearse la hidrogenación tras el acoplamiento para eliminar los grupos fenilo. Cuando R₁₀ es acetato, dicho acetato puede eliminarse por medio de una base o ácido débil. De esta manera, pueden producirse proantocianidinas fenólicas libres y análogos de las mismas.

25 Estas y otras características de la invención se describen con más detalle a continuación.

Ejemplos de la invención

La invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos no limitativos.

Información general:

Espectros de RMN

35 Se llevaron a cabo experimentos de RMN en un espectrómetro Bruker Avance (600 MHz). Se añadió SiMe₄ como referencia a todas las muestras de RMN.

Espectros de masa

40 Se registraron espectros de masa de alta resolución a 70eV en un espectrómetro de masas VG 70 SEC con un sistema de datos MASPEC II.

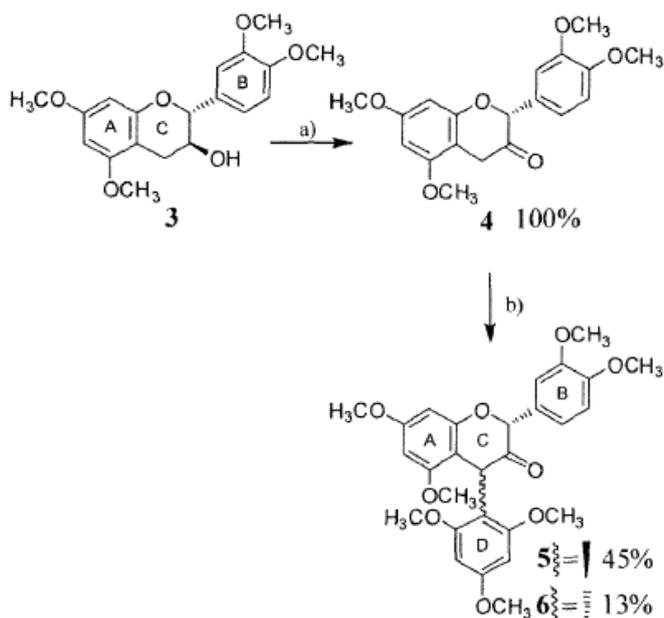
Reactivo de pulverización: disolución al 2% v/v de formaldehído (40%) en H₂SO₄ concentrado.

45 Abreviaturas de disolventes de CCF: A = acetona, DCM = diclorometano, EtOAc = acetato de etilo, EtOH = etanol, H= hexano, MeOH = metanol, T= tolueno.

50 Espectros de IR: Se registraron espectros de IR en un instrumento de un solo haz Bruker Tenson 27 FT-IR. La celda de muestra estándar usada fue una celda reflectancia total atenuada (ATR) de una sola reflexión Pike Miracle equipada con un cristal simple de ZnSe. Las mediciones se realizaron en un intervalo de 400 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹, no se usó ningún portador y se llevó a cabo una serie de fondo en cada caso.

Ejemplo 1

55 Se preparó un derivado 3-oxo de flavan-3-ol (compuesto 4) a partir de flavan-3-ol como se muestra a continuación en el esquema 1.



a) Peryodinato de Dess-Martin, CH_2Cl_2 húmedo, TA, 45 min b) 1,3,5-tri-O-metilfloroglucinol

Esquema 1

5

Haciendo referencia al esquema 1, se preparó flavan-3-ol, más particularmente 5,7,3',4'-tetra-O-metilcatequina (compuesto 3), de la siguiente manera:

10

Se disolvió (+)-catequina secada (10 g, 35 mmol) en acetona seca (250 ml) bajo una atmósfera inerte (N_2). Se añadió K_2CO_3 (38 g, 276 mmol) y se suspendió en la mezcla de reacción. Tras agitar durante 1 hora, se añadió lentamente sulfato de dimetilo (87 mg, 276 mmol) a lo largo de un período de 30 min y se sometió la mezcla de reacción a reflujo durante 2 horas. Se separó el K_2CO_3 por filtración, se eliminó la acetona a presión reducida y se destruyó el exceso de $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ con amoníaco frío (80 ml, NH_3 al 25%/ H_2O , v/v). Se extrajo posteriormente la mezcla de reacción con acetato de etilo (2 x 100 ml), se lavó con agua (2 x 70 ml) y salmuera (70 ml), se secó sobre MgSO_4 y se eliminó el disolvente a presión reducida. Se obtuvo el compuesto 3 como un sólido amorfo de color hueso (11,9 g, 99%).

15

20

Se sometió entonces el compuesto 3 a una etapa de oxidación para preparar el derivado 3-oxo, más específicamente (2R)-5,7,3',4'-tetrakis(metiloxi)flavan-3-ona (compuesto 4). Esto se logró de la siguiente manera:

25

Bajo una atmósfera de N_2 , se añadió peryodinato de Dess-Martin (7,5 ml, disolución 0,3 M de DMP en DCM) a una disolución de compuesto 3 (560 mg, 1,6 mmol) en CH_2Cl_2 seco (5 ml). Tras agitar durante 5 min, se añadió gota a gota CH_2Cl_2 humedecido (20 ml) a lo largo de 45 min dando como resultado una mezcla de reacción turbia. Se extrajo la mezcla de reacción con éter (30 ml), se lavó con una mezcla de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10% y NaHCO_3 saturado (2 x 30 ml, 1:1, v/v) y se separaron las dos fases. Se extrajo la fase acuosa con éter (20 ml), se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua y salmuera, se secaron sobre tiosulfato de sodio anhidro y se eliminó el disolvente a vacío. Se filtró el producto bruto sobre SiO_2 (4 x 4 cm, H: EtOAc 6:4) y se cristalizó en el eluyente como agujas blancas. Rendimiento: 451 mg, 95% (85 mg del compuesto 4 recuperado).

30

35

Con referencia al esquema 1 y en la realización de la invención en la que el resto aromático nucleófilo es un resto fenólico, la especie fenólica en forma de 1,3,5-trimetoxibenceno, el derivado 3-oxo, más específicamente (2R)-5,7,3',4'-tetrakis(metiloxi)flavan-3-ona (compuesto 4), se pone en contacto con el mismo en presencia de $\text{Ag}(\text{BF}_4)^-$ en THF para formar aductos de floroglucinol en C-4 (compuesto 5) (45%) y el compuesto 6 (13%), particularmente (2R,4S)- y (2R,4R)-4-(1,3,5-tri-O-metilfloroglucinol)-5,7,3',4'-tetra-O-metil-flavan-3-onas, respectivamente, como se muestra en el esquema 1. Los aductos de floroglucinol en C-4 se obtuvieron de la siguiente manera:

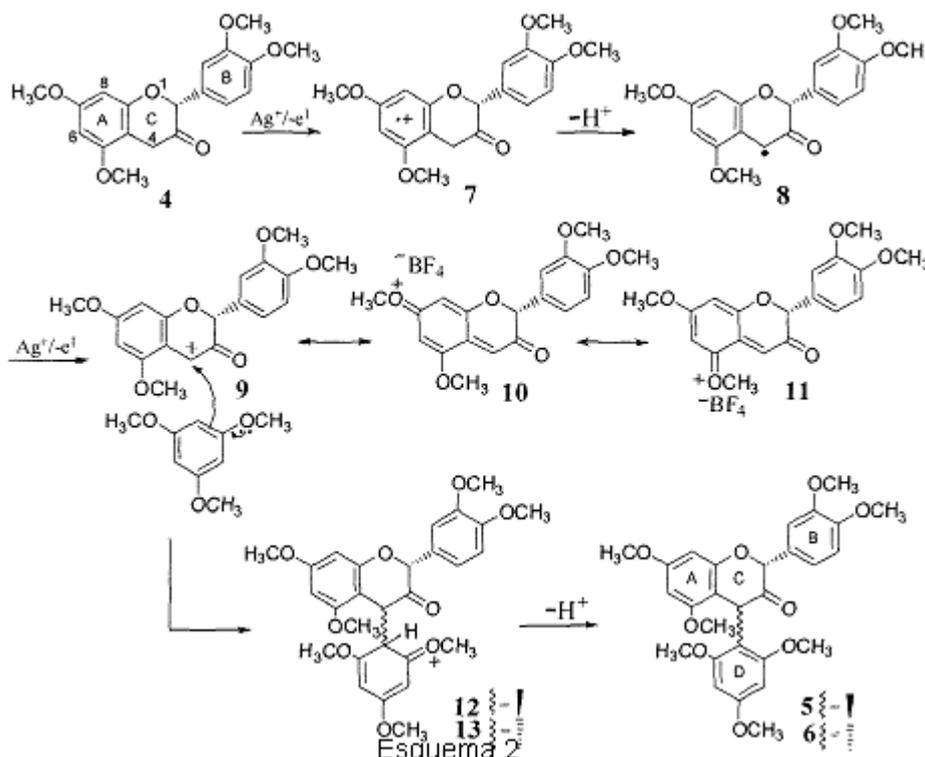
40

Bajo una atmósfera de N_2 , se disolvieron el compuesto 4 (50 mg, 0,145 mmol) y $\text{Ag}(\text{BF}_4)^-$ (215 mg, 1,1 mmol) en THF (2 ml). Se añadió gota a gota una disolución de 1,3,5-tri-O-metilfloroglucinol (50 mg, 0,093 mmol) en THF (3 ml) y se sometió la mezcla de reacción a reflujo durante una hora. Tras concentrar la mezcla de reacción a vacío, se filtró sobre SiO_2 (2 cm x 4 cm, H:EtOAc 6:4) y se separó posteriormente sobre SiO_2 (T:EtOAc 8:2) para proporcionar el compuesto 5 (R_f 0,40, 34 mg, 70%) y el compuesto 6 (R_f

0,30, 9 mg, 21%).

Las características de los espectros para los aductos de floroglucinol en C-4 se exponen a continuación.

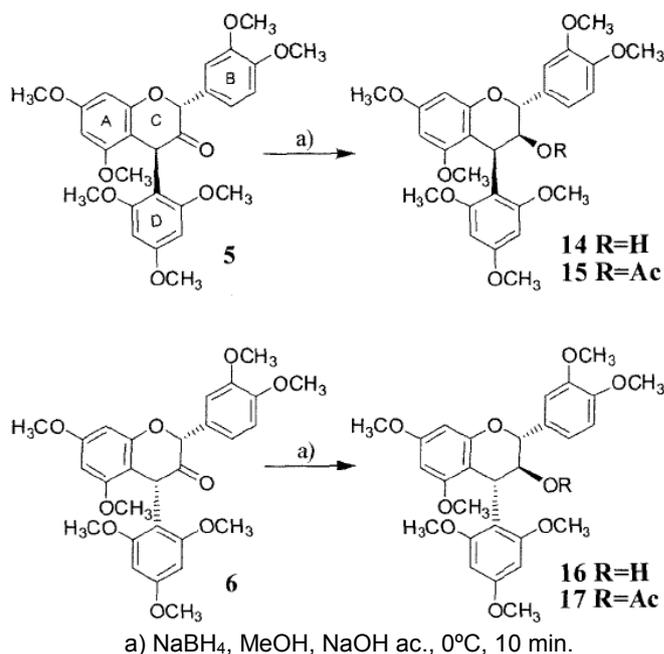
- 5 Compuesto 5: Hallado M^+ 510,18842, $C_{28}H_{30}O_9$ requiere M^+ 510,18898, $(M\pm H)^+$ 511 (43), m/z 343 (100), 315 (22), 287 (10). IR: ν_{\max} 2959, 1724, 1593 cm^{-1} . 1H -RMN: δ ($CDCl_3$) 3,51-3,84 (s, 21 H, 7 x OCH_3), 5,10 (s, 1 H, 4-H), 5,63 (d, J = 0,5 Hz 1 H, 2-H), 5,99 (d, J = 2,0 Hz, 2H, 6-H), 6,10 (s, 2H, 3''/5''-H), 6,31 (d, J = 2,0 Hz, 1H, 8-H), 6,77 (d, J = 8,0 Hz, 1H, 5'-H), 6,90 (dd, J = 2,0, 8,0 Hz, 1H, 6'-H), 6,94 (d, J = 2,0 Hz, 1H, 2'-H). ^{13}C -RMN: δ ($CDCl_3$) 38,1 (C-4), 55,2-55,9 (7 x OCH_3), 82,8 (C-2), 91,0 (C-3''/5''), 92,8 (C-6), 94,1 (C-8), 106,1, 109,4 (C-2'), 111,1 (C-5'), 111,3 (C-6'), 118,3 (C-1''), 128,1 (C-1'), 148,8 (C-3'), 149,0 (C-4'), 154,1, 158,4 (C-2''/6''), 158,7, 160,0 (C-4''), 160,1 (C-7), 206,4 (C-3). CD: λ nm (θ), 184,60 ($6,573 \times 10^3$), 194,20 ($7,232 \times 10^3$), 200,40 (-8×10^3), 211,60 ($6,762 \times 10^4$), 237,20 ($3,221 \times 10^4$), 258,60 ($5,108 \times 10^3$), 290,00 ($8,759 \times 10^3$).
- 15 Compuesto 6: Hallado M^+ 510,18826, $C_{28}H_{30}O_9$ requiere M^+ 510,18898, $(M+H)^+$ 511 (68), m/z 343 (100), 315 (82), 287 (53). IR: ν_{\max} 2925, 1731, 1594 cm^{-1} . 1H -RMN: δ ($CDCl_3$) 3,58-3,89 (s, 21 H, 7 x OCH_3), 5,24 (d, J = 2 Hz, 1 H, 4-H), 5,34 (d, J = 2 Hz, 1 H, 2-H), 6,07 (d, J = 2,0 Hz, 1H, 6-H), 6,08 (s, 2H, 3''/5''-H), 6,27 (d, J = 2,0 Hz, 1H, 8-H), 6,89 (d, J = 8,0 Hz, 1H, 5'-H), 6,96 (d, J = 2,0 Hz, 1H, 2'-H), 6,98 (dd, J = 2,0, 8,0 Hz, 1H, 6'-H). ^{13}C -RMN: δ ($CDCl_3$) 29,4, 40,4 (C-4), 54,9-55,9 (7 x OCH_3), 84,8 (C-2), 91,2 (C-3''/5''), 93,4 (C-6), 93,8 (C-8), 107,8, 110,9 (C-5'), 111,2 (C-1''), 111,7 (C-2'), 121,5 (C-6'), 127,8 (C-1'), 148,9 (C-4'), 149,4 (C-3'), 156,5, 158,5 (C-2''/6''), 158,8 (C-4''), 159,7 (C-5), 160,1 (C-7), 205,2 (C-3). CD: nm (θ), 210,50 ($-5,362 \times 10^4$), 233,00 ($-1,464 \times 10^4$), 273,50 ($5,963 \times 10^3$), 293,00 ($6,651 \times 10^3$), 344,50 ($4,432 \times 10^3$).
- 25 El requisito de un exceso de $AgBF_4$ y la observación de un espejo de plata (reducción de Ag^1 a Ag^0) indica un mecanismo oxidativo de dos electrones como se muestra en el esquema 2 que se expone a continuación.



30 Con referencia al esquema 2, el carbocatión intermediario (compuesto 9) es tanto bencílico como alfa con respecto a un grupo carbonilo. La estabilización adicional del compuesto 9 o sus tautómeros de meturo de quinina (compuestos 10 y 11) mediante el contraión no nucleófilo (BF_4^-) es viable.

35 La posterior reducción de los compuestos 5 y 6 con $NaBH_4$ en $NaOH/MeOH$ acuoso proporcionó los derivados de 4-arylflavan-3-ol, compuesto 14 (98%) y compuesto 16 (95%), respectivamente.

Esto se muestra en el esquema 3.



5

Esquema 3

Más específicamente, se prepararon (2R,3S,4S)- y (2R,3S,4R)-4-(1,3,5-tri-O-metilfloroglucinol)-5,7,3'4'-tetra-O-metilflavan-3-ol (compuestos 14 y 16) de la siguiente manera:

- 10 Se añadió una disolución acuosa de NaOH (10 ml, 2,00 M) a etanol (200 ml) seguido de NaBH_4 (7,71 g, 0,20 mol). A una disolución del compuesto 5 (20 mg, 0,04 mmol) en etanol (5 ml) se le añadió lentamente la disolución de NaBH_4 (1 ml) preparada anteriormente. Tras agitar la mezcla de reacción durante 5 min, se eliminó el etanol a presión reducida, se destruyó el exceso de NaBH_4 con agua (1 ml) y se extrajo la mezcla posterior con éter (2 x 10 ml). Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml), se secó sobre MgSO_4 y se evaporó hasta sequedad a vacío para producir el compuesto 14 (20 mg, 98%) como un sólido amorfo blanco.

El compuesto 16 se preparó exactamente de la misma manera.

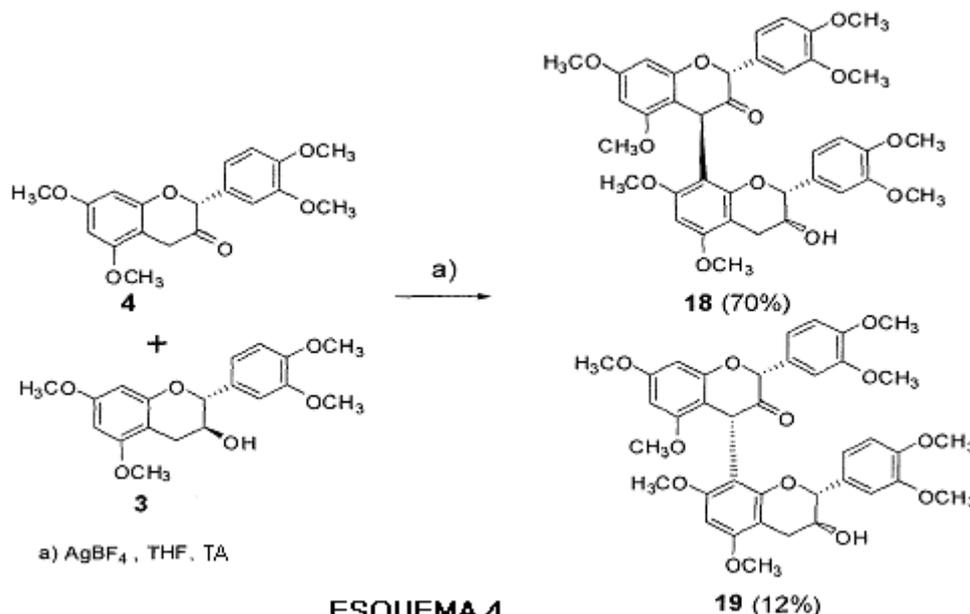
- 20 Las constantes de acoplamiento de ^1H -RMN y los datos de CD permitieron la asignación de la configuración absoluta (2R,3S,4S) y (2R,3S,4R) para los compuestos 14 y 16, respectivamente.

Las características de los espectros para los aductos de floroglucinol en C-4 se exponen a continuación.

- 25 Compuesto 14: Hallado \underline{M}^+ 512,20408, $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_9$ requiere \underline{M}^+ 512,20463, $(\underline{M}+\text{H})^+$ 513 (58), m/z 345 (76), 333 (100), 317 (72), 303 (20), 191 (22). IR: $\nu_{\text{máx}}$ 3515, 2936, 2836, 1607 cm^{-1} . ^1H -RMN: δ (CDCl_3) 3,35 - 3,87 (7 x s, 21H, 7 x OCH_3), 4,23 (dd, J = 6,3, 9,0 Hz, 1H, 3-H), 4,94 (d, J = 6,3 Hz, 1 H, 4-H), 4,96 (d, J = 9,0 Hz, 1H, 2-H), 6,01 (d, J = 2,4 Hz, 1 H, 6-H), 6,14 (s. muy a., 1 H, H-3''/5''(D)) 6,21 (s. muy a., 1 H, H-3/5(D)), 6,19 (d, J = 2,4 Hz, 1 H, 8-H), 6,23 (s. muy a., 1H, 3''/5''-H), 6,85 (d, J = 9,0 Hz, 1H, 5'-H), 6,98 (d, J = 2,0 Hz, 1H, 2'-H), 6,99 (dd, J = 2,0, 9,0 Hz, 1 H, 6'-H). ^{13}C -RMN: δ (CDCl_3) 32,2 (C-4), 55,2 - 56,3 (6 x s, 7 x OCH_3), 71,8 (C-3), 78,2 (C-2), 91,4 (C-8), 91,9 (C-3''/5''), 92,7 (C-6), 93,6 (C-3''/5''), 105,5, 109,8, 110,4 (C-2'), 111,0 (C-5'), 120,2 (C-6'), 132,0, 148,9, 149,0, 156,3, 158,2, 159,5, 160,0. CD: \square nm (θ), 211,60 ($6,762 \times 10^4$), 237,20 ($3,221 \times 10^4$), 258,60 ($5,108 \times 10^3$), 290,00 ($8,759 \times 10^3$).
- 30
- 35 Compuesto 16: Hallado \underline{M}^+ 512,20406, $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_9$ requiere \underline{M}^+ 512,20463, $(\underline{M}+\text{H})^+$ 513 (60), m/z 345 (80), 333 (100), 317 (75), 191 (21). IR: $\nu_{\text{máx}}$ 3526, 2941, 2828, 1598 cm^{-1} . ^1H -RMN: δ (DMSO) 3,28 - 3,78 (7 x s, 21H, 7 x OCH_3), 3,98 (m, 1H, 3-H), 4,21 (d, J = 6,0 Hz, 1H, 4-H_{rot}), 4,81 (d, J = 6,5 Hz, 1H, 4-H), 4,85 (d, J = 10,0 Hz, 1H, 2-H), 5,99 (d, J = 2,3 Hz, 1H, H-6), 6,02 (d, J = 10,0 Hz, 1H, 8-H), 6,14 (s. a., 1H, 3''/5''-H), 6,25 (s. a., 1H, 3''/5''-H), 6,86 (dd, J = 1,8, 8,3 Hz, 1 H, 6'-H), 6,90 (d, J = 1,8 Hz, 1 H, 2'-H), 6,91 (d, J = 8,3 Hz, 1 H, 5'-H). ^{13}C -RMN: δ (DMSO): 32,1 (C-4), 55,4 - 56,9 (6 x s, 7 x OCH_3), 70,40 (C-3), 78,4 (C-2), 91,15 (C-6), 92,7 (C-3''/5''), 93,0 (C-8), 93,8 (C-3''/5''), 106,1, 111,4, 111,7, 112,0 (C-5'), 120,8 (C-6'), 133,4, 148,7, 148,8, 156,5, 158,2, 159,4, 159,5, 160,0, 160,6. CD: nm (θ), 210,50 ($-5,362 \times 10^4$), 233,00 ($-1,464 \times 10^4$), 273,50 ($5,963 \times 10^3$), 293,00 ($6,651 \times 10^3$), 344,50 ($4,432 \times 10^3$).
- 40

Ejemplo 2

En la realización de la invención en la que el resto aromático nucleófilo del compuesto es un resto flavanilo, la especie de flavanol, en forma de flavan-3-ol, se puso en contacto con el derivado 3-oxo para formar un aducto de proantocianidina. Más particularmente, el compuesto 3 y el compuesto 4 del esquema 1, preparado de la manera descrita en el presente documento, se pusieron en contacto entre sí en presencia de AgBF_4 en THF como disolvente para producir (2R,4S:2R,3S)-5,7,3'4'-tetra-O-metilflavan-3-ona-[4→8]-5,7,3',4'-tetra-O-metilflavan-3-ol (compuesto 18) y (2R,4R:2R,3S)-5,7,3'4'-tetra-O-metilflavan-ona-[4→8]-5,7,3',4'-tetra-O-metilflavan-3-ol (compuesto 19), respectivamente. Esto se muestra a continuación en el esquema 4.



Con referencia al esquema 1 y al esquema 4, se prepararon los compuestos 18 y 19 de la siguiente manera:

Bajo una atmósfera de N_2 se disolvieron el compuesto 4 (50 mg, 0,145 mmol) y AgBF_4 (215 mg, 1,1 mmol) en THF (3 ml). Se añadió gota a gota una disolución del compuesto 3 (150 mg, 0,435 mmol) en THF (3 ml) y se sometió la mezcla de reacción a reflujo durante 4 horas. Se filtró la mezcla de reacción sobre SiO_2 (2 x 4 cm, T:A 7:3) y posteriormente se separó mediante CCP (T:A 7:3) para proporcionar el compuesto 18 (R_f 0,32, 68 mg, 72%) y el compuesto 19 (R_f 0,12, 12 mg, 12%), respectivamente.

Las características de los espectros para los aductos de floroglucinol en C-4 se exponen a continuación.

Compuesto 18 Hallado M^+ 688,23363, $\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{O}_{12}$ requiere M^+ 688,25198, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 689 (96) m/e 509 (52), 343 (100), 315 (28), 287 (19). IR: $\nu_{\text{máx}}$ 2939, 2838, 1720, 1611 cm^{-1} . ^1H -RMN: δ (CDCl_3) 2,55 [dd, $J = 9,4, 16,2$ Hz, 1 H, 4-H(F)], 3,06 [dd, $J = 5,6, 16,2$ Hz, 1 H, 4-H(F)], 3,53-3,89 (8 x s, 24H, 8 x OCH_3), 3,93 [m, 1 H, 3-H (F)], 4,49 [d, $J = 8,5$, 1 H, 2-H (F)], 5,09 [s, 1 H, 4-H(C)], 5,39 [s, 1H, 2-H(C)], 5,98 [d, $J = 2,4$ Hz, 1H, 6-H(A)], 6,09 [d, $J = 2,4$ Hz, 1 H, H-8(A)], 6,11 [s, 1H, 6-H (D)], 6,70 [d, $J = 8,4$ Hz, 1H, 5-H(B)], 6,79 [ddd, $J = 1,0, 2,0, 8,4$ Hz, 1H, 6-H(B)], 6,83 [d, $J = 2,0$ Hz, 1H, 2-H(B)], 6,88 [d, $J = 8,8$ Hz, 1H, 5-H(E)], 6,94 [dd, $J = 2,0, 8,8$ Hz, 1 H, 6-H(E)], 6,94 [d, $J = 2,0$ Hz, 1 H, 2-H(E)]. ^{13}C -RMN: δ (CDCl_3) 27,8 (C-4(F)), 30,9, 38,2 (C-3(F)), 55,3-56,2 (8 x OCH_3), 68,8 (C-4(C)), 81,6 (C-2(F)), 82,6 (C-2(C)), 88,6 (C-6(D)), 92,8 (C-8(A)), 94,0 (C-6(A)), 101,8, 106,1, 109,3 (C-2(B)), 110,0, 110,1 (C-2(E)), 110,9 (C-5(E)), 111,1 (C-5(B)), 118,2 (C-6(B)), 119,6 (C-6(E)), 128,0 (C-1(B)), 130,7 (C-1(E)), 148,7 (C-3(B)), 148,9 (C-4(B)), 149,0 (C-3(E)), 149,1 (C-4(E)), 152,4 (C-8(D)), 154,2 (C-5(D)), 156,9, 157,1 (C-7(D)), 158,6 (C-5(A)), 159,8 (C-7(A)), 206,1 (C-3). CD: nm (θ), 202,00 ($4,076 \times 10^4$), 214,20 ($1,445 \times 10^5$), 237,60 ($6,305 \times 10^4$), 259,00 ($1,141 \times 10^4$), 289,20 ($1,659 \times 10^4$), 348,20 ($-1,932 \times 10^3$).

Compuesto 19: Hallado M^+ 688,24550, $\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{O}_{12}$ requiere M^+ 688,25198, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 689 (100) m/e 509 (30), 343 (86), 315 (20), 287 (14). IR: $\nu_{\text{máx}}$ 2935, 2838, 1720, 1612, 1517 cm^{-1} . ^1H -RMN: δ (CDCl_3) 2,62 (dd, $J = 7,3, 16,5$ Hz, 1H, 4-H(F)_{ax}), 2,83 (dd, $J = 5,2, 16,5$ Hz, 1H, 4-H(F)_{eq}), 3,63-3,88 (8 x s, 24H, 8 x OCH_3), 4,4-4,8 [m, 1H, 3-H(F)], 4,85 [d, $J = 6,5$ Hz, 1H, 2-H(F)], 5,19 [d, $J = 1,4$ Hz, 1H, 2-H(C)], 5,42 [s, 1H, 4-H(C)], 6,08 [d, $J = 2,4$ Hz, 1H, 6-H(A)], 6,09 [s, 1H, 6-H(D)], 6,14 [d, $J = 2,4$ Hz, 1H, 8-H(A)], 6,72 [dd, $J = 1,9,$

ES 2 561 898 T3

5 8,3 Hz, 1H, 6-H(E)], 6,77 [d, J = 8,3 Hz, 1 H, 5-H(E)], 6,80 [d, J = 1,90 Hz, 1 H, 2-H(E)], 6,84 [dd, J = 1,6, 8,1 Hz, 1H, 6-H(B)], 6,85 [d, J = 8,1 Hz, 1H, 5-H(B)], 6,88 [d, J = 1,6 Hz, 1H, 2-H(B)]. ¹³C-RMN: δ (CDCl₃) 26,4 (C-4(F)), 30,9 (C-3(F)), 40,6 (C-4(C)), 55,3-56,2 (8 x OCH₃), 68,1, 81,4 (C-2(F)), 84,7 (C-2(C)), 89,0 (C-6(D)), 93,5 (C-6(A)), 94,0 (C-8(A)), 101,2, 107,8, 109,4 (C-2(E)), 109,9, 111,0 (C-5(B)), 111,1 (C-5(E)), 112,0 (C-2(B)), 119,1 (C-6(E)), 121,4 (C-6(B)), 127,6, 130,9, 148,9, 149,0, 149,1, 149,4, 152,4, 156,6, 156,7, 157,3, 158,9, 159,7, 206,1 (C-3). CD: nm (θ), 183,20 (3,958 x 10³), 188,80 (-1,789 x 10³), 192,60 (7,21 x 10²), 195,00 (-6,758 x 10²), 202,20 (4,926 x 10⁴), 211,80 (-4,122 x 10³), 289,80 (1,573 x 10⁴).

REIVINDICACIONES

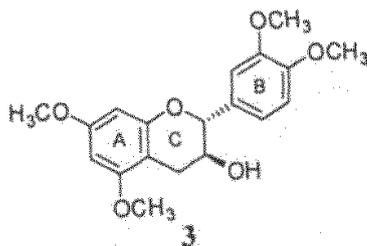
1. Método para la preparación de proantocianidinas y análogos de proantocianidina, comprendiendo el método

5

a) proporcionar el derivado 3-oxo (2R)-5,7,3',4'-tetrakis(metiloxi)flavan-3-ona;

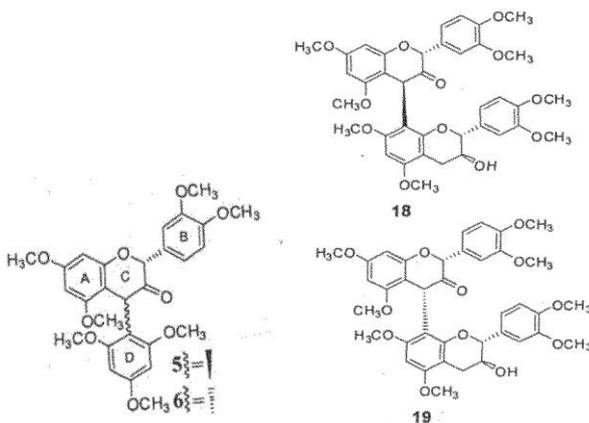
b) proporcionar el compuesto adicional 1,3,5-trimetoxibenceno o 5,7,3',4'-tetra-O-metilcatequina (compuesto 3);

10



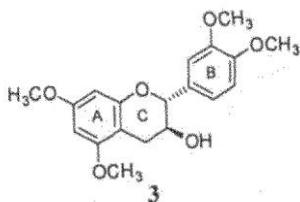
c) poner en contacto el derivado 3-oxo con el compuesto adicional en presencia de AgBF₄ en THF para formar aductos de floglucinol en C-4 (compuestos 5 y 6 o compuestos 18 y 19)

15



2. Método según la reivindicación 1, que comprende además hacer reaccionar el compuesto

20



bajo una atmósfera de nitrógeno con peryodinano de Dess-Martin en CH₂Cl₂ seco para formar (2R)-5,7,3',4'-tetrakis(metiloxi)flavan-3-ona como etapa inicial.

25

3. Método según la reivindicación 1 ó 2, que comprende además reducir los aductos de floglucinol en C-4, compuestos 5 y 6, según la reivindicación 1 con NaBH₄ en NaOH/MeOH acuoso para formar (2R,3S,4S) y (2R,3S,4R)-4-(1,3,5-tri-O-metil-floglucinol)-5,7,3',4'-tetra-O-metilflavan-3-ol (compuestos 14 y 16).

