



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Disseny, síntesi i avaluació biològica de nous compostos potencialment antitumorals per inhibició enzimàtica

Laura Grau Valls

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA I CIÈNCIES DE L'ALIMENTACIÓ

**DISSENY, SÍNTESI I AVALUACIÓ BIOLÒGICA DE NOUS  
COMPOSTOS POTENCIALMENT ANTITUMORALS PER INHIBICIÓ  
ENZIMÀTICA**

LAURA GRAU VALLS  
2017



UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA I CIÈNCIES DE L'ALIMENTACIÓ

PROGRAMA DE DOCTORAT DE QUÍMICA ORGÀNICA EXPERIMENTAL I  
INDUSTRIAL

**DISSENY, SÍNTESI I AVALUACIÓ BIOLÒGICA DE NOUS  
COMPOSTOS POTENCIALMENT ANTITUMORALS PER INHIBICIÓ  
ENZIMÀTICA**

Memòria presentada per Laura Grau Valls per optar al títol de doctor per  
la Universitat de Barcelona

M<sup>a</sup> Dolors Pujol Dilmé

Laura Grau Valls

LAURA GRAU VALLS, 2017



Barcelona 26 de junio de 2017

Señores,

La memoria de la tesis doctoral de Laura Grau Valls titulada “Diseño, síntesis y evaluación biológica de nuevos compuestos potencialmente antitumorales por inhibición enzimática”, ha sido realizada en el laboratorio de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona. Dicha memoria contiene parte de un trabajo confidencial y por esto

**EL DIRECTOR DEL TRABAJO EXPONE QUE:**

Con el fin de que la comisión científica puede evaluar el trabajo de tesis presentado por Laura Grau Valls, el grupo investigador acuerda revelar información substancial, confidencial y secreta, bajo las siguientes condiciones:

**CLAUSULAS**

1. a utilizar toda la Información única y exclusivamente con el fin de cumplir con el Objetivo del acuerdo;
- 2 a mantener la confidencialidad de la Información sea cual sea la forma por la que haya tenido conocimiento de la misma;

De conformidad con las obligaciones anteriores, los miembros de la comisión de evaluación no utilizarán ni revelarán directa o indirectamente la Información ni completa ni parcialmente excepto en lo pactado en este acuerdo.

El presente acuerdo es aceptado por las partes y, en prueba de ello, se procede a la firma, en el lugar y fecha indicados abajo del documento.

Laura Grau Valls

Dra. M. Dolors Pujol

Miembros de la Comisión de la tesis doctoral



## AGRAÏMENTS

Aquesta memòria constitueix una prova del que durant molt de temps, a vegades sembla que tota una vida, ha sigut el dia a dia, no només meu, sinó d'una colla de gent que ha estat present durant el transcurs d'aquesta tesis doctoral. Si bé és cert que hi ha hagut moments d'angoixa o patiment, aquests queden àmpliament eclipsats per tot allò après, les rialles, les bromes i l'estima cap a tota la gent que hi ha posat el seu gra d'arena.

A la primera persona a la que voldria dirigir aquests agraïments, és a la que ha aportat, no un gra d'arena, sinó una muntanya sencera, (com la d'on venim ambdues) és la Dra. Pujol. Podria mencionar una infinitat de motius pels quals donar-li les gràcies; l'oportunitat de tirar endavant aquest projecte, la confiança, els consells, els coneixements, l'ajuda, l'atenció o el consol en els mals moments, i els ànims i l'alegria en els bons, i sempre quedaran coses bones per mencionar. I és que aquesta aventura no comença amb una matrícula de doctorat, sinó molt abans, des del dia que va entrar com a professora a Química Farmacèutica durant el meu segon any de carrera. I és que des d'aquell moment, el laboratori d'MDP va passar a ser la meva segona casa on créixer tant professionalment com personalment, i ella va passar a ser una més de la família.

En segon lloc, voldria agrair al Dr. Klaus Pors haver-me acollit durant l'estada realitzada al seu grup i haver posat a la meva disposició els mitjans necessaris per desenvolupar part del projecte, així com haver-me ensenyat i format l'àmbit de la farmacologia i els cultius cel·lulars. De la mateixa manera, agraeixo a en Jordi Morral la seva col·laboració perquè aquest projecte es pogués dur a terme.

Agraeixo al Dr. Jaime Rubio i el seu equip els coneixements que m'ha ensenyat sobre càlcul i disseny computacional de fàrmacs.

Aquest doctorat no hagués estat el mateix sense totes aquelles persones que no només m'han ajudat a nivell de laboratori, sinó també a nivell personal. A la Lorena Navarro i a la Patrícia Mateo, gràcies pels consells i l'ajuda, per ser-hi sempre, per posar el món en perspectiva, per fer-me riure quan ho necessitava i per ser unes grans amigues. A la Marta Vilaplana, per ser una gran treball dirigit i millor doctoranda, pels bons moments que m'ha fet viure des de que va arribar, i els que ens queden. A la Lucia Acedo, l'Enric Lizano, la Vanessa Prieur i la Nina Heindler, gràcies pels bons moments al laboratori, els esmorzars i les bromes, les quals trobaré molt a faltar. Igualment, m'agradaria agrair a la Lina Elsalem, la Haneen Basheer, la Daniela Presa, l'Antonia Wierzbicki, en Jonny Ferrier i l'Adam Throup, per fer de la meva estada a Anglaterra una experiència inoblidable, fer-me sentir com si estés en família i que aprenguéssim al màxim.

Gràcies també al Dr. Richard Soucek, el Dr. Arturo Vinuesa i el Dr. Manel Romero, per marcar el camí i haver contribuït de forma directa en la tesis amb la seu treball previ, pels seus ànims i els seus consells. A la Yuyu Zhang Xiang, l'Isa de Llanza i l'Stefano Nasi per la seva col·laboració



en aquest treball. D'igual manera, gràcies a tots aquells que han estat treballant en el nostre grup i han aportat el seu granet en els bons moments viscuts al laboratori.

Aquest treball no hagués estat possible sense el suport econòmic rebut per part *del Ministerio de Ciencia e Innovación* mitjançant el projecte CTQ2011-29285-C02-01, així com les ajudes FI (març 2014-març 2017) per a la contractació de personal investigador novell, amb el suport de la Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Empresa i Coneixement de la Generalitat de Catalunya i el Fons Social Europeu. Durant aquest període també ha tingut lloc la participació en el Grup de Recerca de Qualitat 2014-2017 (SGR-1017). D'igual manera cal destacar també a la Fundació Universitària Pedro i Pons i a la Fundació Bosch i Gimpera pel seu ajut econòmic.

Agraeixo també als membres del tribunal la Dra. Rosa Maria Claramunt Vallespí, la Dra. Isabel Sánchez Rodríguez i el Dr. Daniel Henri Caignard la dedicació i temps que els ha suposat formar-ne part.

Finalment, voldria agrair a la meva família la seva ajuda i recolzament des de sempre. Per ser la millor família que es pot tenir, fer-me ser qui sóc, fer-me arribar fins aquí i fer-me seguir endavant.

Gràcies

## ABREVIATURES, ACRÒNIMS I FÓRMULES

ACHN: 1,1'-azobis(ciclohexanocarbonitril)  
AcOEt: Acetat d'etil  
ACN: Acetonitril  
ADSCs: Cèl·lules mare d'adult derivades d'adipós  
ADN/ DNA: Àcid desoxirribonucleic / *Deoxyribonucleic acid*  
Ang-2: *Angiopoietin*  
APC: Adenomatous Polyposis Coli  
APTS: Àcid *para*-toluensulfònic  
ASOs: *Antisense oligonucleotides*  
ATFA: Àcid trifluoroacètic  
BNIP3: *Bcl-2 Nineteen kilodalton Interacting Protein*  
CDI: Carbonildiimidazole  
CDK: Ciclina dependent de kinasa  
CCF: Cromatografia de capa fina  
CGRP: *Calcitonin Gene-Related Peptide*  
COX: Ciclooxygenasa  
CYP: *Cytochrome*  
d.: Dia/dies  
DAPK2: *Death-Associated Protein Kinase 2*  
DCM: Diclorometà  
DMA: *N,N*-dimetilacetamida  
DME: 1,2-Dimetoxietà  
DMF: Dimetilformamida  
DMSO: Dimetilsulfòxid  
EC<sub>50</sub>: *Half maximal effective concentration*  
ECFC: Cèl·lules progenitores d'endoteli humà  
ECM: *Extracellular matrix*  
EGFR: *Epidermal Growth Factor Receptor*  
EM: Espectroscopia de masses  
ER: *Endoplasmic Reticulum*  
ESI: Ionització per electroesprai  
EZH2: *Enhancer of Zeste Homolog 2*  
FAS: *Fatty Acid Synthase*  
FDA: *Food and Drug Administration*  
FGF: *Fibroblast Growth Factor*  
FTIs: *Farnesyl Transferase Inhibitors*  
GCO: *Global Cancer Observatory*  
h.: hora/hores  
HCR: *Hypoxic Cytotoxicity Ratio*  
HDL: *High-Density Lipoprotein*  
H&E: *Hematoxylin and eosin*  
HIF: *Hypoxia-Inducible Factors*  
HRAS: Harvey-Ras  
HTCL: *Human tumour cell lines*  
IC<sub>50</sub>: *Half maximal inhibitory concentration*  
ICT: *Institute of Cancer Therapeutics*  
IDL: *Intermediate-Density Lipoprotein*  
IE: Impacte electrònic  
IL-8: *Interleukin-8*

IL17: *Interleukin-17*  
ISCI: *Spanish National Centre for Epidemiology*  
IR: *Infraroig*  
kDa: *Kilodalton*  
KRAS: *Kirsten Rat Sarcoma*  
LDL: *Low-Density Lipoprotein*  
mAbs: *Monoclonal antibodies*  
MDSC: *Myeloid-Derived Suppressor Cells*  
MeOH: *Metanol*  
MHz: *Megahertz*  
MOM: *Clorometil metil èter*  
MTT: *3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide*  
NBS: *N-bromosuccinimida*  
NIS: *N-iodosuccinimida*  
NO: *Òxid nítric*  
NNMT: *Nicotinamida N-Methyl Transferase*  
MW: *Microones*  
NRAS: *Neuroblastoma-Ras*  
OIDD: *Open Innovation Drug Discovery*  
PBS: *Phosphate Buffered Saline*  
PCD: *Programmed Cell Death*  
PCSK9: *Pro-protein Convertase Subtilisin Kexin type 9*  
PDGFR: *Platelet-Derived Growth Factor Receptor*  
ppm: *Parts Per Milió*  
PRC2: *Polycomb Repressive Complex 2*  
pVHL: *Von Hippel-Lindau protein*  
q.c.: *Quantitat catalítica*  
R<sub>f</sub>: *Factor de retenció*  
RMN: *Ressonància Magnètica Nuclear*  
RPMI: *Roswell Park Memorial Institute*  
S<sub>E</sub>Ar: *Substitució electròfila aromàtica*  
siRNAs: *Small interfering RNAs*  
S<sub>N</sub>Ar: *Substitució Nucleòfila Aromàtica*  
t.a.: *Temperatura ambient*  
TBK1: *TANK-binding kinase 1*  
TMS: *Tetrametilsilà*  
TNF: *Factor de Necrosis Tumoral*  
Treg: *Regulatory T cells*  
Th: *T helper cells*  
THF: *Tetrahidrofuran*  
TNF: *Tumour Necrosis Factor*  
VDA: *Vascular disrupting agent*  
VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor*  
VLDL: *Very-Low-Density Lipoprotein*  
WHO: *World Health Organization*

## RESUM

Aquesta tesi doctoral està enfocada a la investigació de nous agents amb potencial activitat antitumoral, mitjançant la inhibició d'enzims claus per al desenvolupament i la progressió del càncer, com per exemple KRAS. De la mateixa manera, es busca la preparació de compostos que actuïn sobre més d'una diana i de forma selectiva contra les cèl·lules canceroses per tal de millorar l'eficàcia dels futurs tractaments i els seus efectes adversos.

S'ha dut a terme la preparació sintètica de tres sèries de compostos; la primera conté en la seva estructura els nuclis de diarilèter i diarilurea. La segona pren com a model el nucli del polifenol natural *resveratrol*, sobre el qual es fan modificacions estructurals, tant en els fenols com en el doble enllaç mitjançant la fixació de la configuració desitjada. Finalment, la tercera sèrie es basa en la preparació d'anàlegs de la *combretastatina A4* mitjançant modificacions en els dos anells aromàtics i la fixació de la seva configuració mitjançant la introducció d'un cicle. Els compostos s'han preparat utilitzant reaccions clàssiques de química orgànica i posteriorment purificats mitjançant tècniques de separació (cromatografia o recristal·lització) i s'ha dut a terme l'elucidació estructural corresponent. Finalment, s'ha realitzat l'avaluació biològica d'un dels compostos preparats, així com també d'altres caps de sèrie del nostre grup de treball, utilitzant assajos *in vitro* de viabilitat cel·lular en cèl·lules HT29 de càncer de colon mitjançant la tècnica del MTT. Per tal d'estudiar l'activitat antiproliferativa dels compostos en models *in vitro* representatius de l'ambient tumoral, s'han utilitzat cultius monocapa en condicions de normòxia i hipòxia, així com també models 3D com els esferoids.

## ABSTRACT

This PhD is focused on the discovery of new compounds with potential antitumour activity, through the inhibition of enzymes that are essential in cancer development and progression, like KRAS. At the same time, compounds that exert their activity upon more than one target and selectively in cancer cells are of interest in order to improve treatment efficacy and diminish its side effects.

Synthetic preparation of three new series of compounds has been carried out; the first one contains the core of a diarylether and diarylurea. The second takes as a model the scaffold from the natural polyphenol *resveratrol*, in which structural modifications are done in the phenol moieties and the double bond in order to fix the desired configuration. Finally, the third series is based in the preparation of *combretastatin A4* analogues through modification in the two aromatic rings and the fixation of the configuration with the introduction of a cycle. Compounds have been prepared using classical organic chemistry reactions and further purification with separation techniques (chromatography or recrystallization). The consequent structural elucidation has also been performed.

Finally, part of the biological evaluation of one of the compounds prepared, as well as other important leads from our group, has been carried out using *in vitro* assays based on cellular viability in colon cancer HT29 cells using the MTT technique. In order to study the antiproliferative activity of the different compounds in representative models of the tumour environment, monolayer cell cultures have been employed under normoxic and hypoxic conditions as well as 3D models like spheroids.



## ÍNDIX

ABREVIATURES, ACRÒNIMS I FÓRMULES .....	I
RESUM/ABSTRACT .....	III
1. INTRODUCCIÓ .....	1
1.1. Cancer .....	1
1.2. Types of cancer .....	1
1.3. Epidemiology .....	2
1.4. Treatments .....	4
1.5. Cancer prevention .....	7
1.6. Molecular targets in cancer therapy .....	10
1.6.1. KRAS .....	10
1.6.2. IL17: Autoimmunity and cancer .....	13
1.6.3. PCSK9 and cardiovascular diseases .....	15
1.7. Biological assays in cancer research .....	18
1.7.1. 3D multicellular cultures .....	19
1.7.2. Hypoxia in solid tumours .....	20
1.7.3. Compounds tested from our group .....	21
1.8. Model structures for our research group .....	22
1.8.1. Diarylureas and diarylethers .....	22
1.8.2. <i>Combretastatin A4</i> .....	26
1.8.3. <i>Resveratrol</i> .....	30
1.9. Previous work .....	32
1.9.1. Arylethers and arylureas .....	32
1.9.2. Poliphenols .....	33
1.9.3. <i>Combretastatin A4</i> .....	36
2. OBJETIUS .....	37
2.1. Primer objectiu .....	37
2.2. Segon objectiu .....	38
2.3. Tercer objectiu .....	41
3. DISCUSSIÓ TEÒRICA .....	43
3.1. Preparació d'arilèters .....	43
3.1.1. Preparació dels arilèters intermediaris <b>49-50</b> .....	43
3.1.2. Preparació de derivats <b>1-5</b> .....	46
3.1.3. Preparació de derivats <b>6-9</b> .....	50
3.1.4. Preparació de <b>10</b> .....	53
3.1.5. Preparació de les urees <b>11 i 12</b> .....	54
3.1.6. Assajos amb diarilamines .....	56
3.2. Preparació de derivats de <i>resveratrol</i> .....	56
3.2.1. Preparació de derivats <b>13a-16</b> .....	56
3.2.2. Preparació de derivats <b>17-22</b> .....	61
3.2.3. Preparació de derivats no cíclics del <i>resveratrol</i> .....	66
3.2.3.1. Preparació dels profàrmacs del <i>resveratrol</i> <b>23-31</b> .....	66
3.2.3.2. Preparació dels derivats de <i>resveratrol</i> <b>32 i 33</b> .....	72
3.3. Preparació de derivats de la <i>combretastatina A4</i> .....	74
3.3.1. Antecedents per a la preparació d'estilbens .....	74
3.3.2. Preparació de <b>34</b> .....	75
3.3.3. Preparació de <b>35</b> .....	78
3.3.4. Preparació de <b>36</b> .....	79
3.3.5. Preparació de <b>37</b> .....	81
3.3.6. Preparació de <b>121</b> .....	83
3.3.7. Preparació de <b>39</b> .....	83

3.3.8. Preparació de <b>40a</b> .....	85
3.3.9. Preparació de <b>40b</b> .....	88
3.3.10. Preparació de <b>41</b> .....	91
3.3.11. Preparació dels anàlegs <b>42a</b> i <b>42b</b> .....	91
3.3.12. Preparació dels anàlegs <b>43a</b> i <b>43b</b> .....	93
3.3.13. Preparació de l'anàleg <b>44</b> .....	95
3.3.14. Preparació de l'anàleg <b>132</b> .....	95
3.3.15. Preparació de <b>45</b> .....	96
3.3.16. Preparació dels l'anàleg <b>46</b> i <b>47</b> .....	98
3.3.17. Preparació de l'anàleg <b>48</b> .....	101
3.4. Resultats biològics .....	102
3.4.1. Resultats biològics dels derivats d'arilèters <b>6</b> i <b>7</b> .....	102
3.4.2. Resultats biològics dels derivats de <i>resveratrol</i> <b>19-21</b> i <b>28-30</b> .....	103
3.4.3. Resultats biològics dels derivats cíclics de la <i>combretastatina A4</i> <b>40a</b> , <b>40b</b> , <b>41</b> i <b>43a</b> .....	108
3.4.4. Biological activities evaluated in the ICT .....	115
4. PART EXPERIMENTAL .....	126
Materials, mètodes i dades generals en el laboratori de química orgànica .....	126
Materials, mètodes i dades generals en el laboratori de cultius cel·lulars .....	126
Preparació d' <b>1</b> .....	128
Preparació de <b>2</b> .....	129
Preparació de <b>3</b> .....	129
Preparació de <b>4</b> .....	130
Preparació de <b>5</b> .....	131
Preparació de <b>6</b> .....	131
Preparació de <b>7</b> .....	133
Preparació de <b>8</b> .....	133
Preparació de <b>9</b> .....	134
Preparación de <b>10</b> .....	134
Preparació d' <b>11</b> .....	135
Preparació de <b>12</b> .....	136
Preparació de <b>13a</b> .....	136
Preparació de <b>13b</b> .....	137
Preparació de <b>14</b> .....	137
Preparació de <b>15</b> .....	139
Preparació de <b>16</b> .....	139
Preparació de <b>17</b> .....	140
Preparació de <b>18</b> .....	140
Preparació de <b>19</b> .....	141
Preparació de <b>20</b> .....	141
Preparació de <b>21</b> .....	142
Preparació de <b>22</b> .....	143
Preparació de <b>23</b> .....	143
Preparació de <b>24</b> .....	144
Preparació de <b>25</b> .....	145
Preparació de <b>26</b> .....	146
Preparació de <b>27</b> , <b>28</b> i <b>29</b> .....	148
Preparació de <b>30</b> .....	150
Preparació de <b>31</b> .....	150
Preparació de <b>32</b> .....	151
Preparació de <b>33</b> .....	152
Preparació de <b>34</b> .....	153
Preparació de <b>35</b> .....	153

Preparació de <b>36</b> .....	155
Preparació de <b>37</b> .....	156
Preparació de <b>38</b> .....	157
Preparació de <b>39</b> .....	158
Preparació de <b>40a</b> .....	158
Preparació de <b>40b</b> .....	160
Preparació de <b>41</b> .....	161
Preparació de <b>42a i 42b</b> .....	162
Preparació de <b>43a i 43b</b> .....	164
Preparació de <b>44</b> .....	165
Preparació de <b>45</b> .....	165
Preparació de <b>46</b> .....	166
Preparació de <b>47</b> .....	167
Preparació de <b>48</b> .....	167
Preparació de <b>49</b> .....	168
Preparació de <b>50</b> .....	169
Preparació de <b>56</b> .....	169
Preparació de <b>58</b> .....	170
Preparació de <b>59</b> .....	171
Preparació de <b>64</b> .....	172
Preparació de <b>67</b> .....	172
Preparació de <b>68</b> .....	172
Preparació de <b>69</b> .....	173
Preparació de <b>75</b> .....	173
Preparació de <b>79</b> .....	174
Preparació de <b>80</b> .....	175
Preparació de <b>81</b> .....	175
Preparació de <b>85</b> .....	176
Preparació de <b>86</b> .....	176
Preparació de <b>94</b> .....	177
Preparació de <b>95</b> .....	177
Preparació de <b>97</b> .....	178
Preparació de <b>98</b> .....	178
Preparació de <b>102</b> .....	179
Preparació de <b>103</b> .....	179
Preparació de <b>105</b> .....	180
Preparació de <b>106</b> .....	181
Preparació de <b>107</b> .....	182
Preparació de <b>109</b> .....	182
Preparació de <b>110</b> .....	183
Preparació de <b>111</b> .....	183
Preparació de <b>114</b> .....	184
Preparació de <b>117</b> .....	185
Preparació de <b>118</b> .....	185
Preparació de <b>119</b> .....	186
Preparació de <b>121</b> .....	186
Preparació de <b>122</b> .....	187
Preparació de <b>132</b> .....	188
Preparació de <b>134</b> .....	188
Preparació de <b>135</b> .....	189
Preparació de <b>136</b> .....	189
Preparació de <b>137</b> .....	190



Preparació de <b>138</b> .....	191
Preparació de <b>139</b> .....	191
Preparació de <b>141</b> .....	192
Preparació de <b>143</b> .....	193
Preparació de <b>144</b> .....	193
Preparació de <b>145</b> .....	194
Preparació de <b>146</b> .....	195
Preparació de <b>149</b> .....	196
Preparació de <b>II</b> .....	196
Preparació de <b>III</b> .....	197
5. CONCLUSIONS FINALS/ FINAL CONCLUSIONS .....	198
6. BIBLIOGRAFIA .....	202

# 1. INTRODUCCIÓ

## 1.1. Cancer

Cancer is a group of diseases characterised by a malfunctioning and uncontrolled cell division that can spread into surrounding tissues and even invade distant organs through the blood or the lymph system, forming metastasis. Its principal molecular mechanisms are based on the self-sufficiency in growth signals, the insensitivity to anti-growth ones, the creation of an inflammatory microenvironment, the ability to invade tissues and form metastasis, its limitless replicative potential, its sustained angiogenic capacity and the ability to evade apoptosis and the immune system response.<sup>1</sup>

It is believed that cancer is a genetic disease related to mutations in the genes that control cell growth and division and can be inherited (which represent about 5 to 10 percent of all cancers)<sup>2</sup> or acquired during the lifetime. These mutations produce changes in one cell or group of cells that later on, divide uncontrollably forming the cancer, and they usually affect the following types of genes, which are usually known as the drivers of cancer:<sup>2,3</sup>

- Proto-oncogenes: their physiological function is to encourage and regulate normal cell growth and division, but when they undergo a mutation they may trigger tumorigenic pathways. Ex: *bcr-abl*, *Pokemon*.<sup>4</sup> They can be over expressed or/and have increased function thus, the cell is permanently instructed to divide. If this happens, they are renamed as oncogenes. Ex: *Ras*.
- Tumour suppressor genes: they usually inhibit the cell from growing and dividing. When they mutate its activity decreases and cells may divide uncontrolled. Ex: *p53*, *APC*, *BRCA1*.<sup>4</sup>
- DNA repair genes: when DNA is damage, these genes fix it, but when mutated, they lose their function and additional mutation occurs. Ex: *BER*, *NER*, *MMR*.<sup>5</sup>
- Apoptotic genes: when the DNA or the cell itself is too damaged to be repaired, it undergoes a programmed cell death to prevent cancer formation, known as apoptosis. If this gens mutate, the cell can survive and become cancerous. Ex: *E1A*.<sup>6</sup>

## 1.2. Types of cancer

Although there are more than a hundred types of cancer, they can be classified depending on their primary site of origin as well as the their tissue type as shown below:<sup>2,3</sup>

- Carcinoma. They are formed by epithelial cells and represent the most common type of cancer. They can be specifically named depending on the epithelial cell they affect: adenocarcinoma (epithelial cells in glandular tissues) like most breast, colon and prostate cancers, basal cell carcinoma (basal layer of the epidermis), squamous cell carcinoma or epidermoid carcinomas (epithelial found beneath the outer surface of the skin), transitional cell carcinoma (formed in the transitional epithelium or urothelium).

<sup>1</sup> F. Colotta; P. Allavena; A. Sica; C. Garlanda; A. Mantovani. *Carcinogenesis* **2009**, *30*, 1073-1081.

<sup>2</sup> <https://www.cancer.gov/about-cancer> (Date: 07/03/2017)

<sup>3</sup> <http://www.cancerresearchuk.org> (Date: 07/03/2017)

<sup>4</sup> R. Airley. *Cancer Chemotherapy: Basic Science to the Clinic*; Wiley-Blackwell **2009**, ISBN: 978-0-470-09254-5.

<sup>5</sup> C. G. Broustas; H. B. Lieberman; *Radiat. Res.* **2014**, *181*, 111-130.

<sup>6</sup> B. Opalka; A. Dickopp; H. C. Kirch; *Cells Tissues Organs* **2002**, *172*, 126-132.

- Sarcomas. Sarcomas are generated in connective or supportive tissues like the bone (being osteosarcoma the most common type) and soft tissues such as muscle, fat or blood vessels. They represent less than 1% cancers diagnosed.
- Leukaemia. Formed in the bone marrow, they do not form solid tumours but release high quantities of abnormal white blood cells into the blood. Although they are the most common type of cancer in children, they just represent 3% of all cancer cases.
- Lymphomas and multiple myelomas. They are both generated in the lymphatic system. Lymphomas are more frequent than myelomas, representing 5% of all cancers and while myelomas makes up about 1%.
- Melanomas. Their origin are the melanocytes and its precursors.
- Tumours than can be benign or malignant (cancer), like neuroendocrine or germ cell tumours.

### 1.3. Epidemiology

According to the last data published from REDECAN (Spanish Network of Cancer Registries) the total number of new cancers in Spain in 2015 was 247,771 (148,827 in men and 98,944 in women). The most frequently diagnosed cancers and that together constitute over half of all new cases<sup>4</sup> were colorectal cancer (41,441 cases), prostate (33,370 cases), lung (28,347 cases), breast (27,747 cases) and bladder (21,093 cases)<sup>9</sup> and they are distributed by sex as shown in Table 1.<sup>7</sup>

Table 1: More frequently diagnosed cancer by sex in Spain in 2015<sup>7</sup>

MEN	WOMEN
Prostate (33,370 cases)	Breast (27,747 cases)
Colorectal (24,764 cases)	Colorectal (16,677 cases)
Lung (22,430 cases)	Uterus (6,160 cases)
Bladder (17,439 cases)	Lung (5,917 cases)
Stomach (5,150 cases)	Bladder (3,654 cases)

Worldwide, cancer is still one of the main causes of morbimortality and the second leading cause of death (after ischemic heart disease and stroke) in 2015. According to the most recent data from the World Health Organization (WHO), cancer-related deaths were of 8.8 millions in 2015 and the number of new cases is expected to rise by 70% over the next two decades. Globally, the tumours that caused more deaths during 2015 were the ones in the lung (with 1.69 million deaths), liver (788,000 deaths), colorectal (774,000 deaths), stomach (754,000 deaths) and breast (571,000 deaths).<sup>8</sup>

Luckily, despite the high mortality rate of cancer, its survival has increased during the last years all over Europe, specially for lymphomas, colorectal and prostate cancer due to the advances in the prevention, early diagnoses and treatments.<sup>9</sup>

<sup>7</sup> J. Galceran; A. Ameijide; M. Carulla; A. Mateos; J. R. Quirós; D. Rojas; A. Alemán; A. Torrella; M. Chico; M. Vicente; J. M. Díaz; N. Larrañaga; R. Marcos-Gragera; M. J. Sánchez; J. Perucha; P. Franch; C. Navarro; E. Ardanaz; J. Bigorra; P. Rodrigo; R. P. Bonet, REDECAN Working Group. *Clin. Transl. Oncol.* **2017**.

<sup>8</sup> <http://www.who.int> (Date: 08/03/2017)

<sup>9</sup> <http://www.seom.org> (Date: 07/03/2017)

### 1.3.1. Cancer in Spain

Spain is one of the countries where more cancers are diagnosed and cause more deaths, but taking into account its high life expectancy if we compare cancer incidence and mortality by age, Spain would not be among the 20 European countries with highest cancer incidence and mortality.<sup>9</sup>

In 2014, there were 106,039 deaths caused by cancer in Spain, and the tumours that cause more deceases were lung (21,220 deaths), colorectal (15,449 deaths), pancreatic (6,278 deaths), breast (6,213 deaths) and prostate cancer (5,855 deaths).<sup>9</sup>

It is important to highlight the difference between men and women when talking about the mortality impact that cancer has on them. While malignant tumours represent the leading cause of death in men (65,014 deaths in 2014), followed by cardiovascular (52,907 deaths) and respiratory diseases (24,798 deaths), in women the major cause of death are cardiovascular diseases (63,546 deaths), followed by cancer (41,020 deaths) and respiratory diseases (18,881 deaths) (Figure 1) according to the Spanish National Centre for Epidemiology (ISCIII).<sup>10</sup>

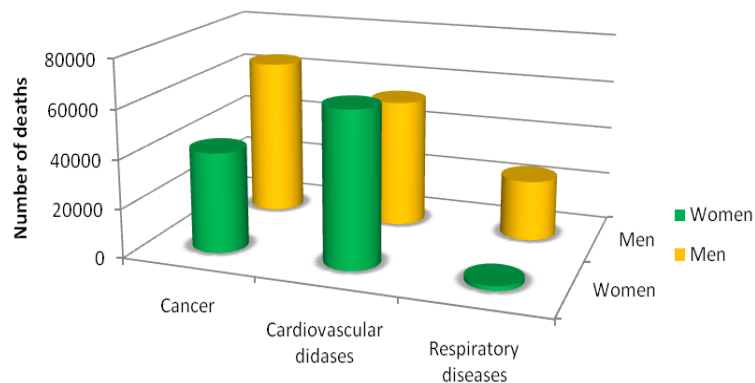


Figure 1: Main causes of death in 2014 in Spain by sex<sup>10</sup>

When talking about the type of cancer, a difference can also be observed depending on the gender of the patient. The type of tumours that cause most deceases has been maintained over the last years and are as showed in Table 2.<sup>10</sup>

Table 2: Tumours that caused more deaths during 2014 in Spain by sex<sup>10</sup>

Men	Women
Lung (17,173 deaths)	Breast (6,213 deaths)
Colorectal (6,951 deaths)	Colorectal (4,827 deaths)
Prostate (5,855 deaths)	Lung (4,047 deaths)
Bladder (3,894 deaths)	Pancreas (3,085 deaths)
Liver (3,389 deaths)	Stomach (2,194 deaths)
Stomach (3,328 deaths)	Uterus (2,185 deaths)
Pancreas (3,193 deaths)	Ovary (2,152 deaths)

These gender-related differences can partially explain why cancer is the first dying cause in man but not in women if we take into account the higher survival rate of breast cancer compared to the lung one.

<sup>10</sup> <http://www.isciii.es> (Date: 08/03/2017)

## 1.4. Treatments

Cancer is generally treated using a combination of different treatments, usually starting, if possible, by removing the tumorigenic tissue by surgery in combination with pre- and post- chemotherapy and/or radiation therapy.<sup>2</sup>

### Radiotherapy

Radiation therapy uses high doses of radiation (high-energy particles or waves), generally X-rays, to slow the growth or kill cancerous cells by damaging their DNA.<sup>3</sup> It takes some time (days or weeks) for cancerous cells to start dying because of it, and once the therapy is finished, they continue dying during weeks or months.<sup>2</sup> Radiotherapy is used in about 40% of all cancer treatments.<sup>3</sup>

### Chemotherapy

Chemotherapy usually refers to the use of cytotoxic drugs in order to induce cancer remission by killing cells during their dividing process, therefore, resting cells, like most normal cells in the body, will not be too damaged. Nevertheless, it will affect normal cells that usually have a high division rate, such as the ones in the skin, bone marrow, hair or in the lining on the gut, causing most of the side effect of chemo.<sup>3</sup> Chemotherapy can be used either before or after surgically removing the cancerous tissue. When used before the surgery, it is called neoadjuvant chemotherapy and its aim is to make the tumour smaller and easier to remove. When given after the surgery, it is called adjuvant chemotherapy and its objective is to destroy cancer cells that can remain in the body.<sup>2</sup>

Classical anticancer agents can be divided into the following groups according to the phase of the cell cycle at which they are most active:<sup>4</sup>

- Antimetabolites: they act during the DNA synthesis (*S* phase) and are basically analogues of nucleic acid bases that, after being converted into nucleotides, are incorporated into DNA causing disrupts in its structure. *Methotrexate*, *cytarabine*, *5-fluorouracil* and *6-mercaptopurine* are some examples of this group.
- Topoisomerase inhibitors: they act also in the *S* phase of the cell cycle, specifically during DNA replication, by inhibiting the enzyme topoisomerase I or II (like *camptothecin* analogues such as *irinotecan* and epipodophyllotoxins such as *etoposide* respectively).
- Tubulin inhibitors: they act during the mitosis phase by preventing the formation of the mitotic spindle due to their binding to tubulin subunits. Classical examples of this group are *vincristine* and *paclitaxel*.
- Alkylating agents: they act by alkylating DNA bases, leading to the formation of cross-links in DNA. Examples include nitrogen mustards like *cyclophosphamide* and platinum based alkylating agents like *cisplatin* and *oxaliplatin*.
- DNA intercalating and groove-binding agents: these agents intercalate into the DNA double helix due to its planar structure or bind to the minor groove of the double helix respectively. They are mainly represented by *doxorubicin*, *bleomycin* and *mitomycin C*.

### Hormone therapy

Hormone, hormonal or endocrine therapy is based on the inhibition of the hormone signals that some hormone dependent cancer cells need to develop (some breast, prostate or ovarian cancer for example). This type of treatment usually works by either stopping the production of hormones or by blocking its

effects in their target.<sup>2,3</sup> Some well-known examples of this group are the oestrogen antagonist *fulvestrant*, the aromatase inhibitors *anastrozole* and *letrozole* (oestrogen receptor positive breast cancer in postmenopausal women) or the anti-androgens *cyproterone* and *flutamide* (prostate cancer).

### Biological Therapies: Immunotherapy

Classification of biological therapies is usually complicated and may vary depending on what is taken into consideration (mechanism of action, origin, etc.). According to the National Cancer Institute (NCI)<sup>2</sup> from the National Institutes of Health (NIH), biological therapies are those that "use living organisms or substances derived from them, or their laboratory-produced versions to treat diseases".

These type of therapies are more recent than chemotherapy and some of them are still experimental. One of the most known biological therapies is Immunotherapy, which is based on the stimulation of the immune system of the patient so it can control cancer. The most common types of immunotherapy consist in monoclonal antibodies to increase the body's response against cancer cells, and adoptive cell transfer, which enhance function of the T cells from the same patient to destroy cancer by extracting, modifying and returning them to the patient. In addition, there are cytokines, mainly interferons and interleukins, and treatment vaccines that modify the natural immune response.

### Targeted therapies

Targeted therapy acts against features that are specific of cancer cells, thus implying more selectivity for the malignant cells against the healthy ones compared with classical chemotherapy, which at the end is translated into more efficacy and less adverse effects. The changes that make cancer cells different from healthy ones, and that are the basis for targeted therapies, are the ones that usually allows and enhances growth, progression, and spread of cancer.<sup>2,3</sup>

Two main different types of targeted therapies can be found depending on the nature of the treatment:

- Small-molecule drugs. Small-molecule drugs offer several potential benefits over biological drugs, such as oral or topical administration and potentially lower costs.
- Monoclonal antibodies. These therapies can act through a variety of mechanisms. Some examples that have been approved and are used in nowadays clinic's are *trastuzumab* (Herceptin®) (breast and stomach cancers), *vemurafenib* (Zelboraf®) (melanoma) and *imatinib mesylate* (Gleevec®) (leukaemia).

Although the use of targeted therapies is increasing substantially in the last decades,<sup>11</sup> they also present some problems;

- As happens with classical chemotherapy, treatment resistances may appear after a while: because cancer cells mutate easily and fast, cells can change the molecular target of a specific treatment.<sup>2</sup>
- They represent higher economical impact: because their targets are difficult to identify and study, and specially because they are hard to develop, their cost is usually higher than chemo. This is especially important for targeted therapy consisting in monoclonal antibodies. According to Shih et al.<sup>11</sup> targeted medication in cancer is the major source of the rising cost of all anticancer drugs in recent years. Between 2001 and 2011 the proportion of patients treated with these drugs increased from 13% to 43%, representing a shift from 22% to 63% of all anticancer drug expenditures.

---

<sup>11</sup> Y. T. Shih; F. Smieliauskas; D. M. Geynisman, R. J. Kelly; T. J. Smith. *Journal of Clinical Oncology* **2009**, *33*, 2190-96.

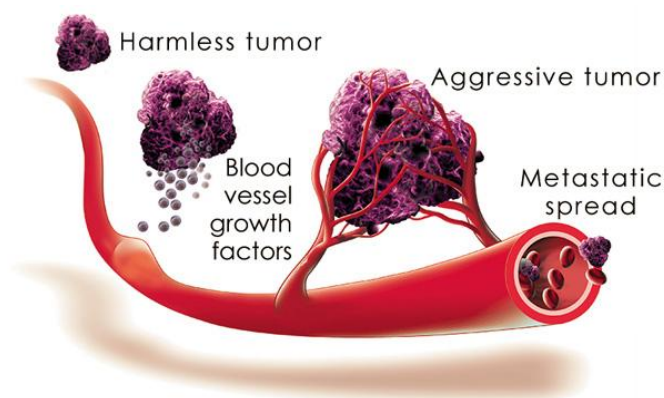
- Although they were expected to be less toxic than normal chemotherapy, monoclonal antibodies also present some important side effects such as allergic reaction, fever, diarrhoea and liver problems, breathlessness, problems with blood clotting, high blood pressure and skin problems.<sup>2</sup>
- Because of their proteic nature, they have to be administered systemically by intravenous route since they suffer degradation in the stomach and intestinal tract.

### Antiangiogenic and antivascular agents

When talking about targeted therapies, a special mention should be done to the treatments based in blocking the angiogenesis process due to the relevance in this project. By angiogenesis we understand the formation of new blood vessels derived from the need of the tumour to obtain more oxygen and nutrients (Figure 2). This process takes place because cancerous tumours produce mediators that trigger the formation of a distinctive tumour blood supply.<sup>12</sup>

Classical chemotherapy is based in its cytotoxic effect due to their ability in blocking cell division. Judah Folkman was a pioneer in the study of angiogenesis, and in 1971 formulated the hypothesis<sup>13</sup> that once a tumour is big enough, nutrients and oxygen that diffuses from the host blood supply will not be sufficient, so a new tumour blood supply is created that allows them to survive and grow.

Therefore, if tumour growth is angiogenesis dependent, cutting off this supply could be a new methodology to starve the tumour into remission. The studies at that moment had proven that cancerous tumours produce proteins that triggers the formation of a distinctive tumour blood supply.<sup>12</sup> Among others, some angiogenesis endogenous activators are the vascular endothelial growth factor (VEGF), the fibroblast growth factor (FGF), the tumour necrosis factor (TNF) and interleukin-8 (IL-8).<sup>4</sup>



Following this hypothesis, antiangiogenic agents are considered for the first time in 2004 for cancer treatment. These are drugs that inhibit the formation of new vessels.<sup>4</sup> On the contrary, those drugs that disrupt the structure or function of previously formed vessels are considered vascular disrupting agents, and they cause a rapid collapse and shut down of established tumour blood vessels, creating regional tumour ischemia and necrosis.

Figure 2: Angiogenic process in a tumour. From<sup>14</sup>

Some examples of angiogenesis inhibitors<sup>12,15</sup> are *interferon alpha* and *beta*, *angiostatin* and *endostatin*, *thalidomide* and some monoclonal antibodies such as *bevacizumab* and *sunitinib*.

As antivascular agents, some of the following can be found: flavonoids, like acid 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid (*DMXAA*). It restricts tumour blood flow by an NFκB-dependent pathway and increases the production of TNF alpha and other cytokines, among other mechanisms. Tubulin-binding agents should also

<sup>12</sup> D. Ribatti. *Angiogenesis* **2008**, *11*, 3-10.

<sup>13</sup> J. Folkman. *N. Engl. J. Med.* **1971**, *285*, 1182-1186.

<sup>14</sup> <http://www.phiab.se/> (Date: 26/05/2017)

<sup>15</sup> B. Al-Husein; M. Abdalla; M. Trepte; D. L. Deremer; P. R. Somanath. *Pharmacotherapy* **2012**, *32*, 1095-1111.

be considered in this group, mostly represented by *Combretastatin-A4*, which will be discussed in detail in a subsequent section.

Therapies based in antiangiogenic mechanisms are usually used as adjuvant and in combination with different inhibitors to take a more comprehensive approach in blocking tumour angiogenesis.<sup>12</sup>

The kind of treatment that is used in a patient varies depending on many factors, specially the type of cancer and how advanced this is. In Table 3, a list of the approved antineoplastics and immunomodulators in the Pharmacotherapeutic guide of the *Hospital Clínic de Barcelona*(2015 Edition)<sup>16</sup> is shown.

## 1.5. Cancer prevention

Although there are mutations that may predispose to cancer, there are several factors that enhance its appearance in a person. Some of these factors cannot be controlled, such as age and family history.

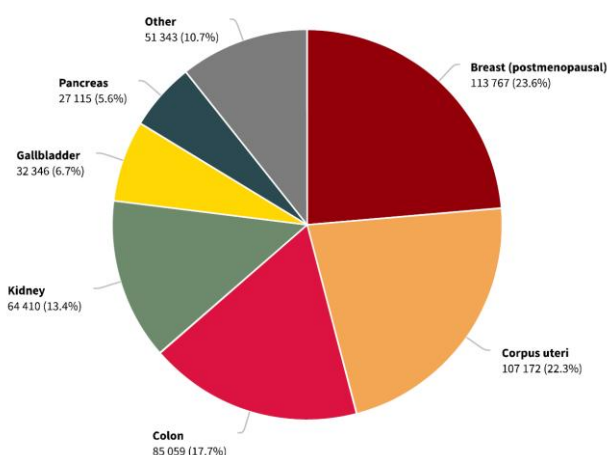


Figure 3: Cancer cases among both sexes (worldwide) in 2012 attributable to excess body mass index, shown by anatomical site as percentages of the total number of all such attributable cases at all anatomical sites in this population. From<sup>7</sup>

Nevertheless, some predisposing factors that can be reduced or eliminated and may contribute to the prevention of cancer. Among these, we find tobacco (being responsible for 33% of all cancers), alcohol (12%), infectious agents (18% mainly in developing countries), diet, obesity, ultraviolet radiation from the sun, chronic inflammation, immunosuppression, hormones, other radiation and carcinogen substances (some of them present in the environment).<sup>9</sup>

According to the IARC World Cancer Report 2014, one third of the deaths caused by cancer are due to avoidable causes related directly to the lifestyle like tobacco, alcohol or infections. Furthermore, the Global Cancer Observatory (GCO) from IARC has recently pointed out obesity as one of the main causes to new tumours appearances as shown in Figure 3.<sup>17</sup>

<sup>16</sup> Servicio de Farmacia del Hospital Clínic, *Guía farmacoterpeutica*, Versión 03, Edición 10/09/2015. Hospital Clínic de Barcelona.

<sup>17</sup> <http://gco.iarc.fr/obesity/tools-pie> (Date: 08/03/2017)



Table 3: Antineoplastics and immunomodulators in the Pharmacotherapeutic guide of Hospital Clínic (2015 Edition)<sup>16</sup>

<b>CITOSTÁTICOS</b>		
<b>Agentes alquilantes: mostazas nitrogenadas</b>		
PRINCIPIO ACTIVO	VIA	NOMBRE COMERCIAL
Bendamustina	IV	<i>Levact</i>
Ciclofosfamida	VO, IV	<i>Genoxal</i>
Clorambucilo	VO	<i>Leukeran</i>
Ifosfamida	IV	<i>Tronoxal</i>
Melfalan	VO, IV	<i>Melfalan GSK</i>
<b>Agentes alquilantes: alquilsulfonatos</b>		
Busulfan	VO, IV	<i>Busulfano Aspen Busilvex</i>
<b>Agentes alquilantes: alquilsulfonatos</b>		
Busulfan	VO IV	<i>Busulfano Aspen Busilvex</i>
<b>Agentes alquilantes: etilenoiminas</b>		
Tiotepa	IV	<i>Tepadina</i>
<b>Agentes alquilantes: nitrosoureas</b>		
Carmustina (BCNU)	IV Intralesion	<i>BICNU Gliadel CONG</i>
Estreptozocina	IV	<i>Zanosar</i>
Fotemustina	IV	<i>Mustoforan</i>
Lomustina (CCNU)	VO	<i>CEENU</i>
<b>Otros agentes alquilantes</b>		
Dacarbazina (DTIC)	IV	<i>Dacarbazina medac</i>
Temozolamida	VO	<i>Temodal</i>
<b>Antimetabolitos: análogos del ácido fólico</b>		
Metotrexato	VO IV, IM, SC, IT	<i>Metotrexato Wyeth Oral, Metotrexato Mylan, Metoject</i>
Pemetrexed	IV	<i>Alimta</i>
Raltitrexed	IV	<i>Tomudex</i>
<b>Análogos de la purina</b>		
Cladribina2-CdA)	IV	<i>Leustatin</i>
Fludarabina	IV	<i>Beneflur</i>
Mercaptopurina	VO	<i>Mercaptopurina Aspen</i>
<b>Análogos de la pirimidina</b>		
Azacitidina	SC, IV	<i>Vidaza</i>
Capecitabina	VO	<i>Xeloda</i>
Citarabina (Ara-C)	IV,SC,IT	<i>Citarabina</i>
Citarabina liposomal	IT	<i>Depocyte</i>
Fluorouracilo (5FU)	IV	<i>Fluorouracilo Accord EFG, FFerrer Farma</i>
Gemcitabina	IV	<i>Gemzar</i>
<b>Alcaloides de la vinca y análogos</b>		
Vincristina	IV	<i>Vincrisul</i>
Vindesina	IV	<i>Enison</i>
Vinorelbina	VO, IV	<i>Navelbine</i>
Vinflunina	IV	<i>Javlor</i>
<b>Derivados de la podofilotoxina</b>		
Etopósido (VP-16)	IV	<i>Vepesid</i>
<b>Taxanos</b>		
Cabazitaxel	IV	<i>Jevtana</i>
Docetaxel	IV	<i>Taxotere, Docetaxel hospira</i>
Paclitaxel	IV	<i>Taxol, Paclitaxel hospira</i>
Paclitaxel albúmina	IV	<i>Abraxane</i>

<b>Otros alcaloides de plantas y productos naturales</b>		
Trabectedina	IV	<i>Yondelis N</i>
<b>Antraciclinas y productos relacionados</b>		
Daunorubicina	IV	<i>Daunoblastina</i>
Doxorubicina (Adriamicina, Hidroxidaunomicina)	IV Intraarterial	<i>Farmiblastina, Doxorubicina Tedec, Farmiblastina Doxorubicina Tedec</i>
Doxorubicina liposomal	IV	<i>Myocet</i>
Doxorubicina liposomal pegilada	IV	<i>Caelyx</i>
Epirubicina	IV	<i>Farmorubicina</i>
Idarubicina	IV	<i>Zavedos</i>
Mitoxantrona	IV	<i>Novantrone, Pralifan</i>
<b>Otros antibióticos citotóxicos</b>		
Bleomicina	IV,IM, SC, Intraperitoneal	<i>Bleomicina mylan</i>
Mitomicina	IV	<i>Mitomycin C</i>
<b>Otros citostáticos: Derivados del platino</b>		
Carboplatino	IV	<i>Carboplatino Teva, Paraplatin</i>
Cisplatino	IV Intraperitoneal, Intraperitoneal	<i>Neoplatin, Cisplatino Teva</i>
Oxaliplatin	IV	<i>Eloxatin, Oxaliplatin o Teva</i>
<b>Otros citostáticos: Anticuerpos monoclonales</b>		
Alemtuzumab	IV	<i>Mabcampath</i>
Bevacizumab	Intravítrea IV	<i>Avastin</i>
Cetuximab	IV	<i>Erbitux</i>
Ibritumomab tiuxetan	IV	<i>Zevalin</i>
Panitumumab	IV	<i>Vectibix</i>
Rituximab	IV	<i>Mabthera</i>
Trastuzumab	IV	<i>Herceptin</i>
Pertuzumab	IV	<i>Perjeta</i>
Axitinib	VO	<i>Inlyta</i>
<b>Sensibilizadores usados en terapia fotodinámica y radiación</b>		
5-Aminolevulínico, ácido	VO	<i>Gliolan, Ameluz</i>
<b>Inhibidores directos de la protein-quinasa</b>		
Dasatinib	VO	<i>Sprycel</i>
Erlotinib	VO	<i>Tarceva</i>
Everolimus	VO	<i>Afinitor</i>
Gefitinib	VO	<i>Iressa</i>
Imatinib	VO	<i>Glivec</i>
Lapatinib ditosilato	VO	<i>Tyverb</i>
Nilotinib	VO	<i>Tasigna</i>
Pazopanib	VO	<i>Votrient</i>
Sorafenib	VO	<i>Nexavar</i>
Sunitinib	VO	<i>Sutent</i>
Temsirolimus	IV	<i>Torisel N</i>
Crizotinib	VO	<i>Xalcori</i>
Vemurafenib	VO	<i>Zelboraf</i>
Vandetanib	VO	<i>Caprelsa</i>
Afatinib	VO	<i>Giotrif</i>
Ruxolitinib	VO	<i>Jacavi</i>

<b>Otros citostáticos</b>		
Arsénico trióxido	IV	<i>Trisenox</i>
Asparaginasa <i>E. Coli</i>	IM, IV	<i>Kidrolase</i>
Asparaginasa erwinia	IM, IV	<i>Erwinase</i>
Asparaginasa pegilada	IM, IV	<i>Oncaspar</i>
Bexaroteno	VO	<i>Targretin</i>
Bortezomib	IV, SC	<i>Velcade</i>
Estramustina	VO	<i>Estracyt</i>
Hidroxycarbamida (Hidroxiurea)	VO	<i>Hydrea</i>
Irinotecan	IV	<i>Irinotecan , Campto</i>
Pentostatina	IV	<i>Nipent</i>
Topotecán	VO, IV	<i>Hycamtin</i>
Tretinoína	VO	<i>Vesanoid</i>
Aflibercept	IV	<i>Zaltrap</i>
Eribulina	IV	<i>Halaven</i>
Arsénico trióxido	IV	<i>Trisenox</i>
Asparaginasa <i>E. Coli</i>	IM, IV	<i>Kidrolase</i>
<b>TERAPIA ENDOCRINA</b>		
<b>Hormonas y derivados: Progestágenos</b>		
Megestrol acetato	VO	<i>Borea, Maygace, Megefren</i>
<b>Análogos de hormonas liberadoras de gonadotropinas</b>		
Triptorelina	IM	<i>Decaptedyl mensual</i>
<b>Antiestrógenos</b>		
Tamoxifeno	VO	<i>Nolvadex, Tamoxifeno</i>
<b>Antiandrógenos</b>		
Bicalutamida	VO	<i>Casodex</i>
Flutamida	VO	<i>Eulexin, Grisetin, Oncosal, Prostagur</i>
Enzalutamida	VO	<i>Xtandi</i>
<b>Antagonistas hormonales: Inhibidores enzimáticos</b>		
Anastrozol	VO	<i>Arimidex</i>
<b>Otros antagonistas de hormonas y sustancias relacionadas</b>		
Abiraterona	VO	<i>Zytiga</i>
<b>INMUNOESTIMULANTES</b>		
<b>Estimulantes de colonias</b>		
Filgrastim	SC,IV	<i>Neupogen , Zarzio</i>
Pegfilgrastim	SC	<i>Neulasta</i>
Lenograstim	IV, SC	<i>Granocyte</i>
<b>Interferones</b>		
Interferón alfa-2B	IV, SC	<i>IntronA</i>
Interferón alfa-2A pegilado (Peginterferón alfa-2A)	SC	<i>Pegasys</i>
Interferón alfa-2B pegilado (Peginterferón alfa-2B)	SC	<i>Pegintron</i>
Interferón beta-1A	IM, SC	<i>Avonex, Rebi, Rebif</i>
Interferón beta-1B	SC	<i>Betaferon, Extavia</i>
<b>Interleukinas</b>		
Aldesleukina	SC	<i>Proleukin</i>

<b>Otros inmunoestimulantes</b>		
Glatiramero	SC	<i>Copaxone</i>
BCG	Intravenosa	<i>ImmuCyst BCG Oncotice, Vejicur</i>
Tasonermina (factor de necrosis tumoral alfa 1-a, TNF $\alpha$ -1a)	Perf.Int raarter ail	<i>Beromun</i>
Plerixafor		<i>Mozobil</i>
<b>INMUNOSUPRESORES</b>		
<b>Inmunosupresores selectivos</b>		
Abatacept	IV	<i>Orencia</i>
Adalimumab	SC	<i>Humira</i>
Anakinra	SC	<i>Kineret</i>
Basiliximab	IV	<i>Simulect</i>
Eculizumab	IV	<i>Soliris</i>
Everolimus	VO	<i>Modigraf Certican</i>
Fingolimod	VO	<i>Gilenya</i>
Infliximab	IV	<i>Remicade Inflectra (biosimilar)</i>
Inmunoglobulina anti timocítica (conejo)	IV	<i>Timoglobulina N</i>
Inmunoglobulina antilinfocitos T (conejo)	IV	<i>Atege N</i>
Inmunoglobulina antilinfocitos T (equina)	IV	<i>Atgam</i>
Leflunomida	VO	<i>Arava</i>
Micofenolato de mofetilo	VO, IV	<i>Cellcept</i>
Micofenolato sódico	VO	<i>Myfortic</i>
Natalizumab	IV	<i>Tysabri</i>
Sirolimus	VO	<i>Rapamune</i>
Belimumab	IV	<i>Benlysta</i>
Alemtuzumab	IV	<i>Inflectra</i>
Teriflunomida	VO	<i>Aubagio</i>
<b>Inhibidores del factor de necrosis tumoral alfa</b>		
Certolizumab pegol	SC	<i>Cimzia</i>
Etanercept	SC	<i>Enbrel</i>
Golimumab	SC	<i>Simponi</i>
Certolizumab pegol	SC	<i>Cimzia</i>
<b>Inhibidores de la interleucina</b>		
Canakinumab	SC	<i>Illaris</i>
Tocilizumab	IV, SC	<i>Roactemra</i>
Ustekinumab	SC	<i>Stelara</i>
<b>Inhibidores de la calcineurina</b>		
Ciclosporina A	VO, IV	<i>Sandimmun (neoral)</i>
Tacrolimus	VO, IV	<i>Prograf, Advagraf Prograf</i>
<b>Otros inmunosupresores</b>		
Azatioprina	VO, IV	<i>Imurel</i>
Lenalidomida	VO	<i>Revlimid</i>
Talidomida	VO	<i>Thalidomide Celgene</i>
Pomalidomida	VO	<i>Imnovid</i>
Pirfenidona	VO	<i>Esbriet</i>

The best way to treat a disease is its prevention, and cancer is not an exception. Therefore, one of the best ways of diminishing cancer is reducing its risk. Public education should highlight the dangers of all those known agents that can initiate and promote cancer, like smoking, excessive drinking or specific chemicals. Moreover, it is important to promote healthy lifestyles and diets. Specially this last point could imply a remarkable improvement in cancer outcome since it has been demonstrated that certain vegetables and fruits containing natural products like polyphenols have protective properties against cancer.

## 1.6. Molecular targets in cancer therapy

### 1.6.1. KRAS

KRAS is a protein encoded by the V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog<sup>18</sup> that binds to guanosine triphosphate (GTP) and diphosphate nucleotide (GDP).<sup>19</sup> It has a low molecular weight (20-25 kDa) and belongs to the Ras (Rat sarcoma) superfamily, all of them being membrane-bound small GTPases.<sup>18</sup>

These proteins function as a cellular switch that regulates vital functions for cells like proliferation, differentiation, angiogenesis, survival,<sup>20</sup> actin organization and nuclear and vesicular transport,<sup>19</sup> by activating the transduction of signals through a complex network of proteins, involved in different pathways.<sup>20</sup> As shown in Figure 4, the downstream effectors of RAS belong to three main pathways.<sup>21</sup>

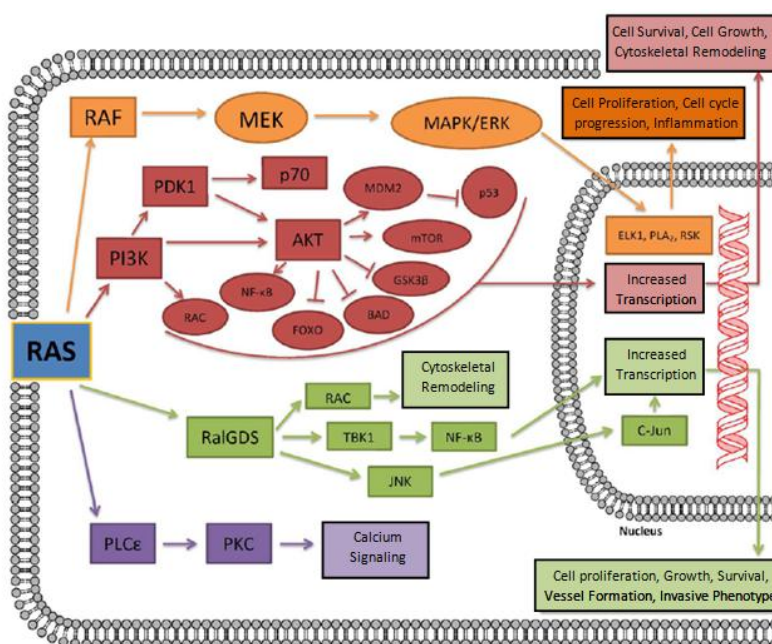


Figure 4: Downstream signalling of RAS. RAS interacts with a number of downstream effectors. The main ones include RAF protein kinases (RAF/MEK/ERK pathway), phosphoinositide 3-kinases (PI-3Ks) (PI-3K/Akt/mTOR pathway), guanine nucleotide exchange factors for the RAS-related protein Ral (RalGDS) (RAL/GDS pathway) and phospholipase C $\epsilon$  (PLC $\epsilon$ ). Modification from<sup>21</sup>

The RAS switch is mediated through two main proteins: GTPase activating proteins (GAPs) activate the hydrolytic self-functions of the enzyme, thus enhancing its conversion into the inactive form,

<sup>18</sup> A. Bahrami; S. M. Hassanian; S. ShahidSales; Z. Farjami; M. Hasanzadeh; K. Anvari; A. Aledavood; M. Maftouh; G. A. Ferns; M. Khazaei; A. Avan. *J. Cel. Physiol.* **2017**.

<sup>19</sup> J. Cicenias; L. Tamosaitis; K. Kvederaviciute; R. Tarvydas; G. Staniute; K. Kalyan; E. Meskinyte-Kausiliene; V. Stankevicius; M. Valius. *Med. Oncol.* **2017**, 34, 34-26.

<sup>20</sup> A. Matikas; D. Mistriotis; V. Georgoulas; A. Kotsakis. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2017**, 110, 1-12.

<sup>21</sup> Y. Wang; C. E. Kaiser; B. Frett; H. Li. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 5219-5230.

bounded to GDP. On the contrary, guanine exchange factors (GEFs) promotes the formation of its active form, bounded to GTP, when a tyrosine kinase receptor is activated by a growth factor (Figure 5).<sup>19</sup>

The Ras family contains more than 160 different proteins identified in humans,<sup>19</sup> but they are generally grouped in three main families: neuroblastoma-Ras (NRAS), Harvey-Ras (HRAS), and the most important, Kirsten-Ras (KRAS).<sup>18</sup> RAS are considered to be some of the main oncogenes since more than 30% of human cancers are associated to mutation of their genes that generally cause constitutive activation of the protein, therefore ending in oncogenesis, metastasis, tumour progression, angiogenesis, resistance to treatments and invasive behaviour.<sup>18,22</sup> From all, KRAS is the one that is more commonly mutated (85%), then NRAS (15%) and finally HRAS (1%).<sup>19</sup> KRAS mutations are found in 95% of pancreatic cancers, 45% of colorectal cancers and 35% of lung cancers.<sup>19</sup>

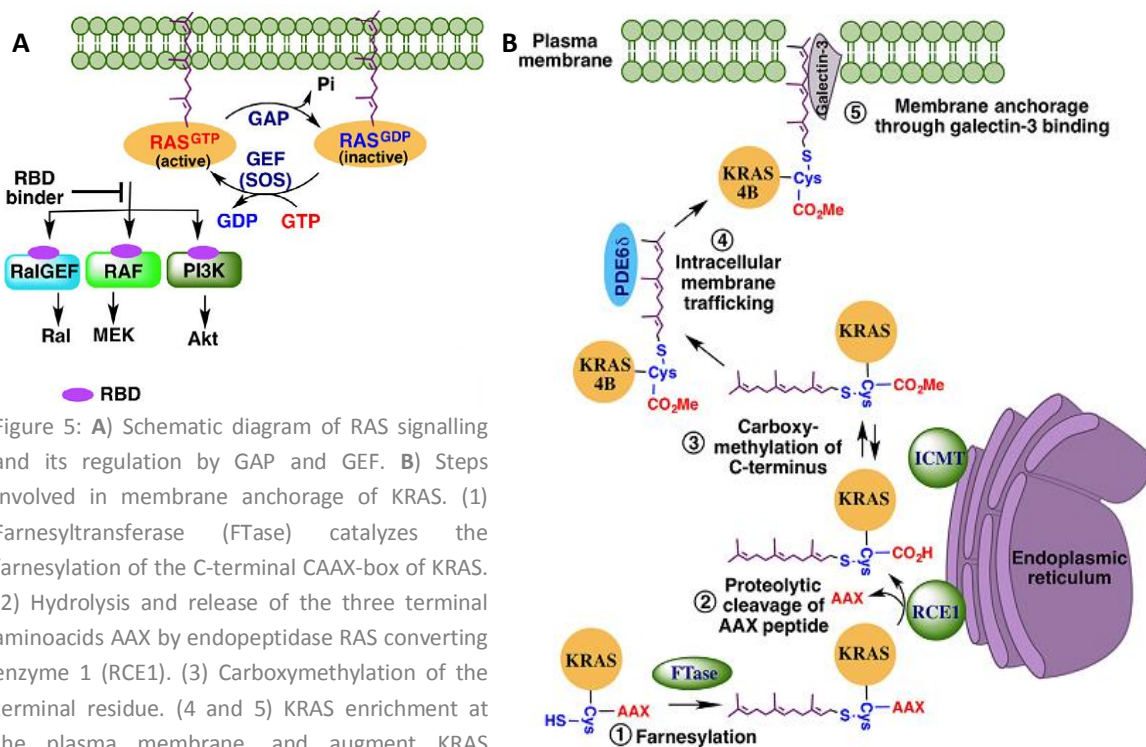


Figure 5: A) Schematic diagram of RAS signalling and its regulation by GAP and GEF. B) Steps involved in membrane anchorage of KRAS. (1) Farnesyltransferase (FTase) catalyzes the farnesylation of the C-terminal CAAX-box of KRAS. (2) Hydrolysis and release of the three terminal aminoacids AAX by endopeptidase RAS converting enzyme 1 (RCE1). (3) Carboxymethylation of the terminal residue. (4 and 5) KRAS enrichment at the plasma membrane, and augment KRAS signalling. Modification from<sup>22</sup>

KRAS is thought to be a clinically relevant target in cancer treatment. Nevertheless, to date, it remains an elusive target since no molecule that specifically binds to this protein has reached the clinic. This is partially explained because of the high affinity (in the picomolar range) that RAS proteins have for GTP and GDP, compounds that are usually found in the millimolar range in its site of action.<sup>22</sup> Although its complication, molecules that directly bind to KRAS are currently under development. SML-8-73-1 (Figure 6 and Figure 7) is one example, which targets the guanine

<sup>22</sup> H. C. Chuang; P. H. Huang; S. K. Kulp; C. S. Chen. *Pharmacol. Res.* **2017**, *117*, 370-376.

nucleotide binding pocket as a GDP analogue of one of the major mutated isoforms of KRAS (KRASG12C), acting as a covalent inhibitor.<sup>20,23</sup>

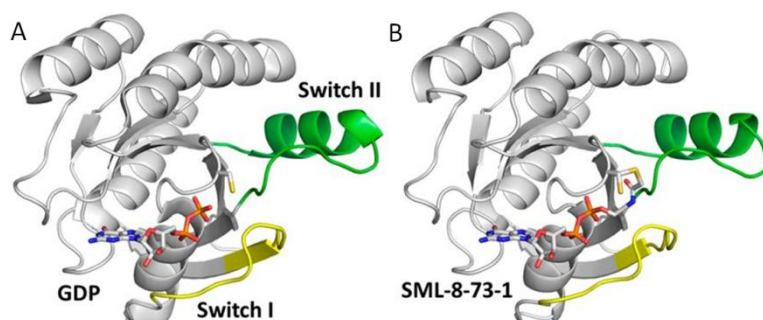


Figure 6: (A): X-ray crystal structures of GDP-bound (inactive) G12C KRAS (B): When bound to SML, G12C KRAS assumes a conformation nearly identical to GDP-bound G12C KRAS, with both switch regions in the inactive conformation. Modification from<sup>24</sup>

Since KRAS was considered to be undruggable, the main drugs involved in its pathway are focused on downstream effectors although their final effect has not always been as expected since compensatory pathways are biologically activated.<sup>20,22</sup> Some of them are, for example, farnesyl transferase inhibitors (FTIs) like *lonafarnib* and *tipifarnib*<sup>20</sup> (Figure 7) and Raf inhibitors like *vemurafenib* and *sorafenib*<sup>21</sup> (Figure 7) (the last one having also different mechanisms of actions like inhibiting the vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) and the platelet-derived growth factor receptor (PDGFR)).<sup>22</sup> *Gefitinib* and *erlotinib* (Figure 7) also block KRAS signalling, but their effect is brief because of the rapid development of drug resistance through compensatory mechanisms.<sup>25</sup>

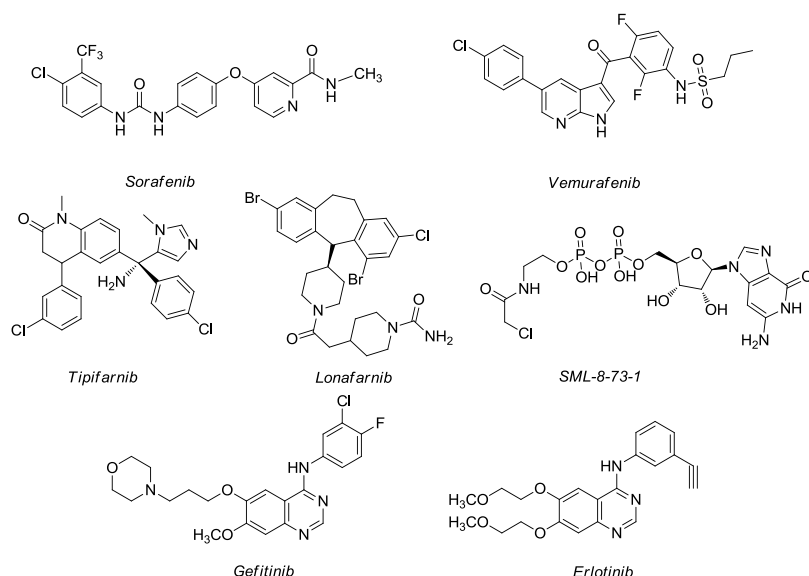


Figure 7: Chemical structures of drugs involved in the inhibition of the KRAS pathways.

<sup>23</sup> S. M. Lim; K. D. Westover; S. B. Ficarro; R. A. Harrison; H. G. Choi; M. E. Pacold; M. Carrasco; J. Hunter; N. D. Kim; T. Xie; T. Sim; P. A. Jänne; M. Meyerson; J. A. Marto; J. R. Engen; N. S. Gray. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 1-7.

<sup>24</sup> J. C. Hunter; D. Gurbani; S. B. Ficarro; M. A. Carrasco; S. M. Lim; H. G. Choi; T. Xie; J. A. Marto; Z. Chen; N. S. Gray; K. D. Westover. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2014**, 111, 8895-8900.

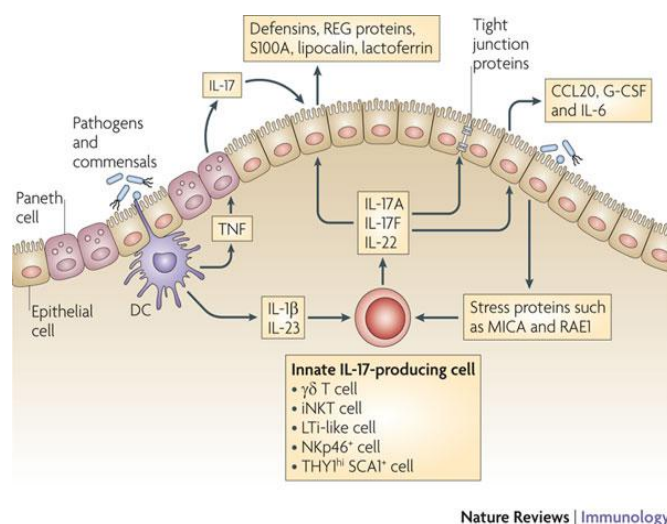
<sup>25</sup> Z. A. Sobani; A. Sawant; M. Jafri; A. K. Correa; I. H. Sahin. *World. J. Clin. Oncol.* **2016**, 7, 340-351.

## 1.6.2. IL17: Autoimmunity and cancer

Cytokines are small proteins produced by different cells types like immune cells, endothelial cells, fibroblast, etc., that are involved in cell signalling. Among the wide variety of cytokines, a new family of interleukins was discovered in 1993, called the IL17 (Interleukin 17) family. It includes six proteins, called from IL17A to IL17F, being IL17A the most studied and usually referred just as IL17.<sup>26-28</sup>

### Physiological functions of IL17

IL17 is a proinflammatory cytokine that, in its active state, is formed by two monomers of IL7 or heterodimers of IL17/IL17F linked to each other by disulfide bonds.<sup>26,28</sup> These cytokines are highly involved in the protective immune response in infections and both acute and chronic inflammation:<sup>26</sup> IL17 stimulates the production of antimicrobial and antifungal peptides, as well as the recruitment and activation of immune cells like neutrophils and the inflammatory response, focusing the immune response at the infection/injury site (Figure 8).<sup>27-30</sup> They also contribute to cancer control.<sup>26,28,30</sup>



IL17 cytokines are mainly produced by T helper cells (Th17), which were discovered in 2005<sup>26,27</sup> and belong to the T helper family (CD4+), together with Th1 and Th2, that produce interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) and IL4 respectively.<sup>26</sup> Nevertheless, they can also be produced by other cell types like mast cells, natural killer cells, neutrophils and specially  $\gamma/\delta$  T cells.<sup>27,28</sup>

Figure 8: IL17 and its key roles in mucosal barrier functions during health and disease. From<sup>31</sup>

### Pathological implication of IL17

The cause of autoimmune diseases is unknown. They affect up to 50 million Americans, and treatment is usually just symptomatic.

A part from its protective role in infections and in some cases in cancer development, IL17 has been implicated in pathologies with autoimmune background (psoriasis, arthritis, lupus, etc.) and cancer development when its expression is deregulated or over expressed.

#### 1. Autoimmunity

Both Th17 and  $\gamma\delta$ 17 have been proved to have deregulated and sustained secretion of IL17 in autoimmune and inflammatory diseases like psoriasis, rheumatoid arthritis, Crohn's disease, multiple

<sup>26</sup> V. Alinejad; S. Dolati; M. Motallebnezhad; M. Yousefi. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *88*, 795-803.

<sup>27</sup> A. Wasilewska; M. Winiarska; M. Olszewska; L. Rudnicka. *Ad. Dermatol. Allergol.* **2016**, *4*, 247-252.

<sup>28</sup> A. Chiricozzi. *Actas Dermosifiliogr.* **2014**, *105*, 9-20.

<sup>29</sup> Y. Chien; X. Zeng; I. Prinz. *Trends Immunol.* **2013**, *34*, 151-154.

<sup>30</sup> R. S. Dar; S.V. Chiplun. Patil; S. A. Bhat; A. A. kar. *Front. Immunol.* **2015**, *6*, 1-13.

<sup>31</sup> J. C. Daniel; M. T. Cristina. *Nat. Rev. Immunol.* **2010**, *10*, 479-489.

sclerosis and autoimmune encephalomyelitis.<sup>28,29</sup> In psoriasis for example, a chronic inflammatory skin disorder with a worldwide prevalence of about 2.5%, IL17 and IL23/T17 axis plays a crucial role in the development and progression of the disease, leading to IL17 blocking agents as suitable treatments.<sup>28</sup>

## 2. Cancer

Inflammation is a protection mechanism against allergens, pathogens, and chemical and physical damages, that can happen in two different ways; in its acute form, that generally leads to tissue repair and infection elimination, or as chronic inflammation. The relevance of chronic inflammation as a possible mechanism leading to cancer development and progression (as well as autoimmune diseases and metabolic disorders) has been pointed out in recent years.<sup>26</sup>

In chronic inflammation, many cells and mediators are involved, but Th17 and T $\gamma\delta$ 17 are some of the most important ones,<sup>26</sup> since IL17 stimulates growth factor production in cultured human colorectal cells.<sup>28</sup> Overexpression of membrane receptor for IL17 has been observed in determinate types of breast cancer,<sup>26</sup> and higher serum levels of TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL6, IL8, and IL17A are found in patients with colorectal cancer compared with healthy controls.<sup>32</sup> IL17 levels are also positively correlated with tumour size and risk of recurrence.<sup>32</sup> Therefore, a protumoral role of IL17 has been pointed out recently through different pathways as shown in Figure 9, for example by enhancing tumour growth and angiogenesis,<sup>28,32,33</sup> since it has been demonstrated that IL17 induces the expression of angiopoietin (Ang-2) and VEGF in tumour cells.<sup>29</sup>

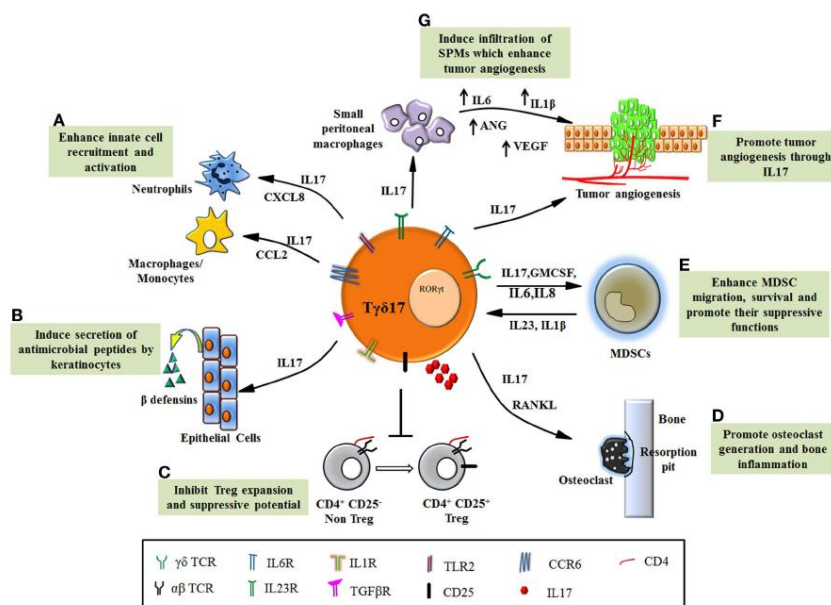


Figure 9: Functions of T $\gamma\delta$ 17 cells in pathological conditions. (A) T $\gamma\delta$ 17 cells promote infiltration of neutrophils and monocytes/macrophages to the site of inflammation through chemokines. (B) IL17 induces keratinocytes to produce antimicrobial peptides. (C) Deregulated T $\gamma\delta$ 17 cells in autoimmune diseases inhibit regulatory T cells (Treg) expansion and its ability to suppress pathological self-reactivity. (D) In arthritis, IL17 foster osteoclast formation. T $\gamma\delta$ 17 cells are involved in bone resorption and enhance joint

inflammation. (E) Human T $\gamma\delta$ 17 cells support myeloid-derived suppressor cells (MDSC) promoting their suppressive functions. (F) IL17 induce tumorigenesis by their proangiogenic activity. (G) Murine T $\gamma\delta$ 17 cells recruits small peritoneal macrophages to the tumour bed, which induce angiogenesis. Modification from<sup>29</sup>

The inflammatory environment generated in cancer modulates the shift in the profile of T cell cytokines from interferon- $\gamma$  to IL17, stimulating tumour progression in different cancer models.<sup>33</sup>

<sup>32</sup> A. S. Harten-Gerritsen; M. G. J. Balvers; R. F. Witkamp; E. Kampman; F. J. B. Duijnhoven. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2015**, *24*, 1820-1829.

<sup>33</sup> M. Rei; D. J. Pennington; B. Silva-Santos. *Cancer Res.* **2015**, *75*, 798-803.

## IL17 inhibition as treatment

Because its implication in autoimmune diseases and cancer, IL17 is gaining interest as a new target and different strategies are being developed in order to inhibit it. Several monoclonal antibodies targeting IL17 signalling are being developed (Table 4), and three of them are already approved: *secukinumab* and *ixekizumab* (IL17 neutralizing agents), and *brodalumab* (IL17 receptor antagonist heading the registration/pre-marketing phase).<sup>28</sup>

Table 4: Some therapeutic agents targeting IL17 signalling, which are currently under development in clinical trials. Modification from<sup>28</sup>

Agent	Target	Structure	Disease	Phase	Manufacturer
<b>Brodalumab (Siliq®)</b>	IL17R	Fully humanized monoclonal IgG2 antibody	Plaque-type psoriasis/ psoriatic arthritis	Approved	Valeant
<b>Ixekizumab (Taltz®)</b>	IL17A	Fully humanized monoclonal IgG4 antibody	Plaque-type psoriasis/ psoriatic arthritis	Approved	Eli Lilly
<b>Secukinumab (Cosentyx®)</b>	IL17A	Fully humanized monoclonal IgG1k antibody	Plaque-type psoriasis/ psoriatic arthritis/	Approved	Novartis
<b>NI-1401 (RG7624)</b>	IL17A/IL17F	Fully humanized monoclonal IgG1 antibody	Inflammation	I	NovImmune/ Genentech/ Roche
<b>ABT-122</b>	IL17A/TNFα	Fully humanized monoclonal antibody	Rheumatoid arthritis	II	Abbott Laboratories
<b>SCH 900117</b>	IL17A	Fully humanized monoclonal antibody	Rheumatoid arthritis	I	Merck

A part from antibodies, several small molecules targeting directly or indirectly IL17 are under development.<sup>34</sup>

### 1.6.3. PCSK9 and cardiovascular diseases

As exposed above, and together with cancer, cardiovascular diseases are the leading cause of death in developed countries, being atherosclerosis one of the commonest.<sup>35,36</sup> Among other risk factors such as age, genetics (familial hypercholesterolemia), obesity, hypertension or smoking, hyperlipidaemia and specially low density lipoprotein cholesterol is considered one of the main drivers.<sup>35</sup>

Cholesterol, either coming from diet or synthesized *de novo* in the body, cannot travel in the bloodstream due to its low solubility in water medium. Therefore, it is associated to lipoproteins that can be divided according to its density: chylomicrons, very-low-density lipoprotein (VLDL), intermediate-density lipoprotein (IDL), low-density lipoprotein (LDL), and high-density lipoprotein (HDL).

<sup>34</sup> M. Campa; A. Menter. *Exp. Opin. Investig. Drugs* **2016**, *25*, 1337-1344.

<sup>35</sup> A. S Wierzbicki; P. Grant. *Clin.Med.* **2016**, *16*, 353-357.

<sup>36</sup> A. C. Burke; J. S. Dron; R. A. Hegele; M. W. Huff. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2017**, 223-244.



Among them, LDL particles are in charge of delivering cholesterol throughout the body, where it is used for steroid hormones and membrane synthesis. LDL can also be cleared from blood circulation by the liver, that eliminates it as bile salts, through receptor-mediated endocytosis. Afterwards, this receptor can be recycled to the hepatocyte surface to continue its function of removing more cholesterol from the bloodstream. Additionally, reverse cholesterol transport occurs when there is excess of cholesterol in the body thanks to HDL particles, that are able to transport cholesterol from body cells back to the liver.

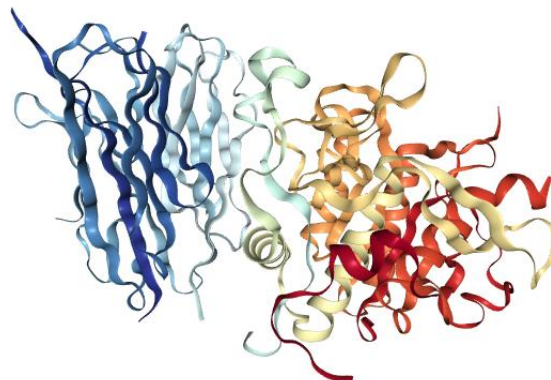


Figure 10: Crystal Structure of PCSK9<sup>37</sup>

The interest of cholesterol and cardiovascular diseases in this thesis is because a biological screening from Eli Lilly of the compounds prepared have proven high affinity and activity for new interesting targets in the field, specially PCSK9.

#### Description, function and regulation of PCSK9

Pro-protein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) (Figure 10) is a regulator of LDL receptor expression found primarily in the liver and with lower expression in the small intestine and kidney.<sup>35,36</sup> PCSK9 acts as one of the main regulators of LDL receptors at a postranscriptional level. Under physiological conditions, it diminishes the capacity of the liver to uptake LDL from the blood, therefore enabling triglycerides and cholesterol uptake in peripheral tissues.<sup>35</sup>

Without the presence of PCSK9, LDL particles bind to their receptor in the hepatic cells and this complex is internalized into the cells. After this, the LDL receptor is recycled to the cell surface to continue its function, while the cholesterol remains inside the cell. When PCSK9 bounds to the LDL receptor, the complex LDL-LDL receptor-PCSK9 is internalized but in this case, recycling of the receptor to the cell membrane via vesicles is no longer possible, so it finally undergoes proteolytic degradation in lysosomes. A part from inhibiting LDL receptor recycling, PCSK9 can also enhance its intracellular degradation before it is secreted directly from the Golgi network to lysosomes (Figure 11). As a consequence, less LDL receptors are expressed in the hepatocyte so less LDL particles are removed from the bloodstream, which increases cholesterol levels in the blood and as a consequence, the risk of atherosclerosis and cardiovascular events rises.<sup>35,36,38</sup>

<sup>37</sup> <http://www.rcsb.org/pdb/>

<sup>38</sup> <https://www.pcsk9.es> (Date: 18/04/2017)

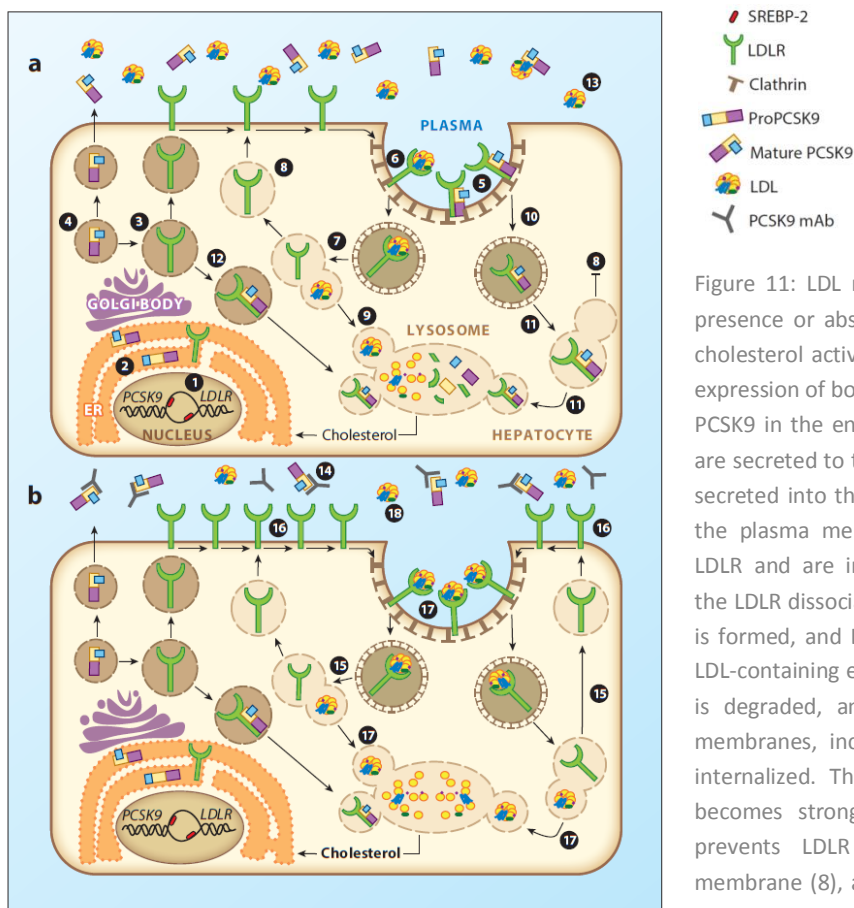


Figure 11: LDL receptors (LDLR) metabolism in the presence or absence of PCSK9. **(a)** (1) Low cellular cholesterol activates SREBP-2, which increases gene expression of both LDLR and PCSK9. (2) Processing of PCSK9 in the endoplasmic reticulum (ER). (3) LDLRs are secreted to the cell surface. (4) Cleaved PCSK9 is secreted into the plasma and (5) binds the LDLR at the plasma membrane. (6) Plasma LDL binds the LDLR and are internalized. (7) Within endosomes, the LDLR dissociates from LDL. (8) A recycling vesicle is formed, and LDLR returns to the cell surface. (9) LDL-containing endosomes fuse with lysosomes, LDL is degraded, and cholesterol is delivered to cell membranes, including the ER. (10) PCSK9-LDLR is internalized. The association of PCSK9 with LDLR becomes stronger in the acidic endosome. This prevents LDLR recycling back to the plasma membrane (8), and (11) the PCSK9-LDLR complex is directed toward lysosomal degradation. (12)

Intracellular pathway in which PCSK9 binds LDLR in the secretory pathway and targets its degradation. Steps (11) and (12) result in low LDLR expression at the cell surface and (13) in increased levels of circulating LDL. **(b)** (14) Injected anti-PCSK9 monoclonal antibodies (mAbs) bind plasma PCSK9, and promote PCSK9 degradation. (15) In the absence of PCSK9, LDLR recycles to the cell surface. (16) This increases the abundance of active LDLR at the plasma membrane and (17) enhances LDL binding, uptake, and degradation, thereby lowering circulating LDL ((18)). From <sup>36</sup>

The role of PCSK9 in cholesterol homeostasis was discovered in 2003 at the *Necker-Enfants Malades Hospital* in Paris, after discovering its gain-of-function mutations in autosomal dominant hypercholesterolemia that led to an upregulation of PCSK9 and increased plasma concentration of LDL.<sup>39</sup>

#### Treatments based on PCSK9 inhibition

Statins (*simvastatina* or *atorvastatina*) are the primary therapy for the prevention of cardiovascular diseases, being *ezetimibe* the second-line agent. Statins act by inhibiting HMG-CoA reductase, rate-limiting enzyme in the cholesterol synthesis pathway, meanwhile *ezetimibe* decreases cholesterol absorption in the small intestine.<sup>35</sup>

Nevertheless, these treatments cannot always reach their LDL-level goal, especially in patients with familial hypercholesterolemia, and what is more, up to 20%<sup>35</sup> of the patients using statins spontaneously reported limiting side effects<sup>36</sup> consisting mainly in myalgia. Consequently, novel lipid-lowering therapies are needed and may imply an important target in pharmaceutical industry, giving the importance of cardiovascular events in morbidity of nowadays population. Furthermore, by

<sup>39</sup> J. A. Krysa; T. C. Ooi; S. D. Proctor; D. F. Vine. *J. Nutr.* **2017**, 147, 473-481.

inhibiting cholesterol synthesis, statins induce SREBP-2 activity and with it, PCSK9 expression, attenuating their LDL clearance activity.<sup>40</sup>

Taking into account the new discoveries about PCSK9 in cholesterol homeostasis, its inhibition has been pointed out as a suitable target in LDL-lowering therapy. Two antibodies with PCSK9 inhibition (*alirocumab* and *evolocumab*) have already reached the market as adjunctive treatments or monotherapy in some niche patient with good results in completed and ongoing clinical trials.<sup>36</sup> Two major strategies are followed when inhibiting PCSK9: inhibition of PCSK9 binding to the LDL receptor and inhibition of hepatic PCSK9 synthesis.<sup>36</sup> Pharmacological inhibition of the enzyme up until now consist in:

1. Antibody-based therapies. They sterically block the interaction between PCSK9 and LDL receptor, protecting the receptor from its PCSK9-mediated lysosomal degradation and promotes receptor recycling<sup>35,36</sup> (Figure 11). *Alirocumab* (Praluent®) from Regeneron pharmaceuticals and Sanofi is a human monoclonal antibody approved by the FDA on July 24, 2015.<sup>35,41</sup> *Evolocumab* (Repatha®) from Amgen, is a human monoclonal antibody approved by the FDA in August 27, 2015. Despite their efficacy, these agents must be injected fortnightly or monthly, hampering their compliance and cost.<sup>41</sup> Adnectins, also called monobodies, are a new class of therapeutic proteins similar to monoclonal antibodies with potentially low toxicity and immunogenicity. Bristol-Myers Squibb has nowadays the adnectin BMS-962476 in phase I trials, which blocks PCSK9 union to LDL receptor.<sup>36</sup>
2. Small interfering RNAs (siRNAs). They reduce PCSK9 synthesis and processing. Alnylam Pharmaceuticals developed an siRNA that recently completed phase I clinical trials with good results.<sup>36</sup>
3. Antisense oligonucleotides (ASOs). Like siRNAs, they reduce PCSK9 synthesis and processing. The development of SPC5001 and BMS-844421 (both ASOs targeting PCSK9) were discontinued during phase I clinical trials.<sup>36</sup>
4. Small molecules. Given the strong clinical validation of PCSK9 as an LDL-lowering therapy, small molecules that inhibit its secretion and/or its activity are extremely sought since they are expected to have as good results as monoclonal antibodies, but with a better cost-effectiveness ratio and easier dosage. Up to now, no small molecule blocking PCSK9 has been developed,<sup>36</sup> in part because of the difficulty in finding a specific surface binding pocket that would allow selective inhibition in front of other proteins.

During this PhD thesis, the synthesis of a series of novel small molecules with PCSK9 inhibition has been developed.

## 1.7. Biological assays in cancer research

In order to test the antiproliferative activity of novel compounds, screening techniques are used. Novel lead compounds developed by our research group were evaluated as part of this project in order to direct the synthesis towards those compounds that show the most interesting profiles.

<sup>40</sup> J. D. Horton; J. C. Cohen; H. H. Hobbs. *Trends Biochem. Sci.* **2007**, 32, 71-77.

<sup>41</sup> K. Yadav; M. Sharma; K. C. Ferdinand. *Nut. Met. Card. Dis.* **2016**, 26, 853-862.

### 1.7.1. 3D multicellular cultures

Solid tumours, especially the fast growing ones, are characterized by areas with inadequate blood supply since cancerous cells have the potential of more rapid proliferation than the cells that form blood capillaries. This fact generates a decreasing gradient of several conditions as a function of a distance from the blood vessel such as the oxygen tension, the nutrient supply, the cell proliferation or the extracellular pH (poor vascular flow results in accumulation of products of metabolism like lactic and carbonic acid).<sup>42</sup>

Cytotoxic drugs usually access the tumor through blood vessels, thus being distant cells more difficult to reach, especially if the drugs have a penetration problem through several layers, if they are metabolized quickly or bind strongly in the outer layers;<sup>43</sup> this is known as consumption of the drugs. The drug penetration toward the core of the tumour is also impaired because of the increased interstitial fluid pressure found in solid tumours due to the disorganized vascular system and the lack of functional lymphatics. In addition, the existence of an extracellular matrix (ECM) can decrease the movement of the compounds. Therefore, tumour cells far from blood vessels often show resistance to anticancer drugs due to a combination of different factors. In addition, most chemotherapy agents act selectively upon cycling cells while slowly proliferating cells are more resistant to them. Finally, some drugs are also less active in the hypoxic environment.<sup>42</sup>

The most common cell-based assays for testing the antiproliferative activity of new compounds are based on two-dimensional (2D) cell cultures since they are simple, low cost and quick.<sup>44</sup> However, preclinical activity results obtained using these assays may differ substantially from the clinical situation in patients.<sup>45</sup> This is because 2D cell cultures do not match the microenvironmental properties and cellular activities found in real tumours, so they are more susceptible to chemotherapy treatments and irradiation.<sup>46</sup>

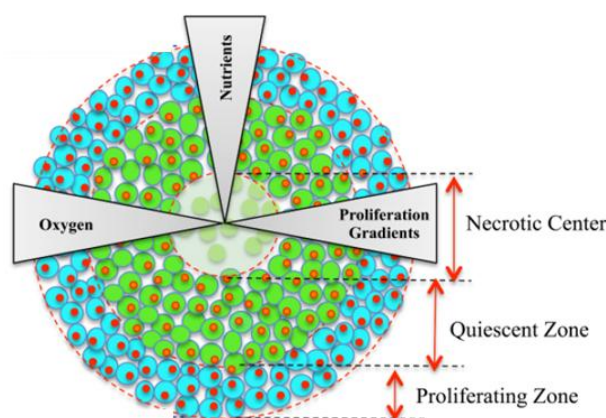


Figure 12: Schematic representation of a sectioned spheroid. Modification of<sup>44</sup>

Therefore, three dimensional multicellular cultures have been proposed to assist the biological and pharmacological study of new compounds in drug discovery. Although animal studies are more representative of the tumour environment, they are also more time-consuming and expensive to perform than cell culture.<sup>44</sup> 3D studies provide a new approach for investigating tissue distribution and pharmacological response of drugs, their metabolites and penetration. Among them, 3D multicellular spheroids are gaining importance since they mimic the tumours *in vivo* in several ways;

<sup>42</sup> A. I. Minchinton; I. F. Tannock. *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 583-592.

<sup>43</sup> K. M. Nicholson; M. C. Bibby; R. M Phillips. *Eur. J. Cancer* **1997**, *33*, 1291-8.

<sup>44</sup> X. Liu; EM. Weaver; A. B. Hummon. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 6295-6302.

<sup>45</sup> H. Karlsson; M. Fryknäs; R. Larsson; P. Nygren. *Exp. Cell. Res.* **2012**, *318*, 1577-85.

<sup>46</sup> W. Y. Ho; S. K. Yeap; C. L.Ho; R. A. Rahim; N. B.Alitheen. *PLOS ONE* **2012**, *7*, e44640.

they are similar to the microenvironment of the tumour regarding pH and oxygen gradients and the heterogeneity of proliferating and quiescent cells among the structure and the different growth pattern observed in avascular regions. Protein expression and interaction between cells and the extracellular matrix is also more similar to real tumours than in monolayer cultures.<sup>44,46</sup>

Multicellular spheroids are spherical aggregates of tumour cells that depending on the cell line, they can reach 1 mm of diameter. When they reach a certain diameter they usually develop hypoxic regions and a central necrotic core (Figure 12), the outer layers being the ones that contact directly with the medium so having full supply of nutrients and oxygen, thus exhibiting a high proliferating rate. Further inside the spheroid, the amount of oxygen and nutrients decay, the pH decreases and the cellular pressure increases. Moreover, other important characteristics of solid tumours are also found in spheroids, like the development of an ECM or the tight junctions between epithelial cells.<sup>42,44</sup> Therefore, spheroids are a useful tool to study the efficacy and kinetics of drug penetration in solid tumours.<sup>47</sup>

### 1.7.2. Hypoxia in solid tumours

Due to the importance of hypoxic regions in solid tumours and its relationship with cancer therapy, it is important to study its effect when developing new anticancer drugs.

It is known that hypoxia contributes to the progression of the tumour by the activation of several genes, for example, related to the angiogenesis process. In addition, it can generate resistance to treatment, not just chemotherapy but radiotherapy too, since oxygen helps stabilizing the DNA damage generated by this treatment.<sup>47</sup>

The hypoxia present in solid tumours can be divided into two main groups: the chronic hypoxia, which lasts for long periods of time since it is found in cells distant from the blood vessel; and the transient hypoxia, which take place for short periods due to a shutdown of blood capillary when the tumour expands and it is reoxygenated when angiogenesis process takes place around it. Therefore, several fractions of cells from the tumour will suffer this kind of hypoxia.<sup>47</sup>

Hypoxic cells have recently been pointed out as a possible target in drug discovery. In addition, hypoxia can easily be found in micrometastases from 1 mm of diameter. Thus, the concept of hypoxia-activated prodrugs is introduced, where a non toxic compound is activated in the hypoxic cells, releasing a cytotoxic agent capable of killing the cells and, if possible, the surrounding oxygenated cells too. In general, these compounds are activated by reductive metabolism and include different classes of structures like nitroaromatics, quinones, aromatic *N*-oxides (like *tirapazamine*), aliphatic *N*-oxides (such as *AQ4N*) and some transition metal complexes.<sup>47</sup>

Under hypoxic conditions, several biochemical changes take place; different gene regulation, protein expression and physiopathological response to drugs are observed resulting from an adaptation to these conditions.<sup>48</sup> For instance, an upregulation of the multidrug resistance (MDR) genes and the P-glycoprotein (P-gp), both responsible of drug resistance, are observed.<sup>49</sup> Several of these biochemical changes are mediated by the hypoxic induction of hypoxia-inducible factors; hypoxia-inducible

<sup>47</sup> W. A. Denny. *Lancet Oncol.* **2000**, *1*, 25-29.

<sup>48</sup> M. Ahmadi; Z. Ahmadihosseini; S. J. Allison; S. Begum; K. Rockley; M. Sadiq; S. Chintamaneni; R. Lokwani; N. Hughes; R. M. Phillips. *British J. Pharmacol.* **2014**, *171*, 224-236.

<sup>49</sup> S. Strese; M. Fryknäs; R. Larsson; J. Gullbo. *BMC Cancer* **2013**, *13*, 331-342.

factors (HIF) like HIF1 $\alpha$  is an important transcription factor that enhances cell adaptation through different pathways like the vascular endothelial growth factor (VEGF) in the angiogenesis process, the inhibition of apoptosis, the stimulation of metastasis<sup>49</sup> and the induction of G1 cell cycle arrest,<sup>50</sup> thus, increasing chemoresistance to drugs.

The transcription factor HIF1 is composed by the subunits HIF1 $\alpha$  and HIF1 $\beta$ . HIF1 $\beta$  is constitutively expressed in most cells whereas the levels of HIF1 $\alpha$  depend on the rate of O<sub>2</sub>. Its synthesis is oxygen independent but not its degradation.<sup>50</sup> Degradation of HIF1 $\alpha$  is mediated by the Von Hippel-Lindau protein (pVHL) through the ubiquitin and proteasome pathway during normoxia. This process takes place only when oxygen is present since it depends on the hydroxylation of HIF by pVHL and therefore, it diminishes under hypoxic conditions. In consequence, the levels of HIF1 $\alpha$  increase in hypoxia.<sup>51</sup> Because of the effect of HIF1 in cancer and the fact that it is overexpressed in some tumours<sup>50</sup> it is a possible target for anticancer drugs. It has been reported that some topoisomerase I inhibitors<sup>52</sup> like *irinotecan* or its metabolite SN-38<sup>50</sup> can also target HIF1.

### 1.7.3. Compounds tested from our group

Our research group has been focused on the discovery and development of new natural and synthetic compounds with the capacity of inhibiting tumour growth via targeting cellular proteins such as cyclin-dependent kinase (CDKs) or the KRAS protein. Several libraries of novel compounds have been synthesized till date, with agents that possess  $\mu$ M and nM IC<sub>50</sub> as a measure of their anticancer activity in different cell lines. Thus, this project will allow to discover the biological activity under different conditions and the kinetics of some of these leads under different conditions, in order to guide the process of designing new and better antitumor structures.

Consequently seven compounds prepared previously in our group that had been tested for antitumor activity (**I-1** to **I-7**) (Figure 13), were selected to be studied in the ICT as part of this PhD.

On the one hand *ellipticine*, a compound with high antiproliferative properties, exerts its cytotoxic effect through a multimodal mechanism of actions such as inhibition of DNA-topoisomerase II, DNA intercalation, covalent binding to DNA, and generation of cytotoxic free radicals. Its structure consists of a tetracyclic skeleton composed of pyridine fused with the carbazole system. On the other hand, the presence of polycyclic lactones in a wide variety of antineoplastic compounds of natural or synthetic origin like *podophyllotoxin*, *etoposide* or *irinotecan*<sup>53</sup> introduced this structural motif to us in a new research line. As a result, our group decided to investigate a novel tetracyclic lactone system based on these interesting motifs, consisting on a new isobenzofuro[5,6-*b*][1,4]benzodioxines.

<sup>50</sup> K. Murono; N. H. Tsuno; K. Kawai; K. Sasaki; K. Hongo; M. Kaneko; M. Hiyoshi; N. Tada; T. Nirei; E. Sunami; K. Takahashi; J. Kitayama. *Anticancer Res.* **2012**, *32*, 865-872.

<sup>51</sup> Y. Yuan; G. Hilliard; T. Ferguson; D. Millhorn. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 15911-15916.

<sup>52</sup> A. Rapisarda; R. H. Shoemaker; G. Melillo. *Cell Cycle* **2004**, *3*, 172-175.

<sup>53</sup> M. Romero; P. Renard; D. H. Caignard; G. Atassi; X. Solans; P. Constans; C. Bailly; M. D. Pujol. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 294-307.

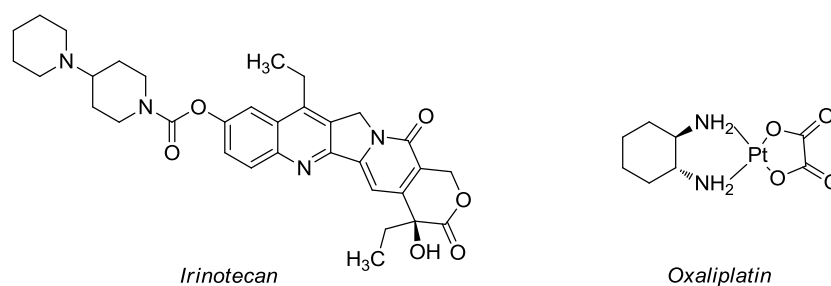


Figure 13: Chemical structure of I-1 to I-7, *irinotecan* and *oxaliplatin*

This group is represented in this project by the compounds **I-1** and **I-2**. Promising leads of this library were previously tested to elucidate their mechanism of action but their molecular target was not found since no stimulation of DNA cleavage or topoisomerase I or II inhibition was detected. Furthermore, these compounds do not bind to DNA, therefore suggesting a new mechanism of action.<sup>53</sup> When these compounds were studied in the Eli Lilly laboratories (USA) the inhibition of the KRAS protein was pointed out as a possible target. Compounds **I-3**, **I-4**, **I-5** and **I-7** were designed as analogues of these compounds to determine structural tolerances for cytotoxic activity. On the other hand, **I-6** is a *podophyllotoxin* analogue with activity against topoisomerase II and the microtubules assembly.

## 1.8. Model structures for our research group

### 1.8.1. Diarylureas and diarylethers

Hydroxyurea (Figure 14) is used in the treatment of myeloproliferative disorders (leukaemia, trombocytosis), and reduces the need of blood transfusions in several patients. Hydroxyurea is an

antimetabolite that decreases the production of deoxyribonucleotides and inhibits the growth of cancer cells.<sup>54</sup>

Other compounds containing urea moieties such as **I-8** (Figure 14), exhibit potent *in vitro* and *in vivo* antiproliferative activity by inhibiting the EGFR (Table 5). This compound can also inhibit completely cancer growth at 50 mg/kg in nude mouse A549 xenograft models. **I-8** contains an urea in its chemical structure, a tertiary amine and a 4-anilinoquinazoline scaffold.<sup>55</sup>

Table 5: Antiproliferative activities of **I-8** in human epithelial carcinoma cell line (A431), lung adenocarcinoma epithelial cell line (A549) (n = 3) and inhibitory activity against kinase EGFR.<sup>55</sup>

		IC <sub>50</sub>
Cell lines	A431	1.36 μM
	A549	0.83 μM
EGFR inhibitory activity assay	EGFR <sup>WT</sup>	4.1 nM

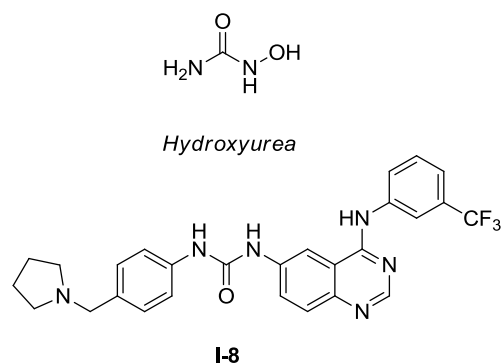


Figure 14: Chemical structure of hydroxyurea and **I-8**

Recently, Gao and col.<sup>56</sup> synthesized new acridine derivatives as multi-target kinase inhibitors for cancer treatment, with compound **I-9** (Figure 15) as an example. This series of compounds contains an acridine and arylurea scaffold, and it was designed by molecular docking and modelling.

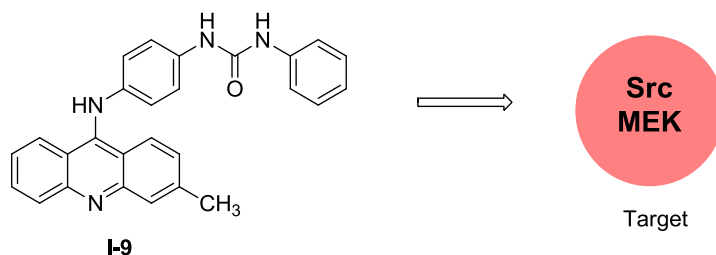


Figure 15: Chemical structure of hydroxyurea and **I-9** and its biological targets<sup>55</sup>

A series of diarylureas (**I-10** to **I-12**) (Figure 16) that inhibits apoptosis by the blockade of caspase-9 has been developed by Lademann and col.<sup>57</sup> These compounds represent a new class of apoptosis inhibitors that mediate their effects acting in different steps of the apoptosis signalling process, compared to other products. The urea **I-12** was the most active one and demonstrated an interesting inhibition of caspase-9 without affecting cell viability.

<sup>54</sup> J. M. Yarbo. *Sem. Oncol.* **1992**, *19*, 1-10.

<sup>55</sup> S. J. Zuo; S. Zhang; S. Mao; X. X. Xie; X. Xiao; M. H. Xin; W. Xuan; Y. Y. He; Y. X. Cao; S. Q. Zhang. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 179-190.

<sup>56</sup> Z. Cui; X. Li; L. Li; B. Zhang; C. Gao; Y. Chen; C. Ten; H. Lin; W. Xie; T. Yang; Y. Jieng. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 261-269.

<sup>57</sup> U. Lademann; K. Cain; M. Gyrd-Hansen; D. Brown; D. Peters; M. Jäätela. *Mol. Cell. Biol.* **2003**, *23*, 7829-7837.



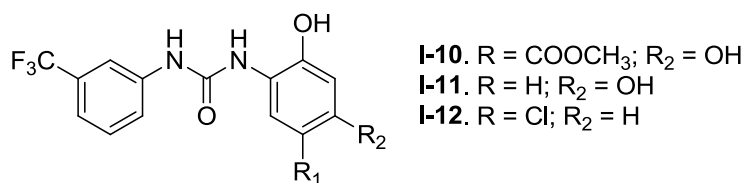


Figure 16: Chemical structure of I-10, I-11 and I-12<sup>57</sup>

*Sorafenib* (Nexavar®) constitutes an example of an active compound developed through a molecular modification process based on lead generation and optimization, from a privileged diarylurea as described in Figure 17.<sup>58</sup>

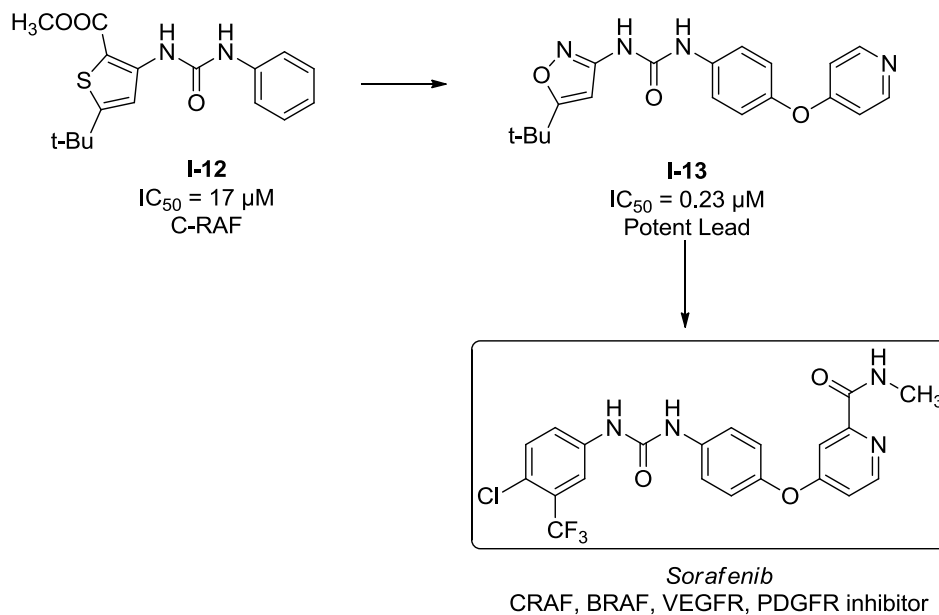


Figure 17: Structure based design and focused library synthesis for potency and *in vivo* efficacy optimization<sup>58</sup>

After the success of *sorafenib* as an antitumour agent, different diarylurea derivatives have been tested like *regorafenib*, *linifanib* and *tivozanib*. Diarylureas are present in kinase inhibitors like VEGFR, PDGF and specially RAF kinases.<sup>59</sup>

*Sorafenib* is the first and only orally, bioavailable drug approved for hepatocellular<sup>59,60</sup> and renal cell carcinoma.<sup>59</sup> As expose above, it is a multiple kinase inhibitor that blocks mainly VEGFR, PDGFR and downstream intracellular serine/threonine kinases in the MAPK cascade like CRAF, and B-RAF,<sup>59</sup> but it has also been reported its induction of tumour cell death via various MAPK-independent mechanisms.<sup>59,60</sup> Different analogues of *sorafenib* have been prepared and tested (Figure 18); *regorafenib* inhibits CRAF and BRAF and was approved for the treatment of colorectal cancer and gastrointestinal stromal tumour. *Linifanib* targets the VEGF and the PDGF receptor tyrosine kinases in patients with advanced hepatocellular carcinoma, while *tivozanib* blocks VEGFR<sup>59</sup> and is still not approved by the FDA.

<sup>58</sup> Stephen Neidle. *Cancer Design and Discovery*. 2nd Edition. Elsevier. 2014. ISBN: 978-0-12-396521-9.

<sup>59</sup> L. Garuti; M. Roberti; G. Bottegoni; M. Ferraro. *Curr. Med. Chem.* 2016, 23, 1528-1548.

<sup>60</sup> G. M. Keating. *Targ. Oncol.* 2017, 12, 243-253.

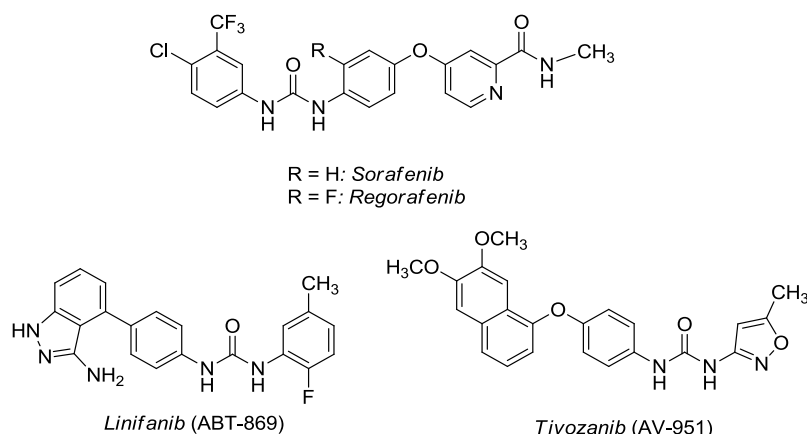


Figure 18: Chemical structure of Sorafenib, Regorafenib, Linifanib and Tivozanib. Modification from<sup>59</sup>

A series of diarylethers was prepared and its anticancer activity was evaluated against a panel of human tumour cell lines (HTCL), including A549 (human lung cancer), KB (nasopharyngeal carcinoma), KB-vin (vincristine-resistant KB subline), and DU145 (prostate cancer). Among them, four compounds showed  $GI_{50}$  values ranging from 0.33 to 3.45  $\mu\text{M}$  (Figure 19, Table 6). These results revealed that diarylethers could serve as an active structural core in the designing of new anticancer drugs.<sup>61</sup>

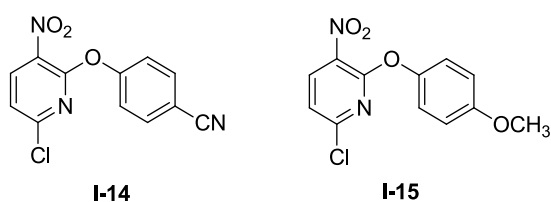


Table 6: Inhibitory activity of I-14 and I-15 against HTCL panel.  $GI_{50}$  is concentration that inhibits 50% human tumor cell growth. (n = 3)<sup>61</sup>

Compound	$GI_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )			
	A549	KB	KBvin	DU145
<b>I-14</b>	1.02	1.05	1.81	0.94
<b>I-15</b>	2.00	1.50	1.18	2.03

Figure 19: Chemical structure of I-14 and I-15<sup>61</sup>

But arylethers are not just found in new synthetic compounds, since several natural compounds possess the diarylether scaffold in their structure and exhibit antitumour properties as shown in Figure 20 and Table 7.

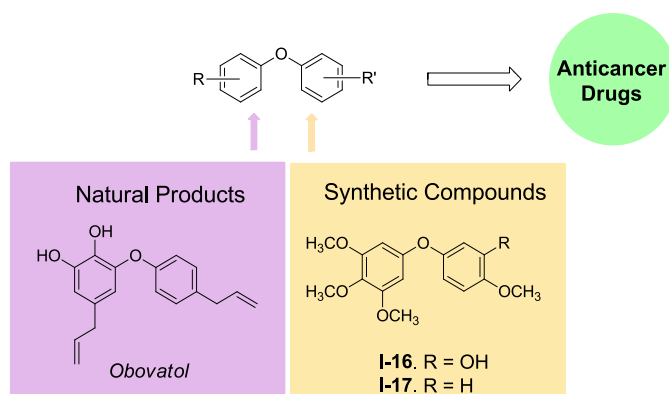


Figure 20: Diarylether scaffold in natural products and synthetic compounds as new anticancer drugs.<sup>61</sup>

<sup>61</sup> X. F. Wang; X.T. Tian; E. Ohkoshi; B. Qin; Y. N. Liu; P.C. Wu; M. J. Hour; H. Y. Hung; K. Qian; R. Huang; K. F. Bastow; W. P. Janzen; J. Jin; S. L. Morris-Natschke; K. H. Lee; L. Xie. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 6224-6228.

Among them, *obovato* (Figure 20), a natural compound isolated from the bark of *Magnolia Obovata* has been used in traditional medicine for gastrointestinal disorders and has shown antitumor properties due to its apoptosis inducing effect.

Table 7: Antiproliferative activities of CA4, I-16 and I-17 in K562 (human chronic myelogenous leukemia cell line).<sup>61</sup>

Compound	K562 (IC <sub>50</sub> ) μM
CA4	0.0026
I-16	1.02
I-17	2.00

### 1.8.2. Combretastatin A4

Almost 60% of the anticancer drugs that are being used nowadays were originally derived from natural sources,<sup>62</sup> being *combretastatin A4* (CA4) one of the most widely known due to its high anticancer activity. Combretastatins were isolated in 1987 from the bark of the African willow tree *Combretum Caffrum* by Pettit et al.,<sup>62-64</sup> and initially 17 analogues of this family were identified and its anti-mitotic activity was determined, including *combretastatin A1* (CA1), A2 (CA2), A3 (CA3), B1 (CB1) and B2 (CB2) (Figure 21).<sup>62-64</sup> Among them, CA1 and specially CA4 possess highest cytotoxic activity against human cancer cells and have attracted profound interest as potentially cancer drugs for themselves or as leading structures.

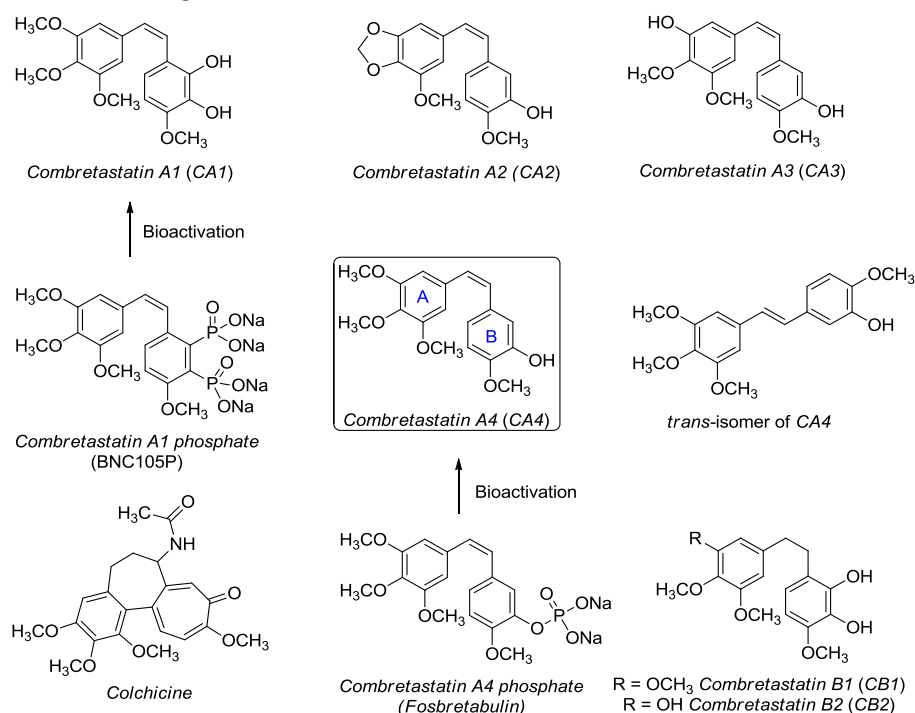


Figure 21: Chemical structure of CA1, CA2, CA3, CA4, trans-CA4, CA1P, CA4P, CB1, CB2 and colchicine

<sup>62</sup> L. M. Greene; M. J. Meegan; D. M. Zisterer. *J. Pharmacol. Exp Ther.* **2015**, 355, 212-222.

<sup>63</sup> R. Mikstacka; T. Stefanski; J. Rózanski. *Cel. Mol. Biol. Lett.* **2013**, 18, 368-397.

<sup>64</sup> K. Jarocho; M. Karolak; P. Górski; A. Jarocho; A. Krajewski; A. Ilnicka, A. Sloderbach; T. Stefanski; S. Sobiak. *Pharmacol. Rep.* **2016**, 68, 1266-1275.

*CA4* acts as a vascular disrupting agent (VDA) through the inhibition of tubulin polymerization, producing mitotic arrest in cells. The activity of the *trans*-isomer (Figure 21) is much lower than that of the *cis*. The  $IC_{50}$  value of *CA4* was determined in several laboratories and ranged from 0.53 to 2.4 nM,<sup>63</sup> whereas the *trans*-isomer was active at a  $\mu$ M range.

Nevertheless, despite its good activity, *CA4* was ineffective in clinical trials due to its poor solubility in aqueous solutions.<sup>64</sup> As a consequence, *combretastatin A4 phosphate* (*CA4P*, *fosbretabulin*, Zybrestat®) (Figure 21) was developed by OXiGENE, as a water-soluble prodrug that is converted into its active form (*CA4*) by non-specific phosphatases.<sup>63,64</sup> *Fosbretabulin* is currently under phase II/III for the treatment of highly aggressive and treatment resistant thyroid cancer.<sup>63</sup>

The combination of all the different mechanisms of action exposed above and its high activity against cancer cells make *CA4* an anticancer compound of high efficiency, and the development of its analogues a widely sought strategy in the discovery of new anticancer drugs. Ma. et al.<sup>65</sup> prepared a series of *CA4* derivatives containing a carbonate in C-3' (Figure 22, Table 8).

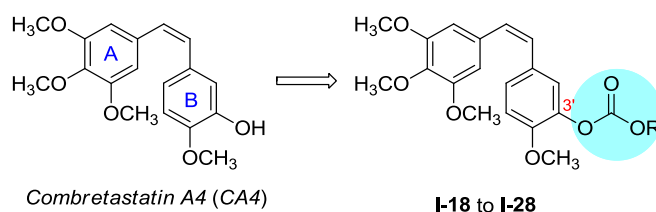


Figure 22: General structure of the *CA4* derivatives prepared by Ma. et al.<sup>65</sup>

The results suggested that bulky substituent at the C-3' position would lead to a reduction in the cytotoxic activities (compounds **I-27** and **I-28**). The carbonate at C-3' position maintains the cytotoxicity, with compounds **I-20**, **I-21**, **I-22**, **I-23**, **I-24**, **I-25** and **I-26** having similar activity to the *CA4*. Compounds **I-18** and **I-19** were the most active ones against all three cell lines tested. In summary, the carbonate at the C-3' position maintains the cytotoxicity.

Table 8: *In vitro* cytotoxicity against three different tumour cell lines (MCF-7 (breast), A549 (lung) and K562 (leukaemia)) for compounds prepared by Ma. et al.<sup>65</sup>

Compound reference	R	$IC_{50}$ (nM)		
		MCF-7	K562	A549
<b>CA4</b>		10.49	5.75	428
<b>I-18</b>	CH <sub>3</sub> -	8.00	7.68	693
<b>I-19</b>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> -	1.32	<2.50	180
<b>I-20</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	8.38	14.78	486
<b>I-21</b>	-CH-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	7.59	14.88	476
<b>I-22</b>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	10.04	14.90	309
<b>I-23</b>	-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	11.29	8.76	330
<b>I-24</b>	-Amyl	10.39	9.42	435
<b>I-25</b>	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	12.46	12.28	316
<b>I-26</b>	-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	7.09	8.85	265
<b>I-27</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> -CH <sub>3</sub>	10.85	9.65	735
<b>I-28</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> -CH <sub>3</sub>	66.09	80.84	>1000

<sup>65</sup> M. Ma; L. Sun; H. Lou; M. Ji. *Chem. Central J.* **2013**, 7, 179-187.

CA4, a 3'-hydroxy-3,4,4',5-tetramethoxy-*cis*-stilbene, is a simple structure containing two substituted aromatic rings linked by a double bond bridge in the *cis*-configuration that can lead to a large number of analogues.

The presence of the 3,4,5-trimethoxy in the **A**-ring is crucial to obtain high activity. The elimination and/or replacement of the methoxy groups leads to significant loss of potency.<sup>64,66</sup>

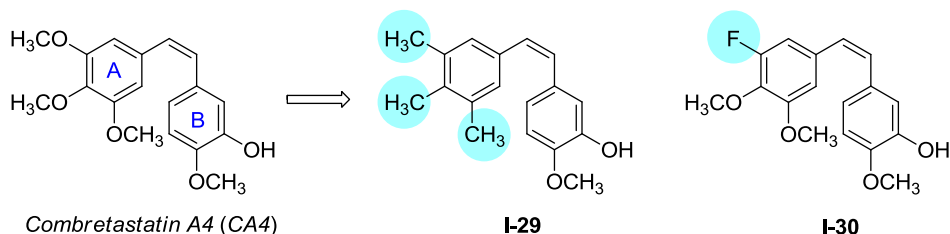


Figure 23: Structural modifications in the A-ring of CA4

Compounds **I-29** and **I-30** (Figure 23) showed a significant decrease in cytotoxicity but maintained the tubulin selectivity. To date, the replacement of the trimethoxyphenyl moiety with heterocycles has not received much attention, and only the substitution by furan and indole have been studied.<sup>67</sup>

On the other hand, **B**-ring allows a great number of structural modifications and some of them with successful results. In this case it is of interest to notice the modifications carried out by Medarde's group.<sup>67</sup> Cushman<sup>68</sup> pointed out that the methoxy groups at C-4' was essential for the biological activity, while the presence of the hydroxyl group at C-3' was not.

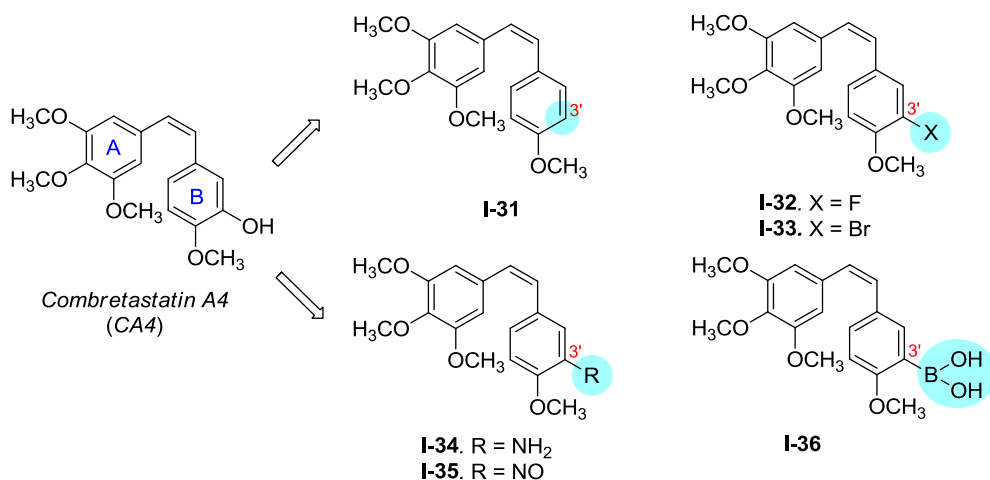


Figure 24: Structural modifications in the C-3' position of the B-ring of CA4

Compound **I-31** (Figure 24) exhibited a minimally reduced cytotoxicity compared to CA4, in spite of the absence of the hydroxyl group at the C-3' position.

The substitution of the hydroxyl group at C-3' position (Figure 24) by with fluorine (F) (**I-32**) maintains the CA4 biological activity, but the substitution with bromine (Br) (**I-33**) leads to an important decrease in cytotoxicity of a 10-fold. These results suggest that steric factors are more important

<sup>66</sup> K. Gaukroger; J. A. Hadfield; N. J. Lawrence; S. Nolan; A. T. McGown. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3033-3037.

<sup>67</sup> M. Medarde; A. C. Ramos; E. Caballero; R. Pelaez; J. L. Lopez. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, *33*, 71-77.

<sup>68</sup> M. Cushman; C. M. Lin. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2579-2588.

than electronic properties.<sup>69</sup> When the hydroxyl group is replaced with isosteric NH<sub>2</sub> (**I-34**), good activities are achieved and this leads to compounds of major activity than CA4 of about 2-fold.<sup>70</sup> On the contrary, an NO (**I-35**) group generates a compound with minor activity as anti-mitotic agent.<sup>70</sup> Kong et al.<sup>71</sup> realized that the introduction of a boronic acid at the C-3' position surprisingly leads to an increase in the activity as well as an increase in water solubility. Docking studies suggested that the boronic acid allows strong hydrogen bond interactions with the active site of the target. The phosphate pro-drugs generated by modifications in this position are of particular interest because they solve the low CA4 water solubility problem generating prodrugs like *fosbretabulin*.<sup>62,72</sup> The methoxy group in the C-4' position seems to be fundamental for CA4 activity, since when it is substituted with ethoxy or propoxy groups, a loss in cytotoxicity is observed, suggesting that steric effects are detrimental to the activity. Replacing this methoxy group with fluorine, chlorine, bromine or methyl leads to a decrease in activity, but these modifications maintain the target selectivity.<sup>73</sup> Furthermore, introduction of a dimethylamino group instead of the methoxy group induces at least 10-fold loss of activity while the influence on tubulin polymerization was minimum.<sup>68</sup> On the other hand, the substitution of the methoxy group at C-4' with amino-groups leads to active compounds.<sup>63,74</sup>

When the B-ring is substituted by a heterocycle a difference in activities can be seen depending on the heteroatom position. Compounds with a nitrogen at the *ortho* position (**I-37**, Figure 25) were little active, while their analogue with a nitrogen in *meta* (**I-38**, Figure 25) showed potent cytotoxic activity and antitubulin activity.<sup>75</sup>

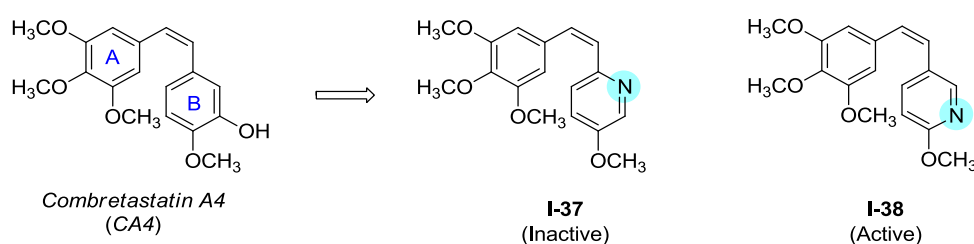


Figure 25: Structural modifications in the B-ring of CA4<sup>75</sup>

Modifications in the ethylene bridge have also been studied. The presence of a double bond with Z-configuration is essential for CA4 activity. The (*E*) analogues showed significant loss of activity, but retained some, attributable to isomerisation to the (*Z*)-stilbene during the evaluation process.<sup>68</sup>

<sup>69</sup> G. R. Pettit; M. R. Rhodes; D. L. Herald; E. Hamel; J. M. Schmidt. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4087-4099.

<sup>70</sup> K. Ohsumi; R. Nakagawa; Y. Fukuda; T. Hatanaka; Y. Morinaga. Y. Nihei; K. Ohishi; Y. Suga; Y. Akiyama; T. Tsuji. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3022-3032.

<sup>71</sup> Y. Kong; j. Grembecka; M. Edler; E. Hamel; S. L. Mooberry. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 1007-1014.

<sup>72</sup> Y. Sheng; J. Hua; K. G. Pinney; C. M. Garner; R. R. Kane; J. A. Prezioso; D. J. Chaplin; K. Edvardsen. *Int. J. Cancer* **2004**, *111*, 604-610.

<sup>73</sup> M. Cushman; D. Nagarathnam; D. Gopal; H. M. He; C. M. Lin. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2293-2306.

<sup>74</sup> K.A. Monk; R. Siles; M. B. Hadimani; B. E. Mugabe; J. F. Ackley; S. W. Studerus; K. Edvardsen; M. L. Trawick; C. M. Garner; M. R. Rhodes; G. R. Pettit; K. G. Pinney. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3231-3244.

<sup>75</sup> T. Hatanaka; F. Fuhita; K. Ohsumi; N. Nakagawa; Y. Fukuda. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3371-3374.

Hydrogenation of the double bond of CA4 (Figure 26) led to analogues less potent than the parent compound (**I-39**).<sup>73</sup> The replacement of the CH<sub>2</sub> with a ketone (**I-40**) showed a loss in cytotoxicity but similar antitubulin activity than CA4.<sup>76</sup>

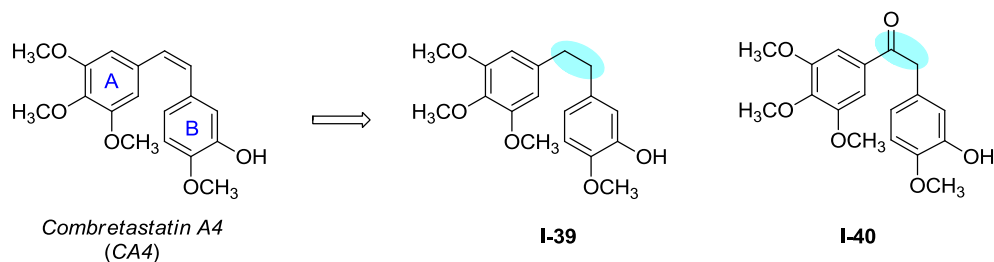


Figure 26: Structural modifications in the double bond of CA4<sup>76</sup>

The optimal and permissive length of the bridge was also studied. The diaryl derivatives without a bridge were inactive. The introduction of methylene, propylene, and butylene bridges revealed that ethylene linkers were the most active ones, while methylene and butylene were the least active both in cytotoxicity and in antitubulin activity.<sup>73,77</sup>

On the other hand, the introduction of substituents at the double bond as methyl, ethyl, cyano and hydroxyl groups maintained the antitubulin effect while decreasing significantly the cytotoxic activity.<sup>78,79</sup> Only the introduction of fluorine maintained or increased the activity compared to CA4.<sup>80</sup>

### 1.8.3. Resveratrol

*Resveratrol* is a natural polyphenol, isolated in 1940 from *V. Grandiflorum*, with a chemical structure of a *trans*-3,5,4'-trihydroxystilbene. It is synthesized by plants like grapes, peanuts, and berries in response to mechanical injury, fungal infections or U.V. radiation, in order to counteract them, as well as contributing to normal development and growth. Although it can be found in both *cis* and *trans* isoforms, it is the *trans* form the most active one.<sup>81,82</sup>

The concentration of *resveratrol* in plants vary markedly between species and ranges from 0.05 to 25 mg/L<sup>81</sup> in some wines and grape juices, while in blueberries its concentration is approximately of 32 ng/g, 1920 ng/g in peanuts and 3540 ng/g grapes.<sup>82</sup> *Resveratrol* can be found as glucoside, forming oligomers, trimers, tetramers and *oxyresveratrol*, also known as *piceatannol* and *hydroxy-resveratrol*.<sup>81</sup>

One of the biological activities of *resveratrol* that got important attention to date is its capacity to lower cardiovascular risk. In fact, it is thought to be the active substance responsible for the "French Paradox", in which decreased risk of coronary heart diseases is associated to moderate consumption of red wine despite high fat diets, as observed in France. It was in 1992 that Siemann and Creasy

<sup>76</sup> G. R. Pettit; B. Toki; D. L. Herald; P. Verdier-Pinard; M. R. Boyd. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1688-1695.

<sup>77</sup> Z. Getahun; L. Jurd; P. S. Chu; C. M. Lin; E. Hamel. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1058-1067.

<sup>78</sup> J.A. Hadfield; K. Gaukroger; N. Hirst; A.P. Weston; N.J. Lawrence; A.T. McGown. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 529-541.

<sup>79</sup> R. Shiari; T. Okabe; S. I. Wasaki. *Heterocycles* **1997**, *46*, 145-148.

<sup>80</sup> D. Alloatti; G. Giannini; W. Cabri; I. Lustrati; M. Marzi; A. Ciacci; G. Gallo; M. O. Tinti; M. Marcellini; T. Riccioni. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2708-2721.

<sup>81</sup> H. I. Rocha-González; M. Ambriz-Tututi; V. Granados-Soto. *CNS Neurosci. Ther.* **2008**, *14*, 234-247.

<sup>82</sup> L. G. Carter; J. A. D'Orazio; K. J. Pearson. *Endocr. Relat. Cancer* **2014**, *21*, R209-R225.

suggested that *resveratrol* was the active ingredient in wines explaining this beneficial properties.<sup>81,82</sup> Recent studies have reassured the cardioprotective activity of *resveratrol* since preclinical studies have shown its capacity in reducing hypertension, enhancing vascular health and counteracting heart failure and ischemic heart disease.<sup>82,83</sup>

Furthermore, *resveratrol* has also shown beneficial effects in metabolism; it protects against deleterious effects of high-fat diets and obesity, improving glucose regulation and insulin sensitivity in type 2 diabetic models.<sup>82,83</sup> Nevertheless, some studies were unable to show the same results, so more clinical data is needed in order to determine its role in metabolic disorders.

High levels of *resveratrol* are found in *Polygonum cuspidatum*, a Japanese knotweed used traditionally in Asia to treat inflammatory processes. The anti-inflammatory activity of *resveratrol* has been associated with its capacity to inhibit cyclooxygenase enzyme (COX).<sup>82</sup> Furthermore, it may also be used because of its neuroprotective effects. Some preclinical studies have demonstrated its beneficial effects in cerebral stroke and traumatic neuronal injury after contusion or ischemia-reperfusion injury. This effect may be mediated through the modulation of oxidative stress neuronal markers.<sup>81,83</sup>

Among all, its chemopreventive and anticancer properties are gaining interest as a potential tool in clinics.

In 1997, Jang et al. demonstrated the cancer chemopreventive properties of *resveratrol*, proving its anti-initiation, anti-promotion, and anti-progression activities in a skin cancer model when administered topically.<sup>83</sup> The concrete mechanism of action of *resveratrol* to act as an inhibitor of cancer initiation and progression is not fully understood, but it has been shown that it can promote cell cycle arrest, down-regulate fatty acid synthase (FAS) and enhance death-associated protein kinase 2 (DAPK2) and Bcl-2 nineteen kilodalton interacting protein (BNIP3) leading to apoptosis of cancer cells. Moreover, *resveratrol* can prevent tumour-derived nitric oxide formation blocking tumour growth and migration, act as an antioxidant that prevents DNA damage that leads to tumour formation and reduce COX and TANK-binding kinase 1 (TBK1) activity diminishing the chronic inflammation associated to cancer development. It also decreases nuclear factor kB (NF-kB) binding to DNA, decreasing the transcription level of genes that enhance tumour growth.<sup>82,83</sup>

Studies in cell culture and animal models suggest *resveratrol* has inhibitory activity against a variety of different cancers like breast and colon. Nevertheless, evidence in humans is inconsistent, possibly due to its poor bioavailability when taken orally<sup>82</sup> and more data is needed.

The main problem of *resveratrol* when used orally *in vivo* is its poor bioavailability, since it is rapidly eliminated from the organism through metabolism, complicating the maintenance of therapeutic blood levels that permit its interaction with the different targets. Approximately 70-80% of *resveratrol* that is orally administered is absorbed through gastrointestinal tract through passive diffusion and metabolized to its sulphates and glucuronides stable conjugates, being the C-3 and C-4' positions the most reactive ones. After two hours of administration, it is already metabolized to its 3-*O*-glucuronide, 3- and 4'-*O*-sulfate, and hydroxylates derivatives. Moreover, intestinal bacteria also contributes to this metabolism generating *dihydroresveratrol*, 3,4'-dihydroxy-*trans*-stilbene and 3,4'-dihydroxybibenzyl (Figure 27).<sup>82,83</sup>

---

<sup>83</sup> C. K. Singh; M. A. Ndiaye; N. Ahmad. *Biochim. Biophys. Acta.* **2015**, *1852*, 1178-1185.



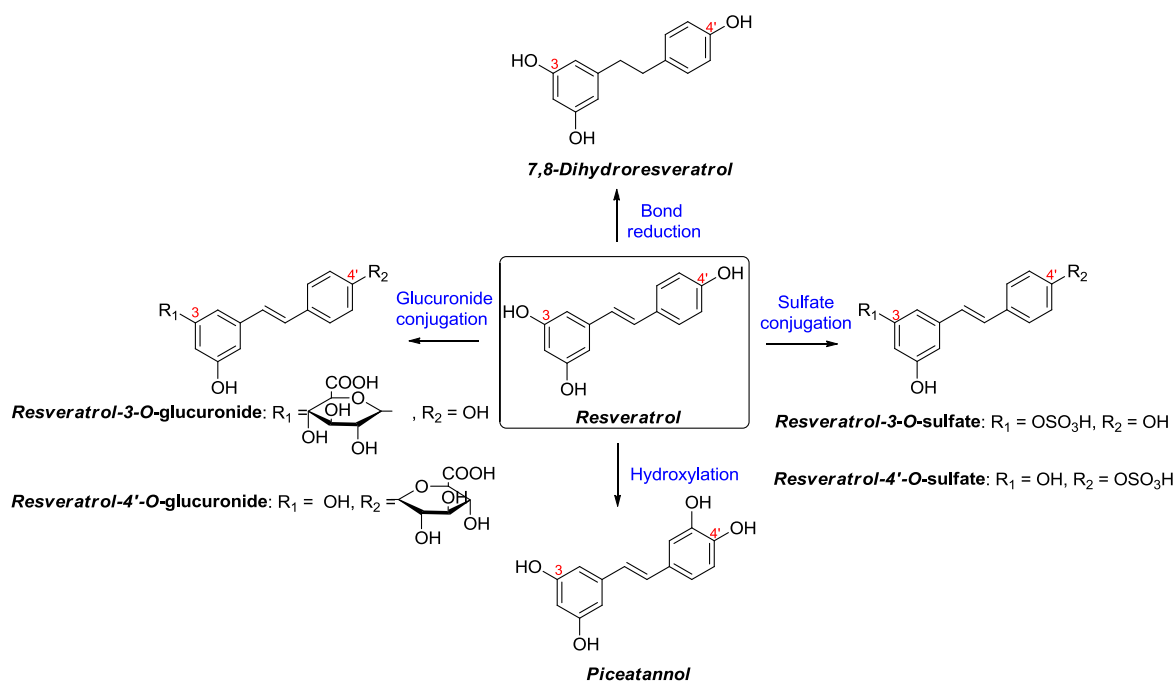


Figure 27: *Resveratrol* metabolites after oral administration identified in rat of human urine and in human liver microsomes. Modification from<sup>83</sup>

Therefore, new forms of *resveratrol* are being prepared by different authors in order to maintain sustained serum levels after oral administration. Larrosa et al., for example, have prepared a series of *resveratrol* prodrugs that is steadily de-conjugated in the gastrointestinal tract. Furthermore, the chemical groups added to form these new forms may decrease the metabolism rate. Another strategy that has been studied is the use of nanoparticle-mediated delivery systems<sup>83</sup> and the concomitant use of different agents that inhibit *in vivo* metabolism like piperine (found in black pepper), curcumin (found in turmeric) or quercetin (found in different plants and fruits).<sup>82,83</sup>

## 1.9. Previous work

In our working group, several aryl derivatives and heterocyclic compounds have been prepared and Eli Lilly laboratories (Indianapolis, EUA) and the Aragon Health Sciences Institute (Zaragoza, Spain) have evaluated their biological activity. Preliminary results showed interesting activities toward more than one therapeutic target as explained below.

### 1.9.1. Arylethers and arylureas

In the PhD thesis of Dr. Arturo Vinuesa,<sup>84</sup> which was developed in our group and was presented in 2016, a series of novel diarylureas and diarylethers related to *sorafenib* was developed that showed interesting antiproliferative activities in different cancer cell lines (Figure 28).

<sup>84</sup> A. Vinuesa. Diseño, síntesis y evaluación biológica de nuevos compuestos nitrogenados potencialmente antitumorales. *Tesis Doctoral* 2016. Universidad de Barcelona y Universidad San Jorge (Zaragoza).

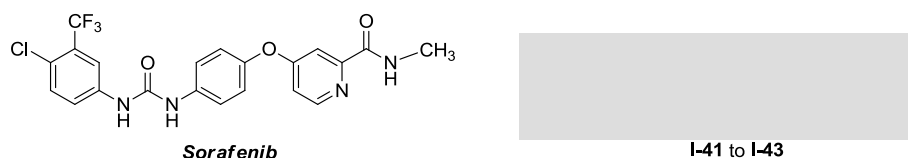


Figure 28: Chemical structure of *sorafenib* and **I-41** to **I-43**<sup>84</sup>

Among all, the urea **I-41** showed high cytotoxicity against HeLa (cervical cancer) and MIA Paca-2 (pancreas cancer) cells with IC<sub>50</sub> in the low micromolar range, but its cytotoxicity against healthy cells, which was evaluated using HFF-1 cells (healthy fibroblast cells), was also potent, therefore being not selective for cancer cells.

The modification of the R group generated **I-42** which demonstrated an important increase in selectivity for cancer cells since it was not cytotoxic in HFF-1 cells at the concentration tested, but its activity in HeLa cells decreased 10 times and was maintained in MIA Paca-2 cells. Subsequent modifications in the R groups led to **I-43**, which maintained the cytotoxic activity from **I-41** with an increase in selectivity against healthy cells, converting **I-43** in an interesting lead compound to be further evaluated (Table 9).

Table 9: IC<sub>50</sub> (μM) values for **I-41**, **I-42** and **I-43** in HeLa, MIA Paca-2 and HFF-1 cells<sup>84</sup>

	HeLa	MIA Paca-2	HFF-1
	IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>
<b>I-41</b>	17 ± 3	11 ± 1	24 ± 2
<b>I-42</b>	100 ± 10	10 ± 1	Not cytotoxic
<b>I-43</b>	13 ± 1	18 ± 2	140 ± 7

### 1.9.2. Polyphenols

Several anticancer agents have been isolated from natural sources. *Ellagic acid*, *epigallocatechin gallate*, *curcumin*, *resveratrol*, *genistein* and *catechin* (Figure 29) are natural polyphenols found in some fruits and vegetables that have shown beneficial activities in different health areas as explained below. Extracts containing these polyphenols have been used in traditional medicine. They act on several targets related to carcinogenesis, inflammation, angiogenesis and others.

*Ellagic acid* is a natural polyphenol produced in some fruit and nuts like berries, pomegranates, grapes, and walnuts. Several studies have demonstrated its antiproliferative activity in certain cancers<sup>85</sup> as well as its beneficial effects, acting as an antioxidant,<sup>86</sup> anti-inflammatory<sup>87,88</sup> and attenuating obesity complications like insulin resistance, type 2 diabetes and atherosclerosis.<sup>87</sup>

<sup>85</sup> G. Block; B. Patterson. A. Subaru. *Nutr. Cancer* **1992**, *18*, 1-29.

<sup>86</sup> M. I. Gil; F. A. Tomás-Barberán; B. Hess-Pierce; D. M. Holcroft; A. A. Kader. *J. Agric. Food* **2000**, *48*, 4581-4589.

<sup>87</sup> I. Kang; T. Buckner; N. F. Shay; L. Gu; S. Chung. *Adv. Nutr.* **2016**, *7*, 961-72.

<sup>88</sup> Y. Zhang; D. L. Dewitt; S. Murugesan; M. G. Nair. *Chem. Biodiv.* **2004**, *2*, 426-441.

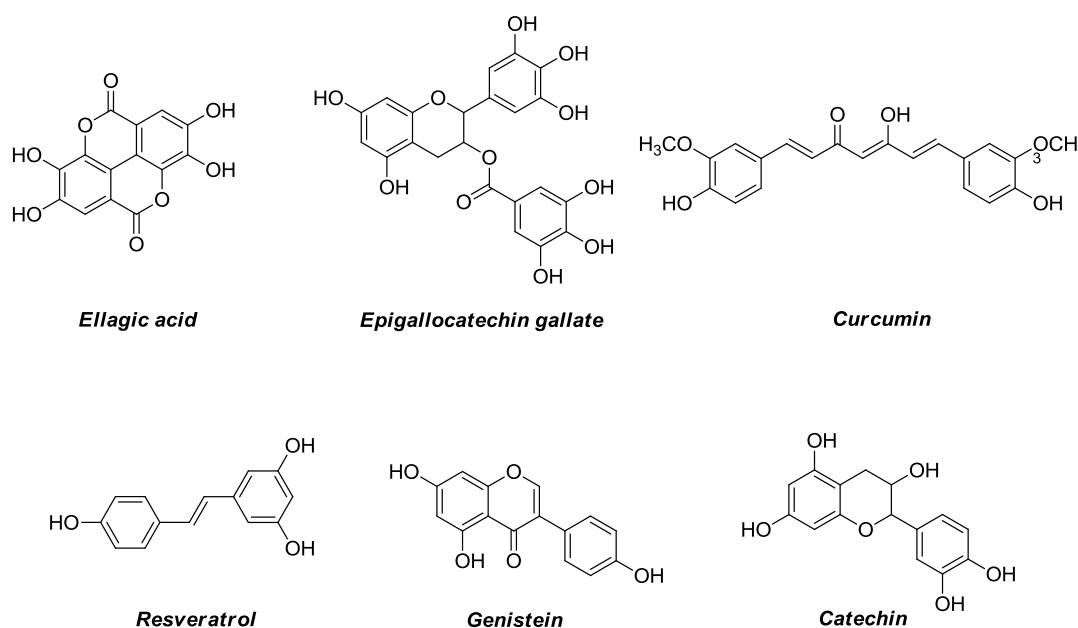


Figure 29: Chemical structure of *Ellagic acid*, *epigallocatechin gallate*, *curcumin*, *resveratrol*, *genistein* and *catechin*

*Resveratrol*, as explained in the introduction of this thesis, is found in certain plants and fruits like grapes and up to now, it has shown *in vitro* promising results against cardiovascular,<sup>89</sup> inflammatory,<sup>90</sup> microbial,<sup>91</sup> neurodegenerative,<sup>92</sup> metabolic<sup>93</sup> and cancer disorders.<sup>94</sup> Although its anti-initiation, anti-promotion, anti-progression and pro-apoptotic activities have been demonstrated in different cancer models,<sup>95,96</sup> its clinical use is limited by its low bioavailability. The major hindrance is its fast elimination through metabolism to its corresponding glucuronides, sulphates and hydroxylates.<sup>97</sup>

But not only *ellagic acid* and *resveratrol* have shown beneficial properties in human health. Diets rich in vegetables and fruits also contain other compounds that may display cancer preventive and antioxidant properties. *Genistein*,<sup>98,99</sup> for example, is an isoflavone found in soy products in Asian diets and its consumption is correlated with low incidence of breast, prostate and colon cancer.<sup>98</sup> *Epigallocatechin gallate*<sup>98</sup> and *catechin*<sup>100</sup> (Figure 29) are other examples of polyphenols with antioxidant and protective properties from tea.

Therefore, data currently available suggests the potential metabolic and cancer-preventing benefits of consumption of foods that contain high levels these kind of natural polyphenols.

<sup>89</sup> L. Fremont. *Life Sci.* **2000**, *66*, 663-673.

<sup>90</sup> G. L. Chen; W. Shan; Y. L. Wu; L. X. Ren; J. H. Dong; Z. Z. Ji. *Anal. Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 1587-1590.

<sup>91</sup> M. Chalal; A. Klinger; A. Echairi; P. Meunier; D. Vervandier-Fasseur; M. Adrian. *Molecules* **2014**, *19*, 7679-7688.

<sup>92</sup> D. Hu; P. Cao; E. Thiels; C. T. Chu; G. Y. Wu; T. D. Oury; E. Klann. *Neurobiol. Learn. Mem.* **2007**, *87*, 372-384.

<sup>93</sup> C. K. Singh, A. Mary; N. A. Ndiaye. *Biochim. Biophys. Acta.* **2015**, *1852*, 1178-1185.

<sup>94</sup> A. C. Faber; T. C. Chiles. *Int. J. Oncol.* **2006**, *29*, 1561-1566.

<sup>95</sup> L. Q. Trung; J. L. Espinoza; A. Takami; S. Nakao. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e55183.

<sup>96</sup> M. Jang; L. Cai; G. O. Udeani; K. V. Slowing; C. F. Thomas; C. W. Beecher; H. H. Fong; N. R. Farnsworth; A. D. Kinghorn; R. G. Mehta; R. C. Moon; J. M. Pezzuto. *Science* **1997**, *275*, 218-20.

<sup>97</sup> H. I. Rocha-Gonzalez; M. Ambriz-Tututi; V. Granados-Soto. *CNS Neurosci. Ther.* **2008**, *14*, 234-247.

<sup>98</sup> G. L. Patrick. *An introduction to Medicinal Chemistry* **2013**, ISBN: 978-0-19-969739-7.

<sup>99</sup> D. C. Vitale; C. Piazza; B. Melilli; F. Drago; S. Salomone. *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.* **2013**, *38*, 15-25.

<sup>100</sup> M. Rafieian-Kopaei; M. Movahedi. *Electronic Physician* **2017**, *9*, 3838-3844.

During the PhD thesis of Dr. Ruben Francisco Castillo,<sup>101</sup> which took place in our group, a novel synthesis of *ellagic acid* was developed and accomplished. Furthermore, different *resveratrol* analogues were prepared in our group in the PhD thesis of Dr. Richard Soucek<sup>102</sup> replacing the central double bond by [REDACTED] thus, fixing the *trans* configuration of *resveratrol*.



Figure 30. *Resveratrol* analogues **I-44** and **I-45** prepared during the PhD thesis of Dr. R. Soucek

Some examples of the new compounds prepared are **I-44** and **I-45** (Figure 30). According to the biological results of the KRAS Wnt Synthetic Lethal assay, **I-44** has a moderate KRAS activity on the RKO KrasSL (colon cancer) cell line with a 47% of inhibition at a concentration of 0.2  $\mu\text{M}$ . On the other hand, **I-45** shows a 55% of inhibition in Colo 320 (colon cancer) cell line at a concentration of 20  $\mu\text{M}$ . Moreover, compound **I-45** also presented a significant antiangiogenesis activity with a 47% of Angio Tube Area inhibition at 10  $\mu\text{M}$ .

To continue the development of a new family of polyphenols with improved pharmacokinetic profiles and higher activities in cancer and metabolic disorders, and that can be used as preventive agents, several *resveratrol* analogues and derivatives are considered as an objective of the present work.

*Curcumin*, isolated from *Curcuma Longa*, is a spice with health benefits recognised by the United States Food and Drug Administration (FDA).<sup>103</sup> *Curcumin* has been biologically evaluated but its poor bioavailability and rapid metabolism have prompted us to search new synthetic curcumin derivatives. The research work of Lorena Navarro from our group contains the preparation of several *curcumin* analogues with the pharmacophore and modifications in the non essential structure (Figure 31).<sup>104</sup>

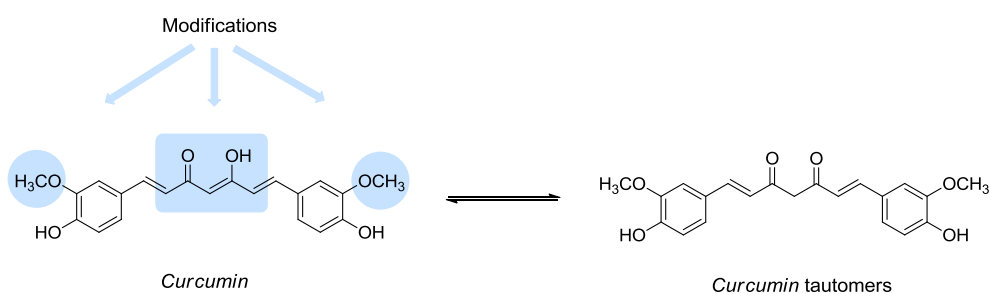


Figure 31: Chemical structure of curcumin and its tautomer. Possible modification sites explored by our group.

<sup>101</sup> R. Francisco. Diseño y síntesis de maleimidias y de otros compuestos heterocíclicos con potenciales propiedades antitumorales. *Tesis Doctoral* **2016**. Universidad de Barcelona.

<sup>102</sup> R. Soucek. Synthesis of new heteropolycyclic compounds with potential antitumor activity. *Tesis Doctoral* **2014**. Universidad de Barcelona.

<sup>103</sup> D. M. Smith; Z. Wang; A. Kazi; L. H. Li; T. H. Chan; Q. P. Dou. *Mol. Med.* **2002**, *8*, 382-392.

<sup>104</sup> L. Navarro. M. D. Pujol. Results not published. **2017**

### 1.9.3. Combretastatin A4

As described before, *Combretastatin A-4* is a vascular disrupting agent that inhibits tubulin polymerization, leading to the inhibition of tumour angiogenesis. A new family of compounds related to the *CA4* structure with potential antitumour activity has been developed in our laboratory in recent years, specifically, in the PhD work of Dr. Ruben Francisco Castillo<sup>101</sup> and Dr. Richard Soucek.<sup>102</sup>

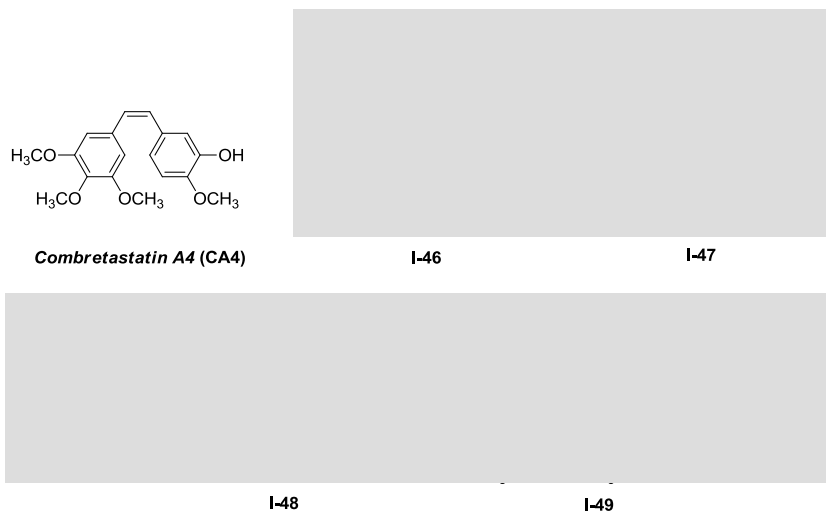


Figure 32: *CA4* analogues prepared during the PhD thesis of Dr. Ruben Francisco (**I-46** and **I-47**) and Dr. R. Soucek (**I-48** and **I-49**)<sup>101,102</sup>

Compounds **I-46** and **I-47** (Figure 32) demonstrated an inhibition higher than 65% at 10  $\mu\text{M}$  concentration, with  $\text{IC}_{50}$  of 5.52 and 8.31  $\mu\text{M}$  respectively in K-562 cells (leukaemia cells).

## 2. OBJETIUS

### 2.1. Primer objectiu

Tenint en compte els precedents bibliogràfics exposats a la introducció d'aquesta memòria i el treball desenvolupat fins al moment pel nostre grup de recerca, així com els resultats obtinguts, els objectius d'aquest treball de tesi doctoral estan orientats a la preparació i posterior avaluació biològica de nous compostos potencialment antitumorals per inhibició de KRAS.

Les estructures dissenyades a partir del *sorafenib* formen part del primer objectiu d'aquest treball.

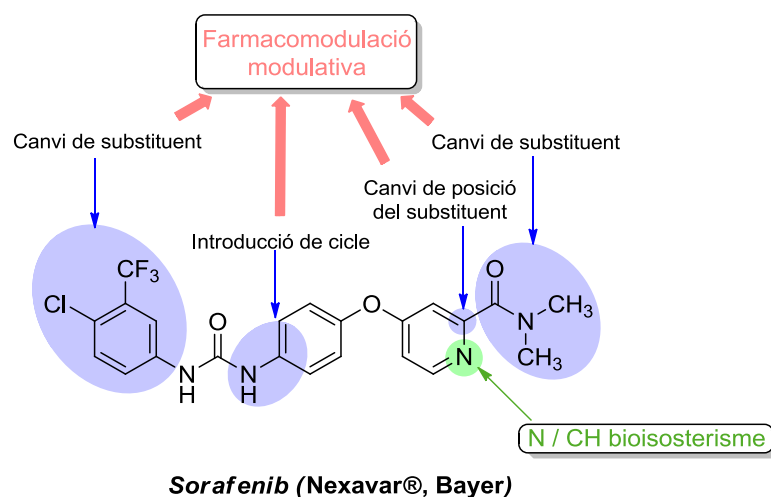


Figura 33

Pel disseny d'aquestes noves estructures s'ha aplicat principalment la farmacomodulació modulativa en el canvi de substituents tant de la part de la diarilurea com del diarilèter. A més a més, s'ha canviat la posició de substitució del diarilèter, així el substituent de la posició *meta* del *sorafenib* s'ha canviat a posició *para*. També s'ha introduït un anell de [ ] entre el diarilèter i la funció d'arilurea, modificació que implica una variació de la distància entre ambdós grups funcionals que pot influir positivament en l'activitat biològica (Figura 33).

Dins d'aquest primer objectiu s'han preparat els diarilèters substituïts per una [ ] en la posició 4 d'un dels fenils i un [ ] en la posició *para* del segon grup fenil (compostos **1** i **2**). El compost **3** és l'anàleg reduït d'**1**, i **4** el seu derivat *N*-acetilat. El compost **5**, igual que el **2**, presenta l'agrupació de [ ] però en diferent nucli benzènic (Figura 34).

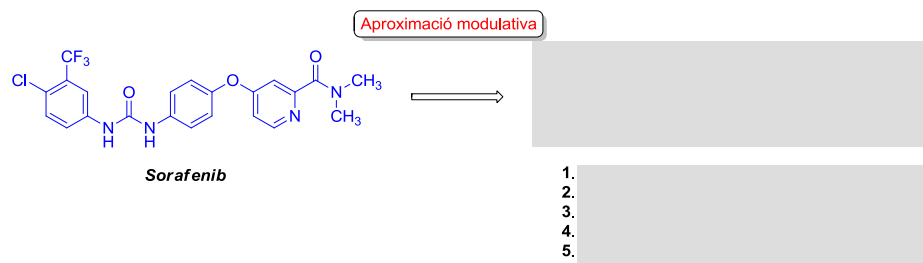


Figura 34

També formen part d'aquest objectiu els compostos **6-9** que contenen el nucli de [ ] com a substituent [ ] (compost **6**), [ ] (compost **7**), [ ] (compost **8**) i de [ ] (compost **9**) (Figura 35).

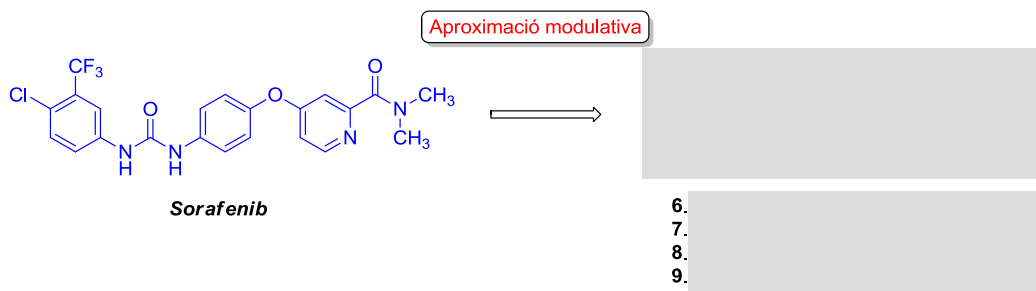


Figura 35

Completen aquesta petita sèrie els compostos **10-12**. Tots ells presenten la funció   disubstituída, però mentre que **10** manté la subestructura de  , els compostos **11** i **12** presenten una agrupació de   (Figura 36).

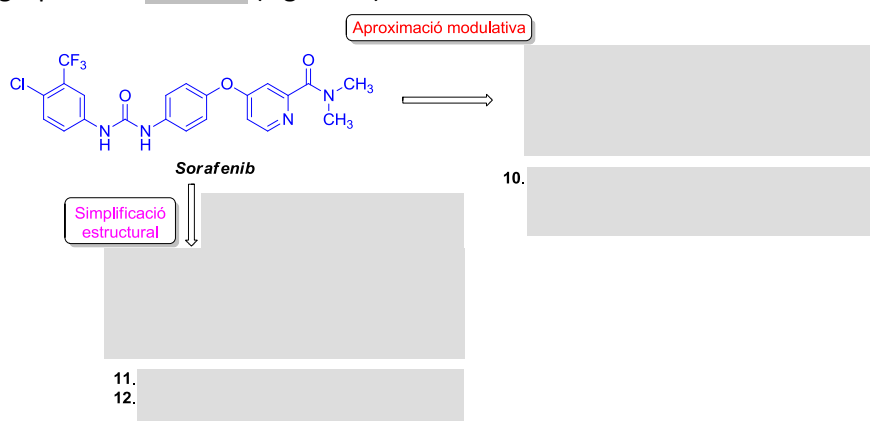


Figura 36

En tots aquests compostos s'ha substituït la piridina disubstituída del *sorafenib* per un   que correspon a una modificació de biosiosterisme clàssic ( ).

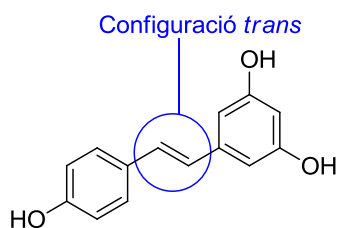
Finalment, serà important en aquest objectiu considerar els assajos biològics per a determinar la citotoxicitat i un *screening* multidiana que permetrà avaluar altres propietats terapèutiques.

## 2.2. Segon objectiu

El *resveratrol* (3,5,4'-trihidroxiestilbè) (Figura 37) ha mostrat una gran varietat d'efectes positius per a la salut, incloent-hi protecció enfront del càncer i de les malalties cardiovasculars,<sup>105</sup> degut a la inhibició de la diana QR2 (quinona reductasa 2). També presenta inhibició de la producció d'òxid nítric (NO) i del factor de necrosis tumoral (TNF) en macròfags. Els estudis *in vivo* indiquen la baixa biodisponibilitat i la ràpida eliminació per orina del *resveratrol*, que en limiten el seu ús.

La preparació d'anàlegs estructurals del *resveratrol* amb la finalitat de conèixer la seva activitat biològica constitueix el segon objectiu d'aquest treball.

<sup>105</sup> M. Jang; L. Cai; G. O. Udeani; K. V. Slowing; C. F. Thomas; C.W. Beecher; H. H. Fong; N. R. Farnsworth; A. D. Kinghorn; R. G. Mehta; R. C. Moon; J. M Pezzuto. *Science* **1997**, 275, 218-20.



**Resveratrol**

Figura 37

La preparació d'anàlegs cíclics comporta un augment de la rigidesa de l'estructura i és un bon element per a la determinació del grup farmacòfor d'estructures amb un cert perfil d'activitat biològica. En aquest cas es proposa la síntesi i avaluació d'anàlegs dels *resveratrol* obtinguts per la formació d'un cicle de 6 àtoms que engloba el doble enllaç i la posició [redacted] del fenol (Figura 38).

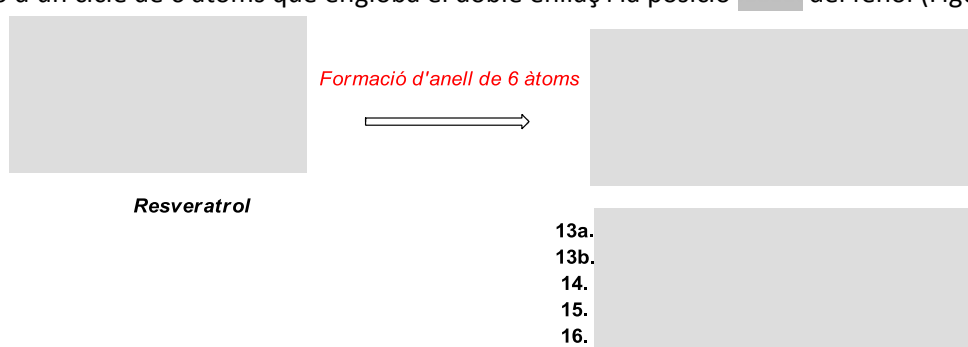


Figura 38

Així mateix s'ha considerat la formació d'anàlegs cíclics però per introducció d'un anell de 5 àtoms. En primer lloc es contempla la introducció d'un àtom [redacted] entre el doble enllaç i la posició [redacted] del nucli benzènic que condueix als compostos **17-20** (Figura 39).

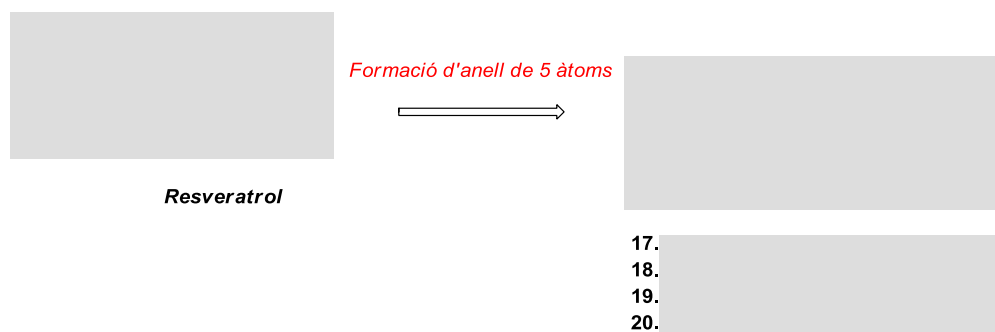


Figura 39

La introducció d'un grup [redacted] entre el doble enllaç i la posició [redacted] del nucli difenòlic permet accedir als derivats [redacted] **21 i 22** (Figura 40).



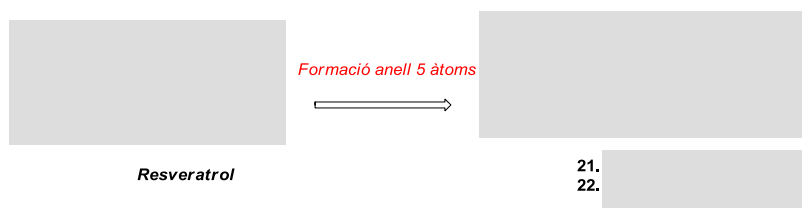


Figura 40

A la gran majoria dels compostos proposats s'han introduït grups metoxils enlloc dels fenols propis dels *resveratrol*, amb la finalitat de facilitar la síntesi i també de millorar la biodisponibilitat. Tot i això, aquest fet suposa una limitació pels estudis *in vitro*.

Relacionat amb el que s'acaba d'esmentar i el fet que el *resveratrol* presenti aplicacions limitades degut a la poca estabilitat química, baixa solubilitat, reduïda biodisponibilitat i una ràpida metabolització,<sup>106</sup> proposem la preparació de profàrmacs del propi *resveratrol* (Figura 41) per tal de millorar aquests aspectes negatius del *resveratrol* i que en dificulten la seva utilitat terapèutica.

En primer lloc s'han introduït grups acils que comporten un augment considerable de lipofilia i que per tant haurien de millorar la biodisponibilitat i també l'estabilitat al dificultar l'oxidació dels fenols (compostos **23**, **24** i **25**) i podrien facilitar la formació de fàrmacs dipòsit (compost **24**). En el cas del compost **26** es pretén augmentar l'estabilitat i la solubilitat en aigua degut a la introducció del substituent complex -O-CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-COOH.

L'alquilació dels fenols condueix als èters **27-30**, que presenten l'agrupació d'hidroxietiloxi en les 3 posicions (compost **29**), en una o dues posicions mantenint grups -OH lliures (compostos **27** i **28** respectivament) o bé el cas del compost **30** que combina un grup d'hidroxietiloxi en la posició R<sub>1</sub> amb la resta de fenols metilats.

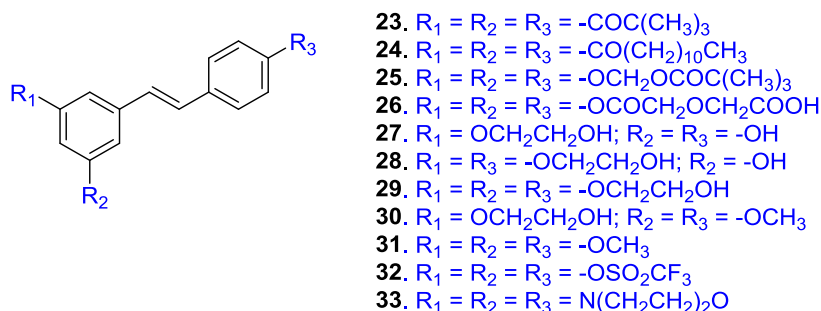


Figura 41

La metilació dels tres grups hidroxils condueix al compost **31**. En aquest cas es cerca major absorció i una millora en l'estabilitat enfront d'oxidants. La introducció d'agrupacions trifluorometilsulfoniloxi (compost **32**) no millorarà molt l'estabilitat però degut al caràcter electro-atraient pot modificar el comportament del doble enllaç. Finalment la substitució dels grups hidroxils del *resveratrol* per morfolines pot modificar a més a més de l'estabilitat i de la biodisponibilitat la interacció amb la diana terapèutica. Aquest últim cas no pot ser considerat pro-fàrmac com els anteriors, donat que no pot revertir al *resveratrol* inicial metabòlicament.

En tots els casos la configuració *trans* de l'estilbè constitueix el requisit estructural més important per a l'activitat biològica i per tant es necessària la seva presència en tots els derivats que es proposen sintetitzar.

<sup>106</sup> E. Wenzel; V. Somoza. *Mol. Nutr. Food. Res.* **2005**, *49*, 472-481.

### 2.3. Tercer objectiu

La *combretastatina* és un antitumoral natural que presenta l'esquelet carbonat del *cis*-estilbè pentasubstituit, i manifesta una activitat antimitòtica deguda a la inhibició de la tubulina.

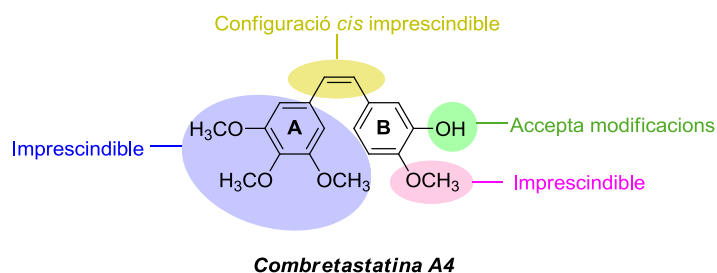


Figura 42

Tal com s'ha esmentat en la introducció d'aquesta memòria, per mantenir aquesta remarcable activitat antitumoral és fonamental mantenir els dos anells aromàtics **A** i **B** en configuració *cis*. L'anell **A**, de 3,4,5-trimetoxifenil, també es mostra imprescindible, mentre que l'anell **B** admet petites modificacions. En aquest treball es proposa la introducció de [redacted] sobre el doble enllaç de l'estilbè conjuntament amb modificacions sobre l'anell **B** (compostos **34-39**) (Figura 43).

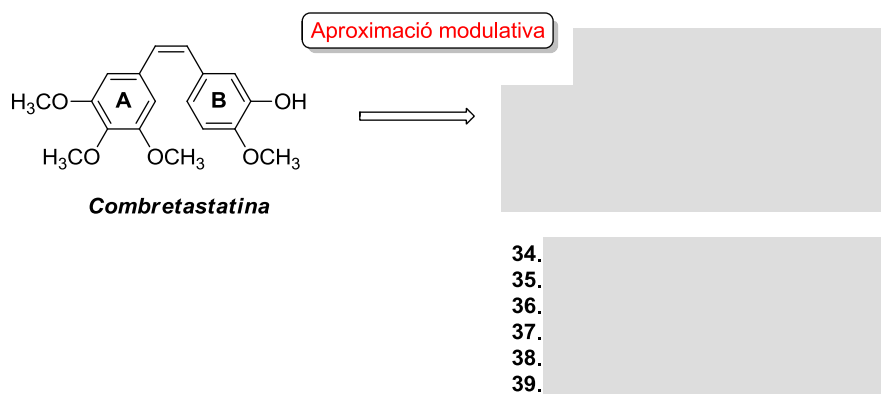


Figura 43

Dins del tercer objectiu també es va considerar la introducció d'un cicle de tipus [redacted] mimetitzant el doble enllaç d'etilè que presenti com a substituents els dos anells aromàtics de la *combretastatina* amb petits canvis de substituents sobre l'anell **B**. Totes les modificacions proposades són considerades aproximacions modulatives (Figura 44).

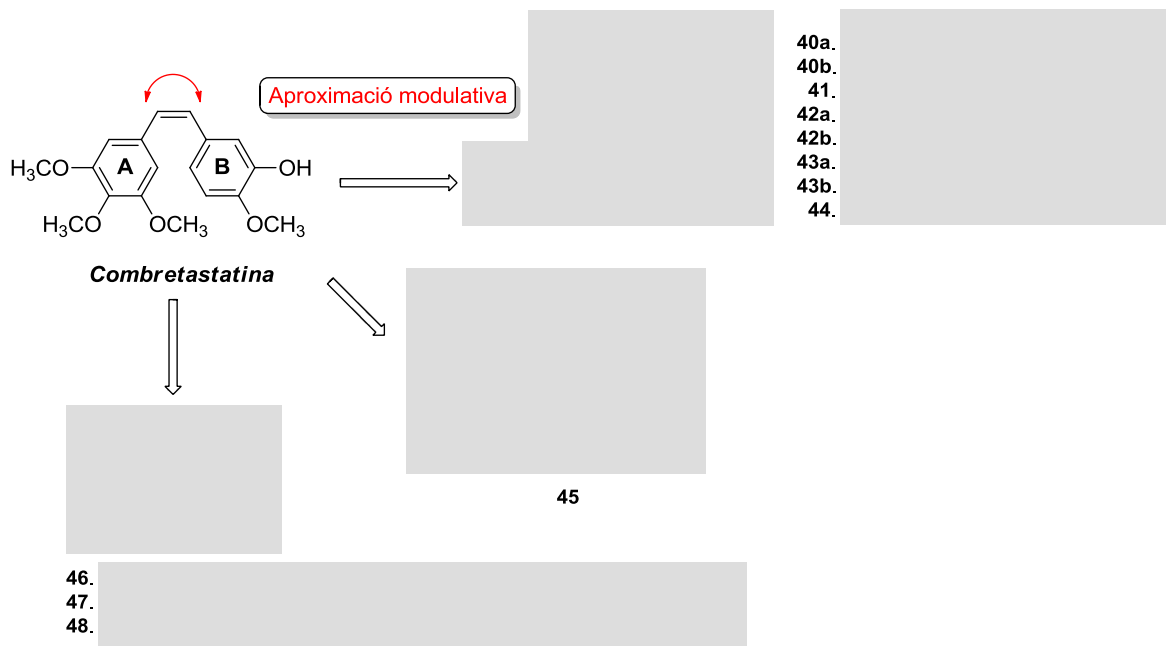


Figura 44

L'interès d'aquest treball és poder mitigar efectes tòxics que presenta la *combretastatina* i avaluar aquests compostos sobre noves dianes terapèutiques que cobreixen nous llocs pel descobriment de fàrmacs que aportin millores i permetin renovar part de l'arsenal terapèutic.

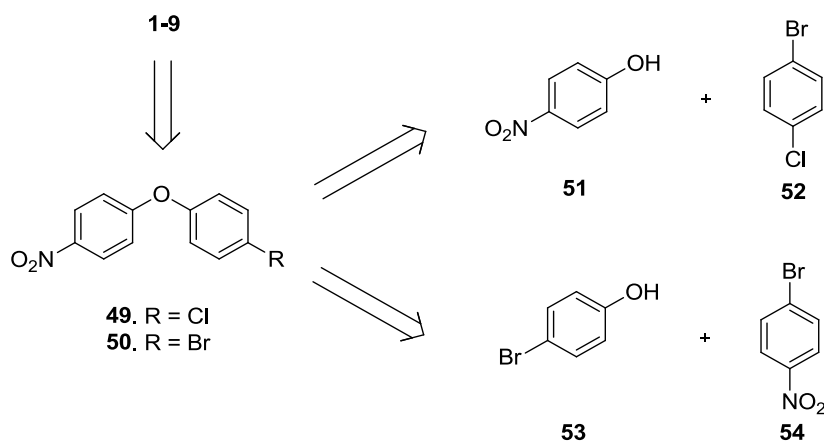
### 3. DISCUSSIÓ TEÒRICA

#### 3.1. Preparació d'arilèters

A continuació es descriuen els processos seguits per a la síntesi dels arilèters que formen del primer objectiu d'aquest treball.

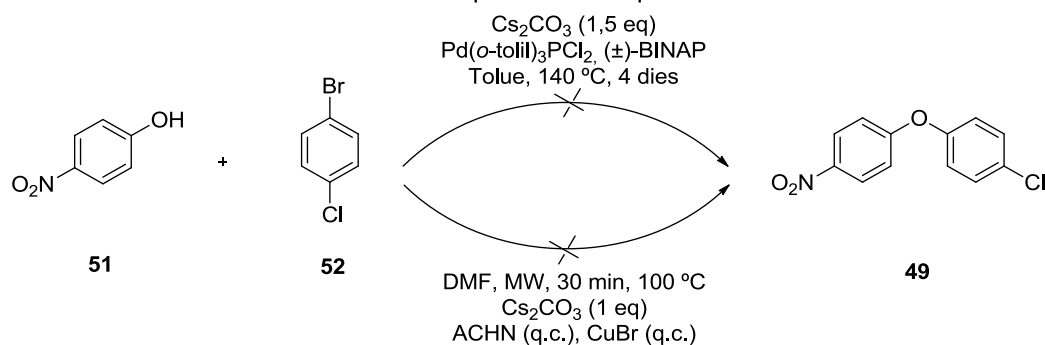
##### 3.1.1. Preparació dels arilèters intermediaris 49-50

Els diarilèters **1-9** es poden preparar a partir dels diarilèters **49** i **50**, segons es mostra en la següent anàlisi retrosintètica (Esquema 1). La primera ruta proposa la reacció entre el 4-nitrofenol (**51**) i el 4-clorobromobenzè (**52**) d'acord a condicions de reacció d'acoblament catalitzades per derivats de pal·ladi. Aquestes condicions no han permès l'accés al diarilèter **49** esperat. Paral·lelament, es va dur a terme la reacció entre el 4-bromofenol (**53**) i el 4-bromonitrobenzè (**54**) en condicions clàssiques de substitució nucleòfila aromàtica ( $S_NAr$ ) en presència de carbonat potàssic, en el si de DMF, i en aquestes condicions es va poder aïllar el producte esperat **50** en rendiments quantitius.



Esquema 1

Inicialment s'intenta la formació de l'arilèter **49** i l'arilamina **56** en condicions d'acoblament *cross-coupling* seguint el procediment descrit per Romero et al.<sup>107</sup> mitjançant catalisi de pal·ladi i carbonat de cesi com a base tal i com es mostra en l'Esquema 2 i l'Esquema 3.



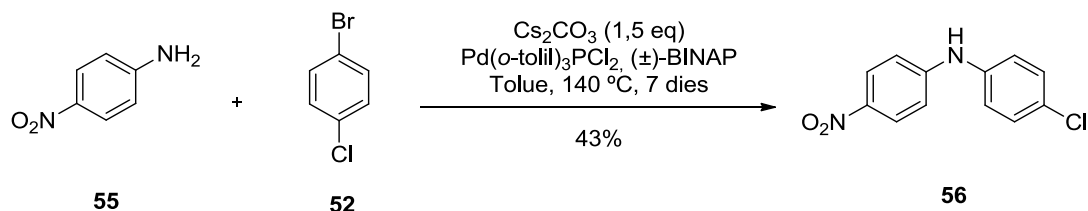
Esquema 2

Les reaccions d'acoblament entre fenols i halobenzens emprant com a catalitzadors complexos de pal·ladi presenten dificultats per conduir a diarilèters. En aquest cas, altres condicions més

<sup>107</sup> M. Romero; Y. Harrak; J. Basset; J. A. Orúe; M.D. Pujol. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1951-1956.

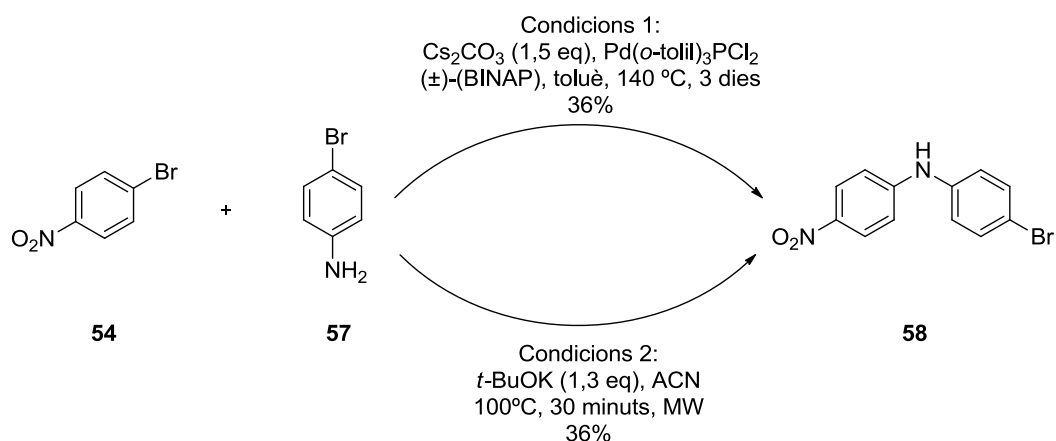
prometedores que impliquen catalisi per sals de coure (I) assistides per irradiació de microones tampoc han permès accedir al diarilèter **49** esperat (Esquema 2).

En canvi, es va aconseguir la diarilamina **56** aplicant condicions de reacció d'acoblament catalitzada per Pd (II) en presència de BINAP, segons la metodologia de Buchwald-Hartwig (Esquema 3).<sup>107</sup>



Esquema 3

De la mateixa manera, es va aconseguir l'arilanilina **58** aplicant també les condicions de *cross-coupling* de Buchwald-Hartwig. En aquest cas la irradiació per microones també va permetre l'obtenció de **58** en condicions clàssiques de  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ .



Esquema 4

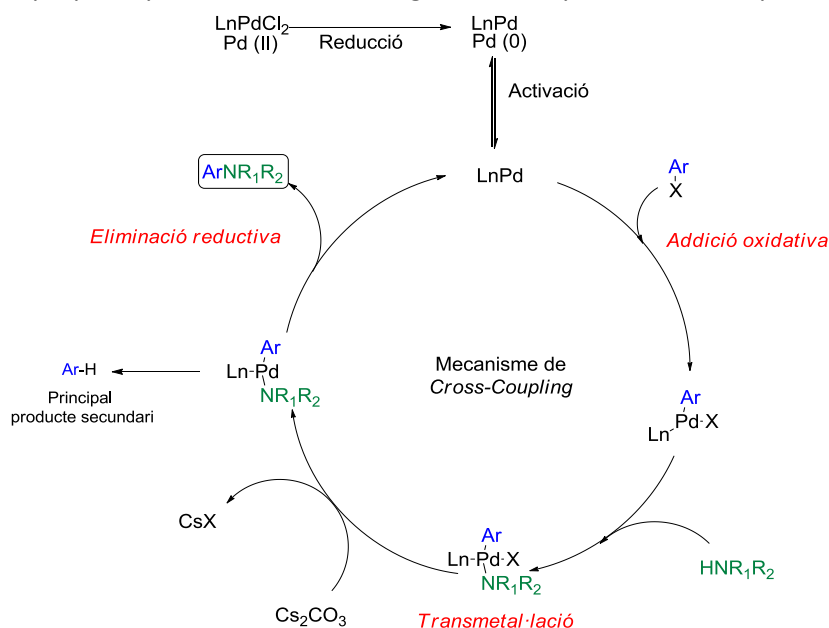
En general, les reaccions de *cross-coupling* permeten la formació d'enllaços C-C o C-heteroàtom i són àmpliament emprades en síntesi orgànica.<sup>108-110</sup> Tal i com es mostra en l'Esquema 5 el mecanisme s'inicia amb una addició oxidativa d'un halur orgànic al catalitzador de pal·ladi. El pal·ladi divalent actua com a donador d'electrons i amb el lligand formen un intermedi que s'acomplexa amb l'anell aromàtic que duu l'halogen, de manera que es trenca l'enllaç carboni-halogen i es formen dos nous enllaços amb el metall. Tot seguit es produeix una transmetal·lació de manera que els dos reactius queden situats sobre el centre metàl·lic, mentre la base reacciona amb l'halogen derivat per formar la sal corresponent. D'aquesta manera, l'àtom de nitrogen s'introdueix sobre el derivat aromàtic substituint l'halogen inicial. Finalment té lloc una eliminació reductiva dels dos fragments

<sup>108</sup> C. C. Johansson Seechurn; M. O. Kitching; T. J. Colacot; V. Snieckus. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, 5062-5085.

<sup>109</sup> T. W. Cooper; I. B. Campbell; S. J. Macdonald. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2010**, *49*, 8082-91.

<sup>110</sup> A. S. Guram; S. L. Buchwald. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7901-7902.

d'acoblament de manera que es genera el producte final esperat i es regenera el catalitzador. Aquest mecanisme va ser proposat per Buchwald i Hartwig<sup>111,112</sup> i es representa en l'Esquema 5.



Esquema 5

En determinats casos el rendiment de la reacció de *cross-coupling* pot veure's afectat per la presència de grups funcionals que continguin protons units a heteroàtoms (OH, NH, SH) en els reactius així com també per substituents voluminosos.<sup>113 - 116</sup>

Sota les condicions de *cross-coupling* descrites anteriorment s'obté paral·lelament l'arilanilina **56** amb un 43% de rendiment (Esquema 3) i l'arilanilina **58** amb un rendiment del 36% (Esquema 4). Per tal d'optimitzar el rendiment d'obtenció d'aquesta última s'assagen altres condicions basades en una  $S_NAr$  en el sí d'acetonitril i *tert*-butòxid potàssic com a base assistida per irradiació de microones. Tot i que el rendiment que s'obté és igual que en l'anterior cas, el temps de reacció s'aconsegueix disminuir de 3 dies a 30 minuts.

En el cas de l'arilèter **49** les condicions de *cross-coupling* no permeten l'obtenció del producte esperat degut possiblement a la presència del fenol. És per això que es planteja una ruta alternativa basada en les condicions posades a punt al nostre laboratori<sup>117</sup> emprant CuBr com a catalitzador, carbonat de cesi com a base, ACHN (1,1'-azobis(ciclohexanocarbonitril)) com a lligand i DMF com a dissolvent. La reacció es du a terme amb irradiació de microones i no permet l'obtenció del producte final esperat (Esquema 2).

Aquests resultats ens porten a plantejar una altra ruta sintètica per tal d'arribar a les urees corresponents mitjançant un arilèter diferent com a intermediari sintètic que també contingui un halogen com a grup sortint. En aquest cas es tracta del compost **50**, el qual es prepara per reacció

<sup>111</sup> A. Guram; R. A. Rennels; L. Stephen; S. L. Buchwald. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1348-1350.

<sup>112</sup> J. Louie, J. F. Hartwig. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3609-3612.

<sup>113</sup> J. F. Hartwig; S. Richards; D. Barañano; F. Paul. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3626-3633.

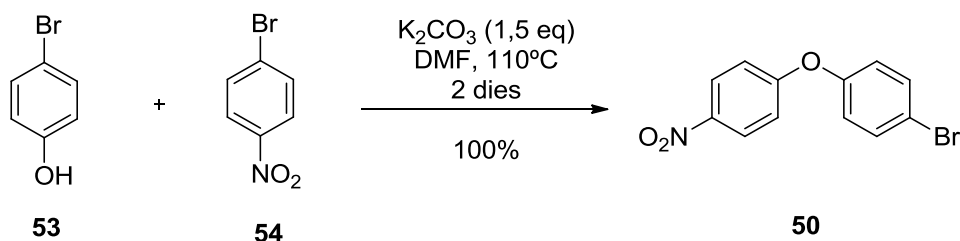
<sup>114</sup> M. S. Driver; J. F. Hartwig. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7217-7218.

<sup>115</sup> B. C. Hamann; J. F. Hartwig. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7369-7370.

<sup>116</sup> M. Kawatsura; J. F. Hartwig. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1473-1478.

<sup>117</sup> L. Navarro; M. D. Pujol. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 1812-1815.

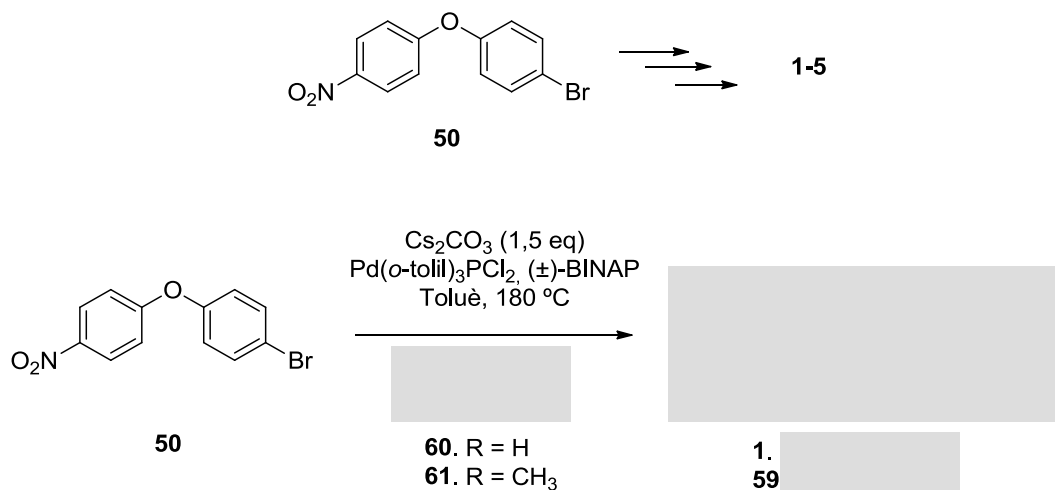
entre l'1-bromo-4-nitrobenzè (**54**) i el 4-bromofenol (**53**) en presència de carbonat de potassi. Emprant condicions de substitució nucleòfila aromàtica s'obté el producte esperat amb un 100% de rendiment (Esquema 6).



Esquema 6

### 3.1.2. Preparació de derivats 1-5

En primer lloc es duu a terme l'aminació del compost **50** tant amb la **(60)** com amb **(61)** en condicions de *cross-coupling*, emprant com a catalitzador un complex de pal·ladi, ( $\pm$ )-BINAP com a lligand i carbonat de cesi com a base (Esquema 7). S'obtenen els productes **1** i **59** amb rendiments globals del 47% i del 30% respectivament, després de la purificació corresponent i dues etapes de síntesi partint dels productes comercials **54** i **53** en ambdós casos.



Esquema 7

#### 3.1.2.1. Preparació d'urees

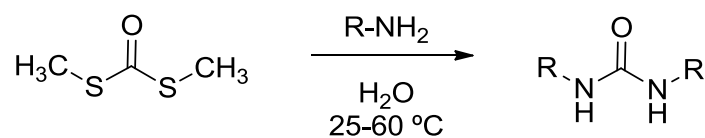
##### Antecedents bibliogràfics

Les urees formen part de multitud d'estructures orgàniques amb potencial activitat terapèutica. Es coneixen diferents mètodes de síntesi, algun dels quals s'indiquen a continuació.

##### A. Urees simètriques<sup>118</sup>

S'obtenen per reacció entre el *S,S*-dimetilditiocarbonat i una amina o anilina, mitjançant una addició al grup carbonil i eliminació de metà tiol (Esquema 8).

<sup>118</sup> E. Artuso; I. Degani; R. Fochi; C. Magistris. *Synthesis* **2007**, 3497-3506.

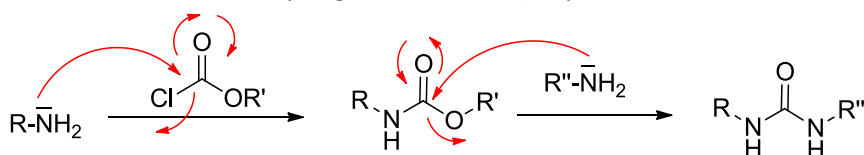


Esquema 8

## B. Urees no simètriques

### B.1. Amb cloroformiats<sup>119</sup>

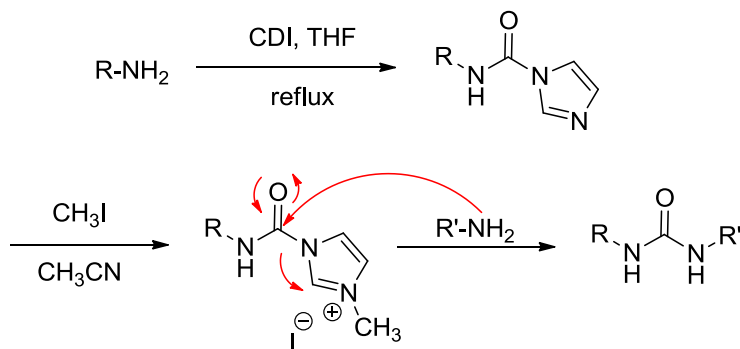
S'obtenen per reacció entre un cloroformat i una amina o anilina, mitjançant una addició al grup carbonil i eliminació de clorur, seguida d'una reacció amb una segona amina que s'addiciona de nou al carbonil per generar la urea (Esquema 9).



Esquema 9

### B.2. Amb sals de carbonildiimidazole<sup>120,121</sup>

L'addició d'una amina o anilina al carbonildiimidazole (CDI) condueix al corresponent *N*-(aminocarbonil)imidazole que, posteriorment i per tractament amb iodur de metil, es converteix en iodur de carbonilimidazoli. La sal intermèdia pot ser tractada amb una altra amina per conduir a la corresponent urea (Esquema 10).



Esquema 10

### B.3. Amb isocianats<sup>122,123</sup>

Els isocianats són derivats de l'àcid isociànic (HNCO). És d'interès recordar que la transformació del isocianat d'amoni en la urea que va dur a terme *Wöhler*, al 1824, va constituir la primera síntesi d'un compost orgànic a partir d'un precursor inorgànic.

<sup>119</sup> C. Han; J. A. Porco. *Org. Lett.* **2007**, 9, 1517-1520.

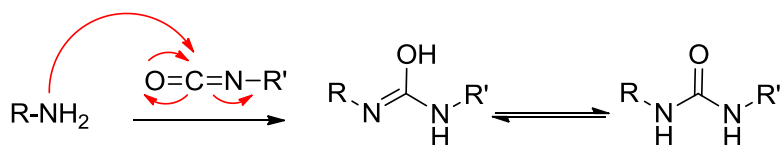
<sup>120</sup> J. A. Grzyb; R. A. Batey. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 5279-5282.

<sup>121</sup> M. N. Bertrand; J. P. Wolfe. *Tetrahedron* **2005**, 61, 6447-6459.

<sup>122</sup> D. P. N. Satchel; R. S. Satchel. *Chem. Soc. Rev.* **1975**, 4, 231-250.

<sup>123</sup> E. A. Castro; R. B. Moodle; P. J. Sansom. *Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* **1985**, 737-742.

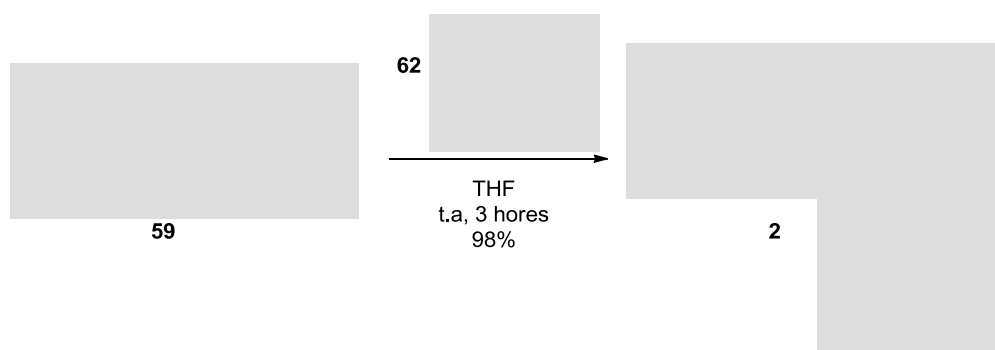




Esquema 11

L'addició d'amines o anilines a isocianats condueix a urees (Esquema 11). Aquest constitueix el millor mètode, ja que permet la síntesi d'urees en una sola etapa, en períodes curts de temps i amb agitació a temperatura ambient. Per a dur a terme la reacció s'empren diferents dissolvents com DMSO,<sup>124</sup> èter etílic<sup>122,123</sup> o THF.<sup>122,123</sup>

La urea **2** s'obté de l'addició del compost **59** a **62**, mantenint la reacció en agitació, a temperatura ambient en el si de THF durant 3 hores (Esquema 12). D'acord amb el procediment emprat s'obté la urea **2** amb un rendiment global del 29% després de tres etapes sintètiques partint dels productes comercials **53** i **54** (Esquema 6).

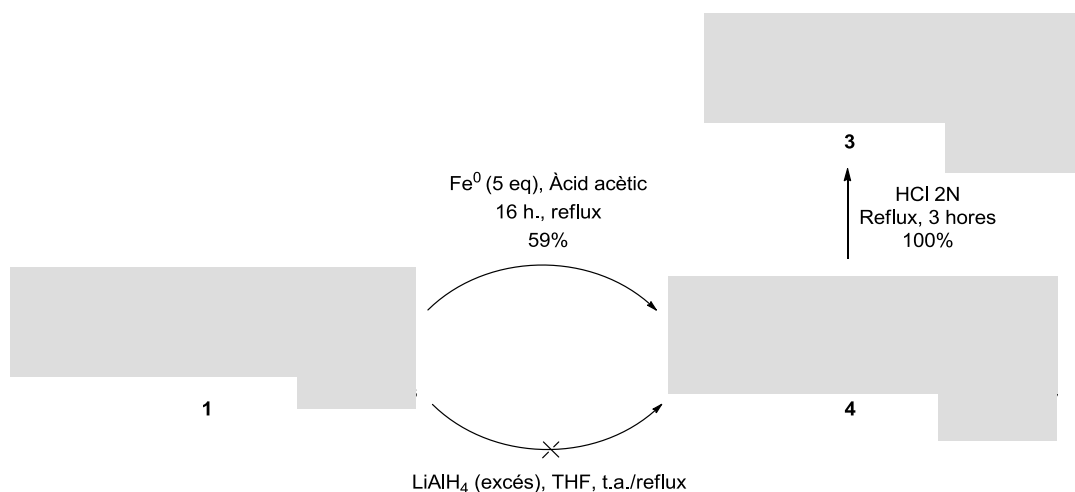


Esquema 12

Paral·lelament es repeteixen les condicions de reacció amb la urea **2** i **62** però en aquests cas no s'obté la urea esperada sinó que es recupera el producte de partida.

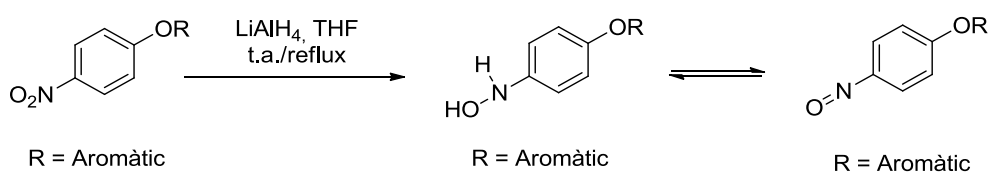
Per a la reducció del nitroderivat **1** a la corresponent anilina **3** s'assagen dos mètodes diferents: en el primer s'utilitza ferro metall (Fe) com a reductor, en el si d'àcid acètic, i en el segon cas s'usa LiAlH<sub>4</sub> en el si de THF tant a temperatura ambient com a reflux (Esquema 13).

<sup>124</sup> Y. Zhang; M. Anderson; J. L. Weisman; M. Lu; C. J. Choy; V. A. Boyd; J. Price; M. Sigal; J. Clark; M. Connelly; F. Zhu; W. A. Guiguemde; C. Jeffries; L. Yang; A. Lemoff; A. P. Liou; T. R. Webb; J. L. DeRisi; R. K. Guy. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 460-465.



Esquema 13

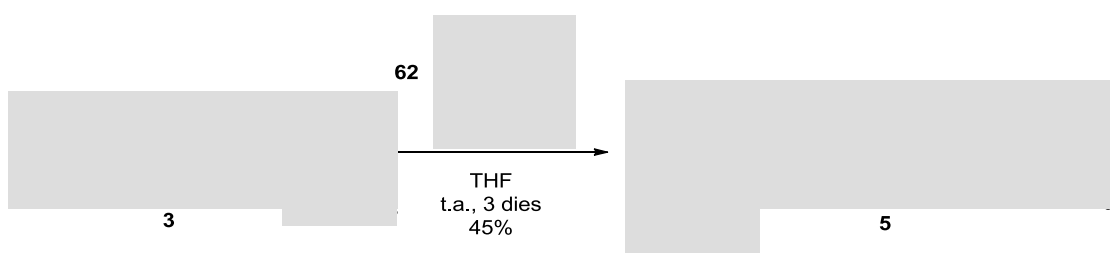
Mentre que el primer procediment permet aïllar el producte esperat, el segon no condueix a la seva obtenció, sinó que s'observa la formació d'un intermediari de reacció on el grup nitro s'ha convertit en "NH-OH", pas intermedi per a la formació del  $\text{NH}_2$  (Esquema 14). Tot i mantenir-se a reflux durant varis dies i afegint més equivalents d'agent reductor no s'observa, en cap moment, la formació del producte final esperat.



Esquema 14

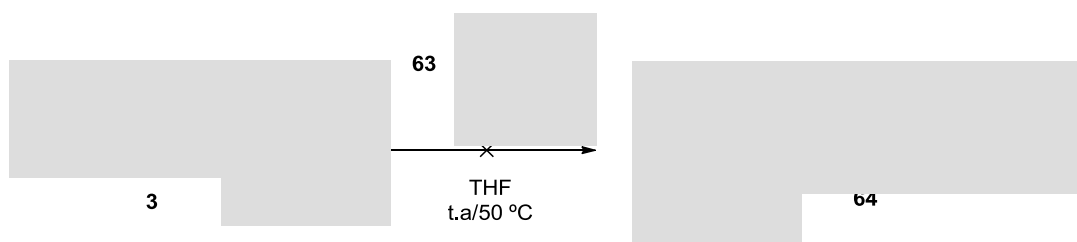
Cal indicar que la reducció amb  $\text{Fe}^0$  en el si d'àcid acètic genera, en alguns casos, el producte *N*-acetilat (**4**) amb un 59% de rendiment, que necessita una etapa d'hidròlisis posterior que permeti recuperar l'anilina lliure amb un rendiment del 100% (Esquema 15). Finalment s'obté l'anilina **3** amb un 28% de rendiment global després de quatre etapes sintètiques, a partir del bromofenol **53** i el bromonitrobenzè **54** (Esquema 6).

A continuació, es procedeix a la formació de la urea **5** amb un 45% de rendiment tractant l'arilèter **3**, en el si de THF, amb **62** a temperatura ambient durant tres dies (Esquema 15). El rendiment global d'obtenció de la urea **5** és del 14% després de cinc etapes sintètiques.



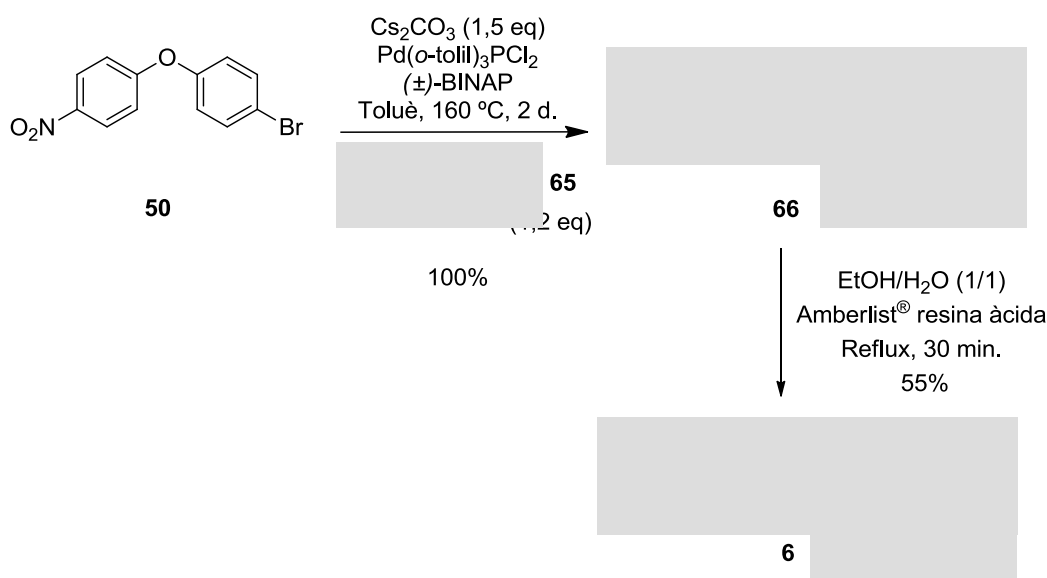
Esquema 15

El procediment es repeteix amb [redacted] (**63**) però no s'observa la formació de l'isocianat esperat **64**, sinó que es recupera el producte de partida (**3**) inalterat (Esquema 16).



### 3.1.3. Preparació de derivats 6-9

A partir del compost intermediari **50** es preparen els derivats **6-9**, que contenen un nucli de [redacted] en contraposició al derivats anteriors que contenen [redacted]. A més a més, el derivat **8** constitueix un isòster del compost **2** on el grup urea d'aquest és substituït per un grup carbamat.




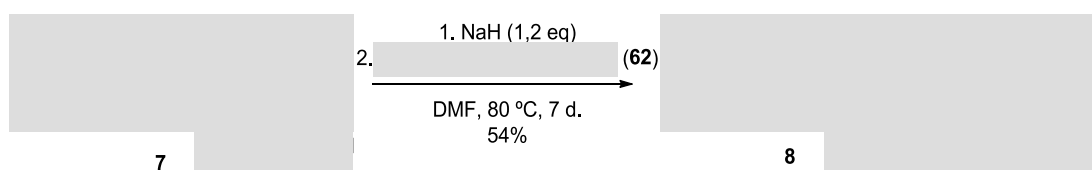
S'aconsegueix amb èxit l'aminació del diarilèter **50** amb la piperidina **65** en condicions de *cross-coupling* amb catàlisi de pal·ladi, utilitzant (±)-BINAP com a lligand i carbonat de cesi com a base (Esquema 17). Degut a l'elevada inestabilitat del compost **66** obtingut es procedeix a la seva hidròlisi sense purificació prèvia utilitzant la resina àcida Amberlist® en el si d'aigua i etanol 1/1, per tal d'obtenir la [redacted] **6** amb un 55% de rendiment global després de tres etapes sintètiques, que comprenen reacció d'acoblament entre **53** i **54**, aminació de l'arilèter **50** i hidròlisi de l'acetal **66**.

A continuació, es procedeix a la reducció quimiosselectiva de la funció cetona del compost **6** emprant borohidruir sòdic en el sí de metanol, per tal d'obtenir el [redacted] **7** amb un 57% de rendiment (Esquema 18). El rendiment global d'obtenció de **7** després de 4 etapes sintètiques és del 31%.



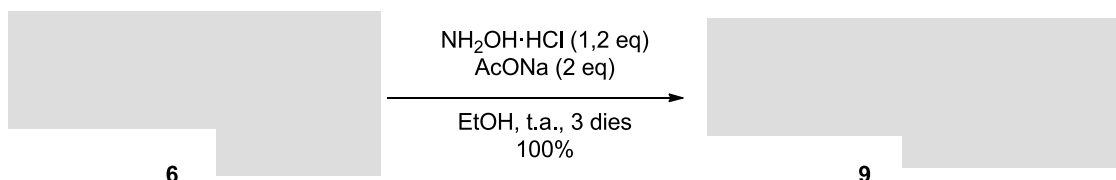
Esquema 18

El carbamat **8** s'obté per tractament de l'alcohol **7** amb el  isocianat (**62**) en el sí de DMF i emprant NaH com a base (Esquema 19), reacció que transcorre amb un 54% de rendiment, permetent l'obtenció del producte final esperat amb un rendiment global del 17% després de cinc etapes sintètiques.



Esquema 19

El compost **8** presenta una funció carbamat, considerada bioisòstera no clàssica de la funció urea. Paral·lelament es prepara l'oxima **9** amb un rendiment global del 55% per tractament de la cetona **6** amb hidroxilamina clorhidrat i acetat sòdic, en el sí d'etanol, durant tres dies a temperatura ambient, reacció que transcorre amb un 100% de rendiment (Esquema 20).<sup>125</sup> Així s'obté **9** amb un rendiment global del 55% a partir del bromofenol **53** i el bromonitrobenzè **54**.

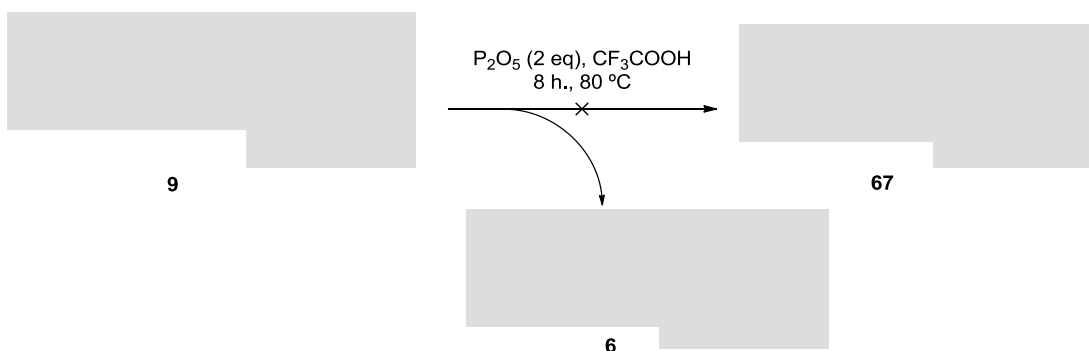


Esquema 20

### Intents de transposició de Beckmann

Per a la preparació de la lactama **67** es planteja la ruta sintètica que es mostra en l'Esquema 21 tractant l'oxima **9** amb pentòxid de fòsfor en el sí d'àcid trifluoroacètic, però no s'obté el producte final esperat, sinó que es recupera la cetona **6**, fet que implica la hidròlisi de la funció oxima en el medi àcid.

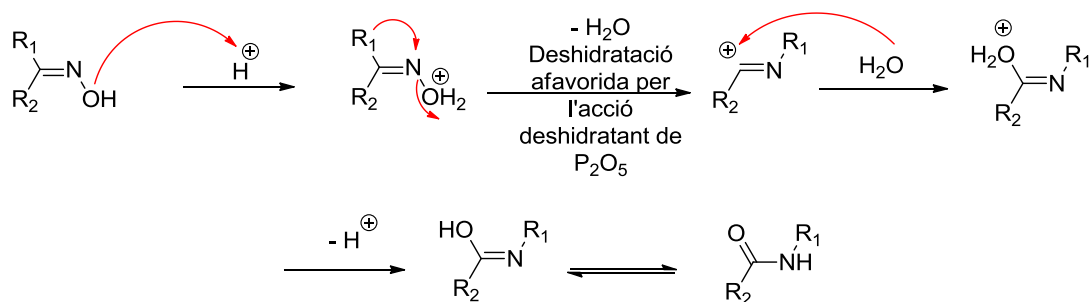
<sup>125</sup> J. W. Haas; R. E. Kadunce. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 4910-4913.



Esquema 21

La hidròlisi de ceto-oximes a les corresponents cetones s'ha descrit en medi àcid, en presència de formaldehid i també sota les condicions de transposició de *Beckman* per diferents autors.<sup>126-128</sup>

Les oximes de cicloalquilcetones, en el medi àcid de reacció, experimenten una transposició de *Beckmann* i es transformen en una mescla de lactames amb expansió de cycle. Inicialment el medi àcid de la reacció protona el grup hidroxil convertint-lo en un bon grup sortint. A continuació, es produeix una migració del grup alquil amb sortida d'aigua, generalment en *anti* del grup hidroxil, procés afavorit per la presència de  $\text{P}_2\text{O}_5$ . En aquest procés es genera el carbocatió intermedi, que es atacat per una molècula d'aigua que actua com a nucleòfil. Després de la pèrdua d'un protó, s'obté l'amida final per tautomerisme (Esquema 22).<sup>129,130</sup>



Esquema 22

Per tal de comprovar si el problema en la reacció anterior es deu al mètode utilitzat o bé a la reactivitat del producte de partida, es duu a terme tant la formació de l'oxima II com la transposició de *Beckmann* d'aquesta per tal d'obtenir la lactama III, partint de l'*N*-benzil-4-piperidona (I) (Esquema 23).

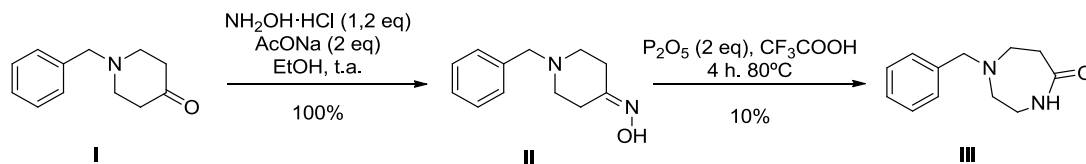
<sup>126</sup> S. Chandrasekhar; K. Gopalaiah. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 2455-2457.

<sup>127</sup> A. Corsaro; U. Chiacchio; V. Pistarà. *Synthesis* **2001**, 13, 1903-1931.

<sup>128</sup> S. Chandrasekhar; K. Gopalaiah. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 4023-4024.

<sup>129</sup> J. March. *Advanced Organic Chemistry*. **1986**, ISBN 047185472-7.

<sup>130</sup> A. Cesana; S. Palmery; R. Buzzoni; G. Spano; F. Rivetti; C. Lino. *Catal.* **2010**, 154, 264-270.

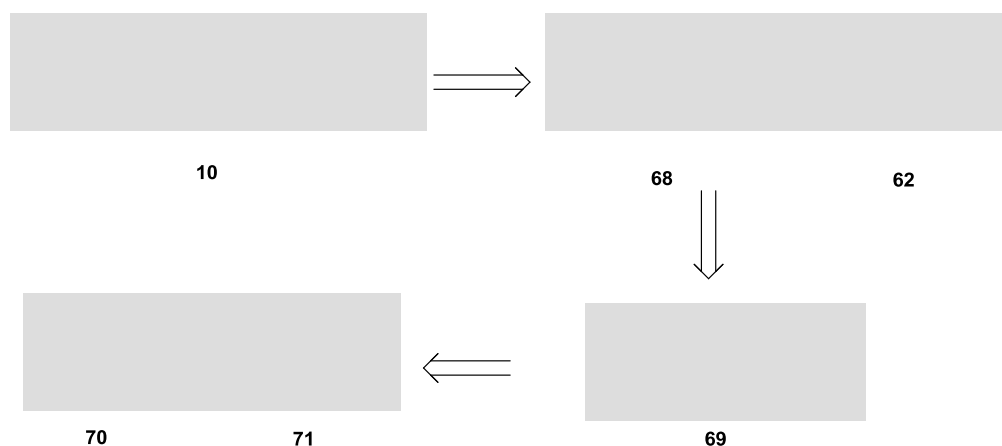


Esquema 23

Emprant les mateixes condicions utilitzades en el cas del compost **9** s'obté l'oxima **II** amb un 100% de rendiment. Posteriorment, les mateixes condicions que en el cas de **67**, sí que permeten obtenir la lactona **III** esperada tot i que en baixos rendiments. Això ens fa pensar que possiblement la funció d'arilèter i/o el grup nitro poden interferir en el mecanisme de la reacció disminuint la reactivitat del producte de partida en aquestes condicions. D'altra banda el rendiment és també baix en aquest cas, degut a la hidròlisi de l'oxima que condueix a la cetona de partida com en el cas anterior.

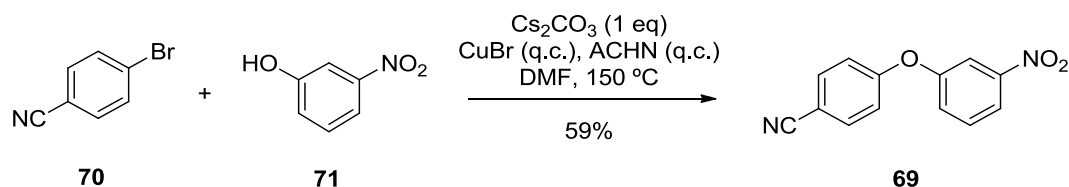
### 3.1.4. Preparació de 10

Per tal de preparar anàlegs dels compostos anteriors que continguin la funció de diarilèter i urea però en posició *meta* respectivament, enlloc de *para*, es planteja la següent anàlisi retrosintètica (Esquema 24).



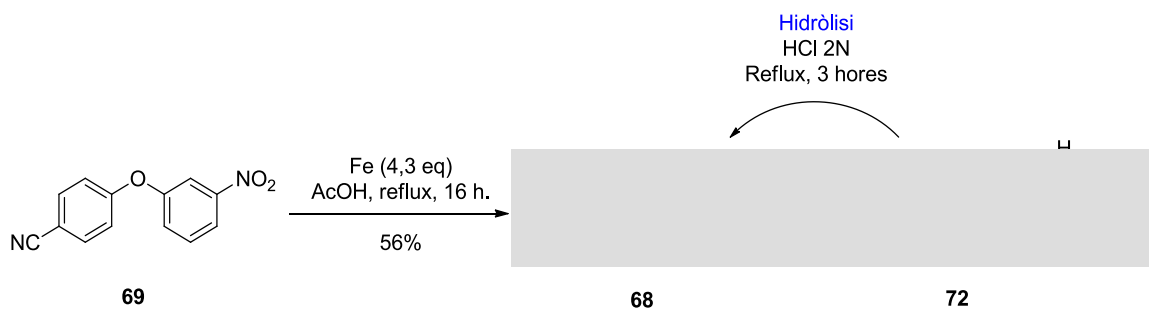
Esquema 24

Per a la preparació del nitro-derivat **69** s'utilitzen les condicions descrites anteriorment per a la preparació del diarilèter **49** però en condicions de calefacció clàssiques enlloc de microones, tal i com es mostra en l'Esquema, que condueixen al diarilèter **69** amb un rendiment del 59%.



Esquema 25

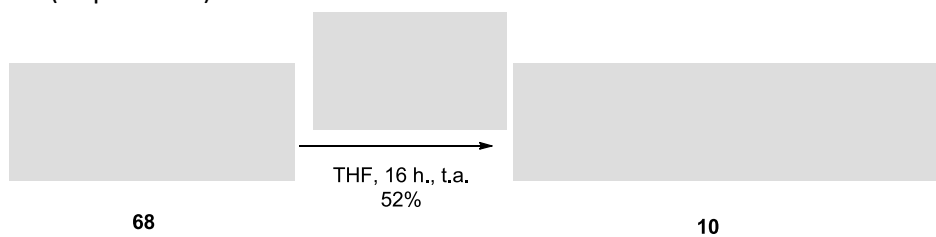
A continuació, el nitro-derivat **69** es sotmet a la reducció quimiosselectiva amb ferro ( $\text{Fe}^0$ ) en presència d'àcid acètic, dut a terme segons s'indica a l'esquema següent (Esquema 26).



Esquema 26

En la formació de l'anilina **68** s'observa també la formació del derivat *N*-acilat **72**, degut segurament a l'àcid acètic emprat com a dissolvent de la reacció. No obstant, l'acetanilida **72** es converteix en el derivat **68** per hidròlisi en medi àcid a reflux tal i com s'ha descrit per a la formació de l'anilina **3** (Esquema 13).

Finalment, un cop obtingut l'arilèter **68**, es fa reaccionar, en el si de THF, amb l'isocianat **62** aplicant les mateixes condicions de formació d'urees descrites anteriorment i obtenint la urea **10** amb un 52% de rendiment (Esquema 27).

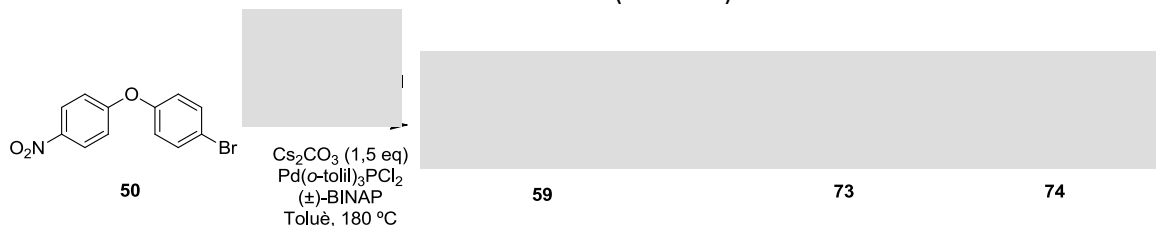


Esquema 27

Així s'obté la urea **10** en tres etapes sintètiques i amb un rendiment global del 17% partint dels productes comercials 4-bromobenzonitril (**70**) i 3-nitrofenol (**71**).

### 3.1.5. Preparació de les urees **11** i **12**

El tractament de l'arilèter **50** amb un excés de [Redacted] (**60**) per a la preparació del compost **59**, en condicions d'acoblament i en presència d'un derivat de pal·ladi, ( $\pm$ )-BINAP i carbonat de cesi, en el si de toluè, a  $180\text{ }^\circ\text{C} \pm 10\text{ }^\circ\text{C}$  permet l'obtenció de diferents subproductes a part del producte esperat. En alguns casos, enlloc d'obtenir el producte esperat **59** s'obté el producte de substitució del grup fenoxil per la [Redacted] (**73**), en lloc de reaccionar el brom com a grup sortint. S'obté també el producte derivat de la reducció del grup nitro del producte de partida a anilina (**74**) (Esquema 28). Per tal de fer un estudi de la reactivitat i la cinètica de la reacció és realitzen diverses proves canviant les condicions de reacció tal i com s'indica a continuació (Taula 10):



Esquema 28

Taula 10: Condicions assajades per a la formació de **59**

Temperatura (°C)	Temps de reacció	Rendiment (%) <b>59</b>	Rendiment (%) <b>73</b>	Rendiment (%) <b>74</b>
130-140	3 dies	40	60	Traces
170	3 dies	16	30	20
160	16 hores	30	58	Traces
190	16 hores	0	traces	88

L'elevada temperatura disminueix l'obtenció del producte **59**, independentment del temps de reacció. D'altra banda, l'augment del temps de reacció de 16 hores a tres dies no implica una disminució considerable del rendiment si aquest va acompanyat d'un descens en la temperatura. La formació del producte de reducció **74** es veu afavorit amb l'augment de temperatura, essent majoritari quan aquesta augmenta fins a 190 °C. El producte **73** es forma de manera majoritària en pràcticament totes les condicions de reacció. Els desplaçaments de **73** en l'espectre d'RMN de protó es mostren a la Figura 45. A més a més, s'observen complexos dels catalitzadors amb la [redacted], fet que en determinats casos disminueix considerablement el rendiment de la reacció. Cal destacar també que els compostos **59** i **73** tenen un  $R_f$  molt semblant, i això complica la seva purificació i l'estudi correcte dels rendiments de formació en diferents condicions de reacció.

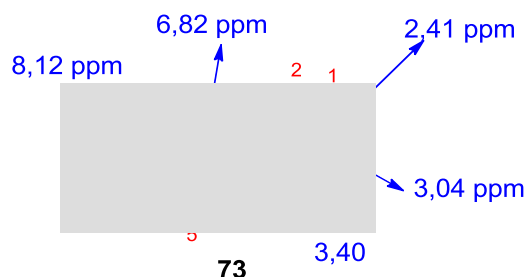
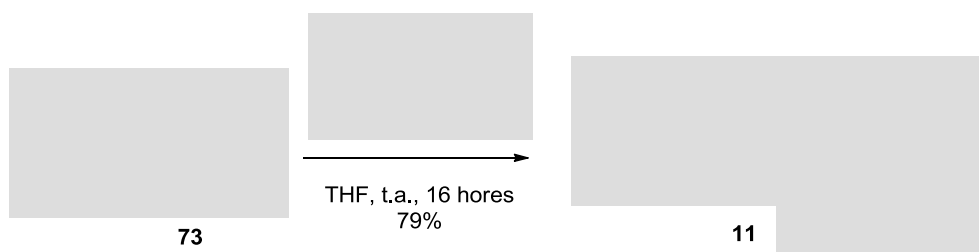


Figura 45: Desplaçament en ppm de l'espectre d'RMN de protó del compost **73**

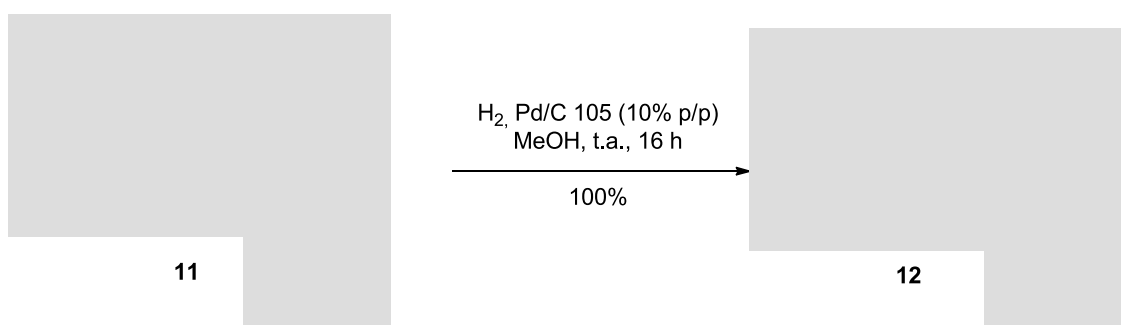
El tractament del subproducte **73** amb l'isocianat **63** usant el mateix procediment descrit prèviament per a l'obtenció de la urea **2** condueix a la urea **11** amb un 79% de rendiment, mentre que el rendiment global de les tres etapes partint dels productes comercials **53** i **54** és del 24% (Esquema 29).



Esquema 29

Per tal de preparar un derivat del producte **11** es procedeix a la reducció del grup nitro a l'anilina corresponent mitjançant hidrogenació catalítica en presència de Pd-C a pressió atmosfèrica i a temperatura ambient obtenint 3 mg del producte **12** amb un 100% de rendiment (Esquema 30).



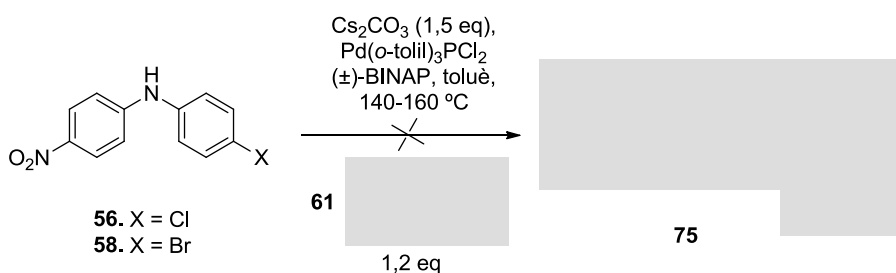


Esquema 30

A continuació, el producte **12** es fa reaccionar amb l'etil isocianat en el sí de THF a temperatura ambient durant quatre dies però no s'obté el producte esperat. Degut a la poca quantitat de producte de partida i a l'elevada insolubilitat d'aquest no es pot identificar bé i s'abandona aquesta ruta.

### 3.1.6. Assajos amb diarilamines

Per tal d'obtenir l'arilanilina **75**, isòstera d'**1** per canvi de l'oxigen a nitrogen, s'apliquen les condicions de *cross-coupling* utilitzades per a l'obtenció d'**1** partint de **56** i **58**, però en aquest cas no s'obté el producte esperat i es recuperen els productes de partida (Esquema 31).

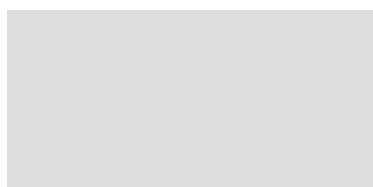


Esquema 31

La presència de protons units a heteroàtoms (-NH, -OH, -SH) en els reactius condueix a complexos amb els catalitzadors emprats i no es pot dur a terme la reacció d'acoblament.<sup>131</sup>

## 3.2. Preparació de derivats de *resveratrol*

### 3.2.1. Preparació de derivats 13a-16

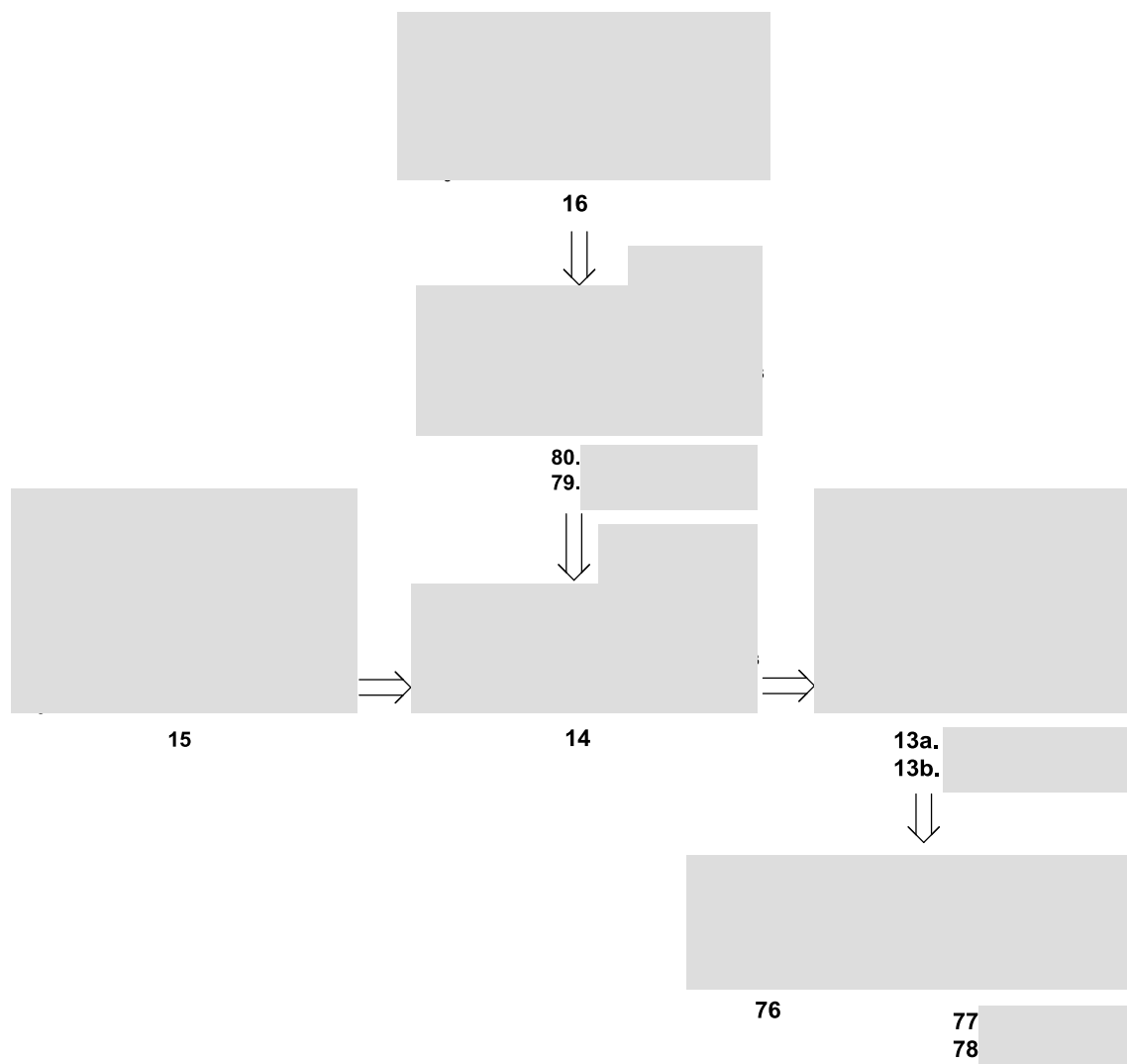


*Resveratrol*

Figura 46: Estructura química del *resveratrol*. En blau s'indiquen les principals modificacions realitzades en aquest apartat.

<sup>131</sup> Nick Bruno. Aldrich.com. www.SigmaAldrich.com.

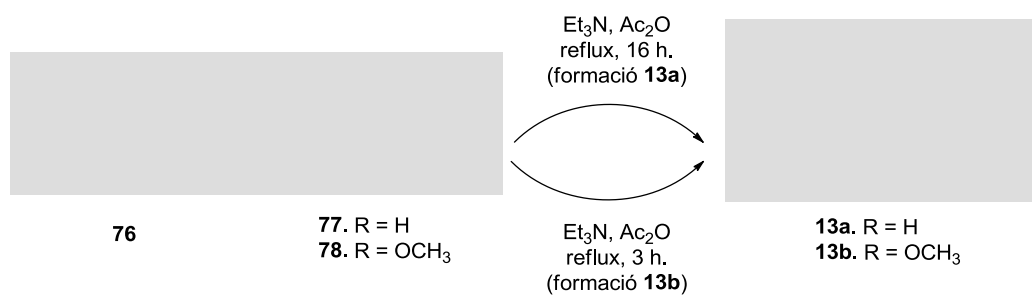
A continuació es preparen una sèrie de derivats cíclics del *resveratrol* (Figura 46), que contenen el nucli de cumarina segons l'esquema d'anàlisi retrosintètica següent (Esquema 32):



Esquema 32

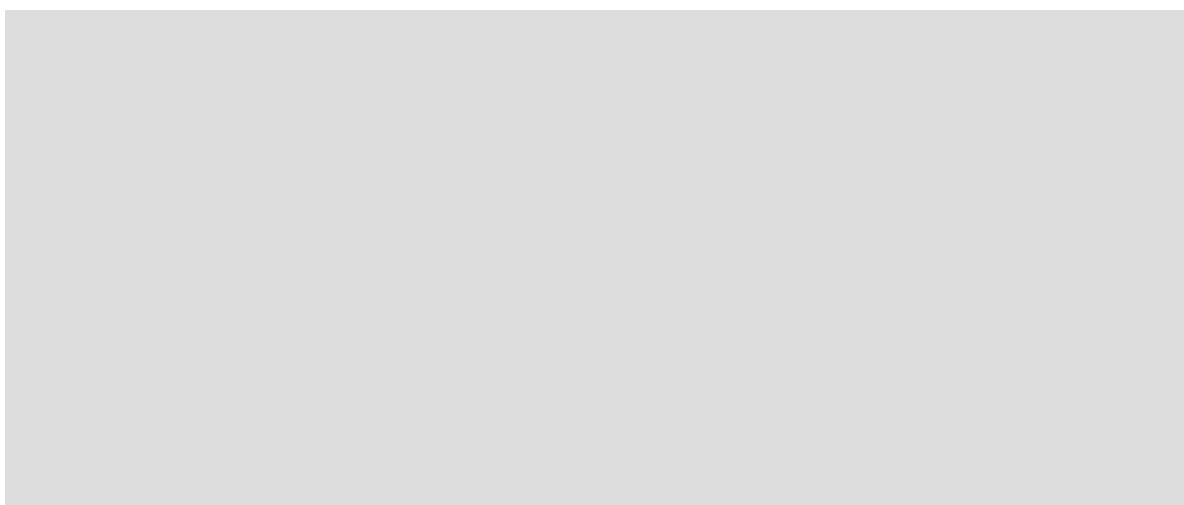
Les **13a** i **13b** s'obtenen per condensació de **76** amb els àcids carboxílics **77** i **78** respectivament, mitjançant condicions de tipus *Perkin*<sup>132</sup> amb trietilamina en el si d'anhidrid acètic (Esquema 33). La mescla es deixa reaccionar durant 16 hores i s'obté **13a** amb rendiments quantitius, mentre que el derivat **13b** s'obté després de 3 hores de reacció amb un 47% de rendiment. Aquest fet indica que el perllongament del temps de reacció fins a 16 hores implica un increment considerable de rendiment sense observar-se problemes de retrosíntesi o trencament de la lactona formada.

<sup>132</sup> J. R. Johnson. *Org. React.* **1994**, *1*, 210-265.



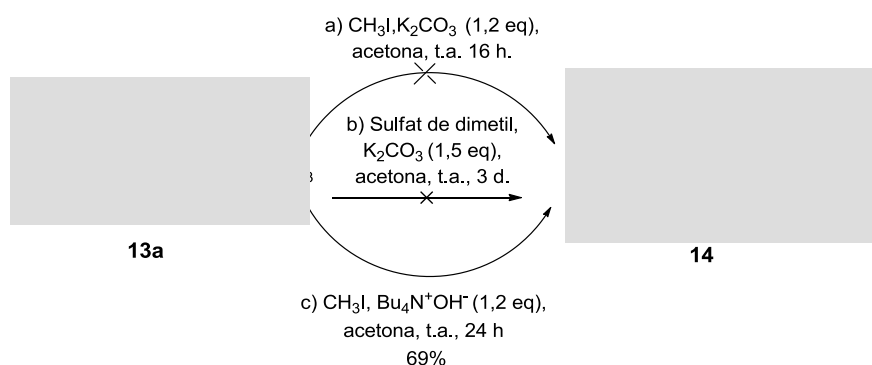
Esquema 33

A continuació, s'indica un possible mecanisme que explica la formació de **13a** i **13b** (Esquema 34).



Esquema 34

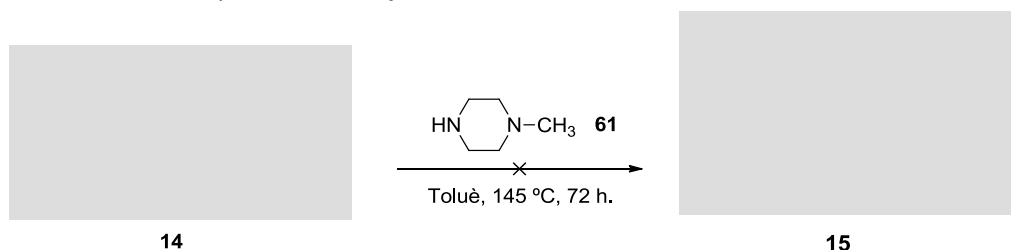
La **14** s'obté per metilació de la lactona **13**, que es va intentar per tres vies diferents: a) emprant iodur de metil i carbonat de potassi, b) amb sulfat de dimetil i carbonat de potassi, i c) amb iodur de metil i hidròxid de tetrabutil amoni com a base. Les condicions a) i b) no van permetre obtenir el producte esperat, i usen ambdues carbonat de potassi com a base. En el cas de c) s'usa iodur de metil com a agent alquilant però hidròxid de tetrabutilamoni com a base, en el si d'acetona, i a temperatura ambient durant 24 hores, permetent l'obtenció del producte metilat **14** (Esquema 35). El rendiment d'obtenció del producte **14** per alquilació de **13a** és del 69%.



Esquema 35

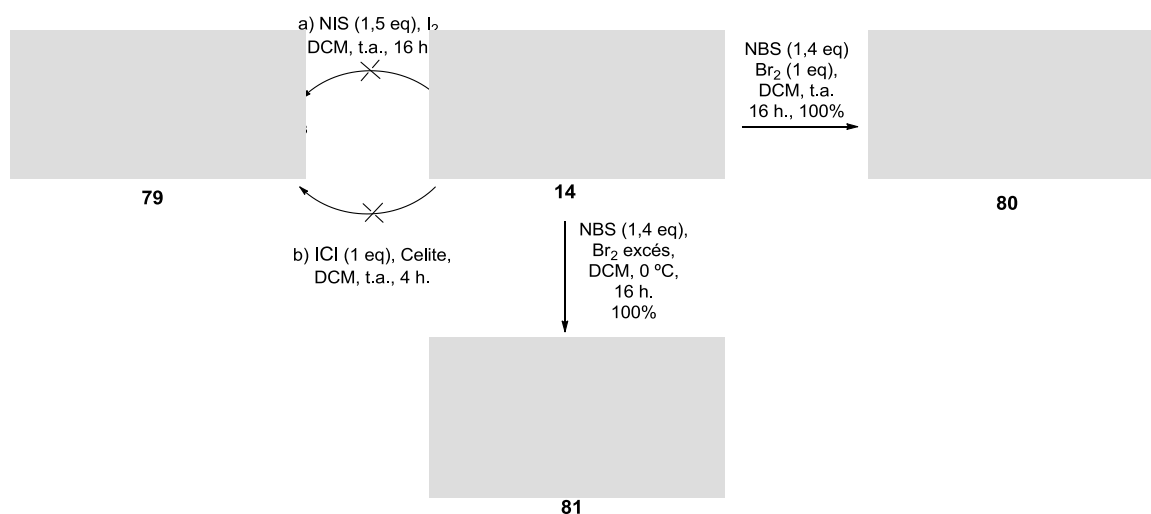
La funcionalització de la posició 4 de la **14** per tal de poder introduir grups que en permetin modular l'activitat i les propietats fisicoquímiques, es duu a terme per introducció directa de piperazina i també es va considerar l'halogenació d'aquesta posició.

Per tal de preparar el compost **15** es parteix de **14** i es fa reaccionar amb excés de metilpiperazina (**61**) en el si de toluè escalfant a 145 °C externs (Esquema 36). En aquestes condicions però no s'observa la formació del producte desitjat.



Esquema 36

A continuació, s'intenta la iodació de **14** per tal de funcionalitzar la posició 4, però cap de les dues alternatives assajades permet l'obtenció del producte esperat, recuperant-se en gran part el producte de partida inalterat. En primer lloc es va emprar iode molecular i NIS en el si de diclorometà anhidre a temperatura ambient durant 16 hores (a), i posteriorment es va assajar el monoclorur de iode en presència de Celite® en el mateix dissolvent i temperatura durant 4 hores (b) (Esquema 37).



Esquema 37

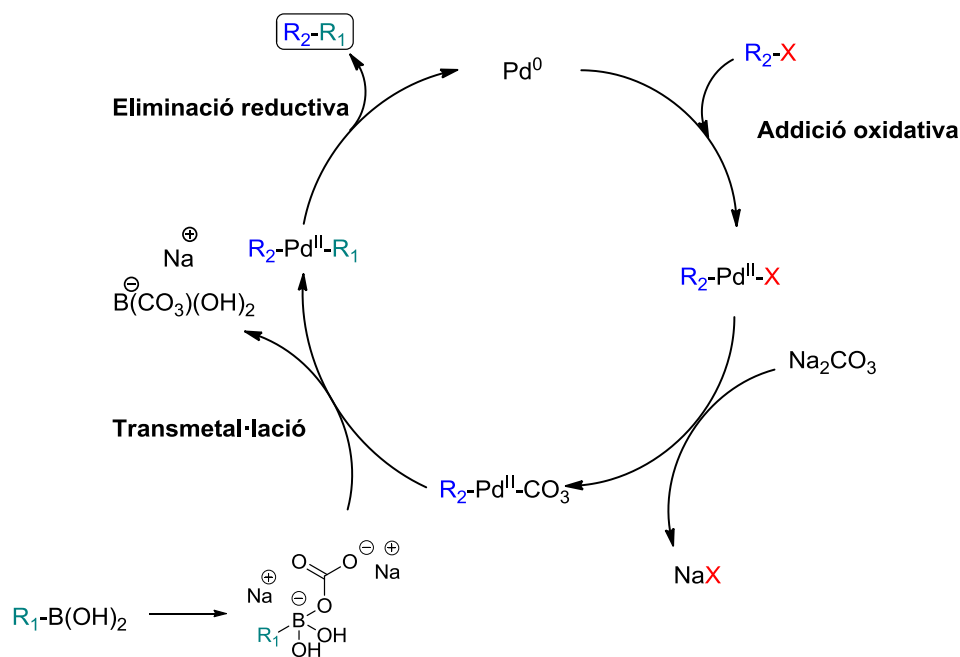
Els resultats obtinguts ens varen portar a considerar la bromació de la posició 4 de **14** amb brom molecular i NBS en el si de diclorometà a 0 °C durant 16 hores, que van conduir a l'obtenció del derivat bromat **80**, que no va purificar-se degut a l'elevada inestabilitat del producte. Paral·lelament, es repeteixen les condicions de reacció de bromació però amb un gran excés de brom, i s'obté el producte **81** de polibromació en les posicions més riques electrònicament, però no la posició 4.

La reacció d'acoblament de *Suzuki*, publicada el 1979, permet l'acoblament carboni-carboni entre un àcid borònic i un derivat halogenat de tipus aril o vinil segons el mecanisme que es mostra a continuació (Esquema 38).

Inicialment el pal·ladi (0) s'addiciona a l'halogen derivat passant a l'estat d'oxidació Pd(II). Seguidament la base desplaça l'halogen i forma l'intermediari corresponent, que pateix una

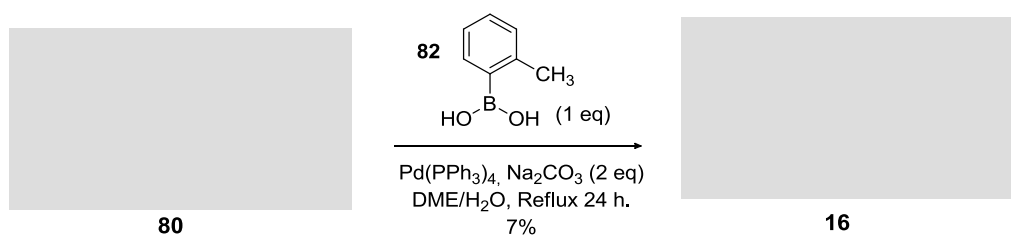
transmetal·lació de manera que el boronat desplaça a la base del complex amb el pal·ladi. Finalment, via eliminació reductiva es genera el producte esperat i el pal·ladi passa de nou a Pd(0) per tancar el cicle catalític.

En el cas d'acoblament de tipus *Suzuki* la base és important ja que activa l'àcid borònic formant el boronat corresponent, espècie més reactiva i nucleòfila, i facilita el procés de transmetal·lació. També permet la formació del complex de pal·ladi i finalment facilita l'eliminació reductiva per formar el producte final.<sup>133,134</sup>



Esquema 38

El tractament de **80** amb l'àcid 2-metilfenilborònic (**82**), carbonat de sodi com a base, pal·ladi de *tetrakis*(trifenilfosfina) (0) com a catalitzador, DME desgasat i aigua com a dissolvents i sota condicions de reflux a 140 °C durant 24 hores permet obtenir el derivat **16** amb un rendiment del 7% després de purificar-lo (Esquema 39). El baix rendiment és pot explicar per l'elevada inestabilitat del brom derivat i l'impediment estèric proporcionat pel substituent en *orto* de l'àcid borònic. El rendiment global d'obtenció de **82** és del 4,8%, essent l'última etapa d'acoblament la limitant.



Esquema 39

<sup>133</sup> C. S. Callam; T. L. Lowary. *J. Chem. Educ.* **2001**, 78, 947-949.

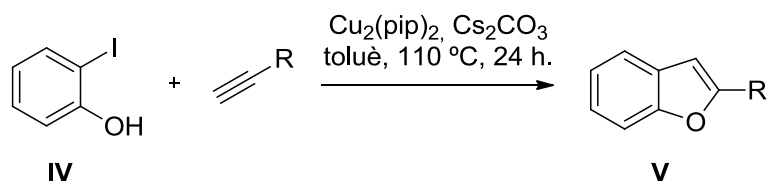
<sup>134</sup> C. Amatore; A. Jutand; G. Le Duc. *Chem. A. Eur. J.* **2011**, 17, 2492-2503.

### 3.2.2. Preparació de derivats 17-22

#### 3.2.2.1. Preparació de derivats cíclics 17-20

El nucli de benzofuran és comú entre els compostos bio-actius. Cal destacar derivats benzofurànics extrets de productes naturals amb activitat antimicrobiana,<sup>135</sup> analgèsica,<sup>136</sup> antilipidèmica<sup>137</sup> i citotòxica<sup>138</sup> entre d'altres. A més, quan aquest nucli presenta un fenil en la posició 2, conserva la subestructura de *trans*-estilbè.

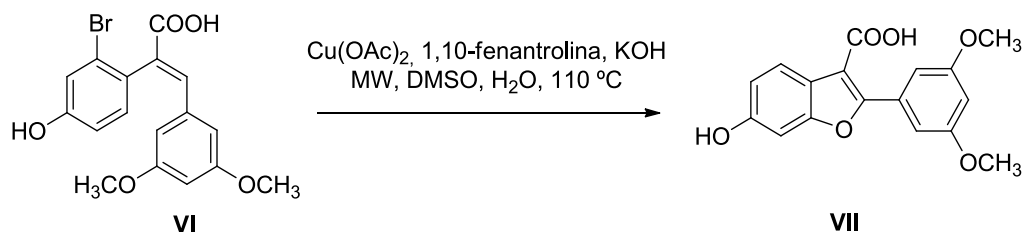
Es coneixen diferents metodologies per a la preparació de 2-arilbenzofurans. Les més emprades actualment es basen en reaccions d'acoblament entre halobenzens i fenilacetilens en presència de catalitzadors que contenen pal·ladi o coure (Esquema 40).<sup>139</sup>



Esquema 40

El mètode descrit per DD. Quin i col.<sup>139</sup> basat en la reacció d'acoblament de *Sonogashira*, permet obtenir 2-arilbenzofurans (V) en rendiments entre el 82% i el 92%, però l'inconvenient és que no permet la presència de grups -OH o -NH lliures com a substituents dels reactius emprats.

Recentment Xu i col.<sup>140</sup> han presentat la preparació de 2-arilbenzofurans (VII) a partir de *cis*-estilbens (Esquema 41).



Esquema 41

Aquesta reacció implica una hidroxilació seguida d'acoblament oxidatiu carboni-oxygen de l'estilbè VI. En aquest treball es proposa la preparació del **20** tal i com s'indica en la següent anàlisi retrosintètica (Esquema 42):

<sup>135</sup> R. Basawaray; Y. S. Agasimundin. *Indian J. Heterocycl. Chem.* **2002**, *12*, 1-4.

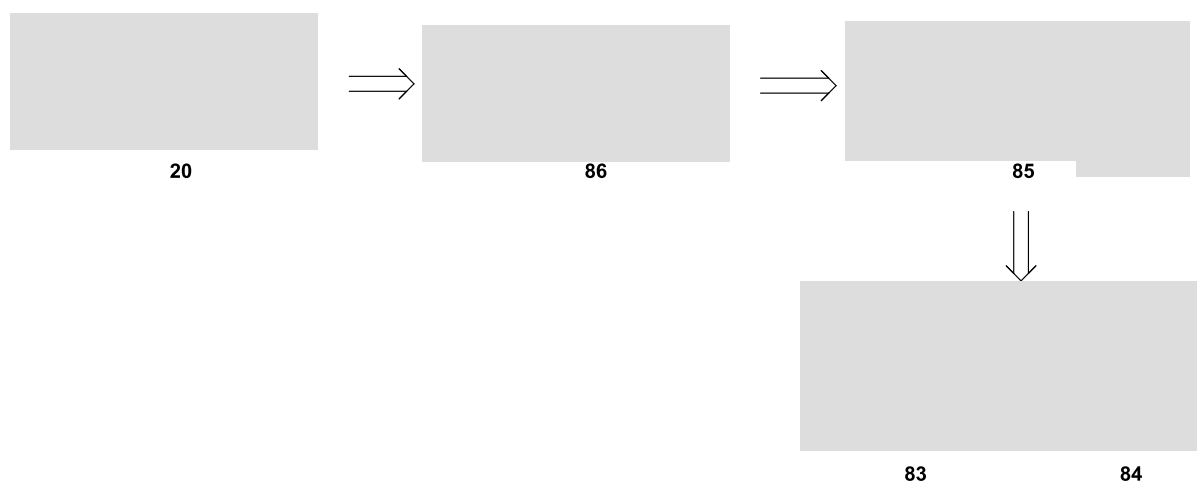
<sup>136</sup> D. B. A. Kumar; G. K. Prakash; B. P. Nandeshwappa; B. S. Sherigara; K. M. Mahadevan. *Indian J. Pharm. Sci.* **2006**, *68*, 809-814.

<sup>137</sup> D. T. Witiak; H. N. Newman; G. K. Poochikian; W. Lob; S. Shankarappa. *Lipids* **1976**, *11*, 384-391.

<sup>138</sup> W. J. Song; X. D. Yang; X. H. Zeng; X. L. Xu; G. L. Zheng; H. B. Zhang. *RSC. Adv.* **2012**, *2*, 4612-4615.

<sup>139</sup> D. D. Qin; W. Chen; X. Tang; W. Yu; A. A. Wu; Y. Liao; H. B. Chen. *Asian J. Org. Chem.* **2016**, *5*, 1345-1352.

<sup>140</sup> T. Xu; E. Zhang; D. Wang; Y. Wang; Y. Zou. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 4313-4324.



Esquema 42

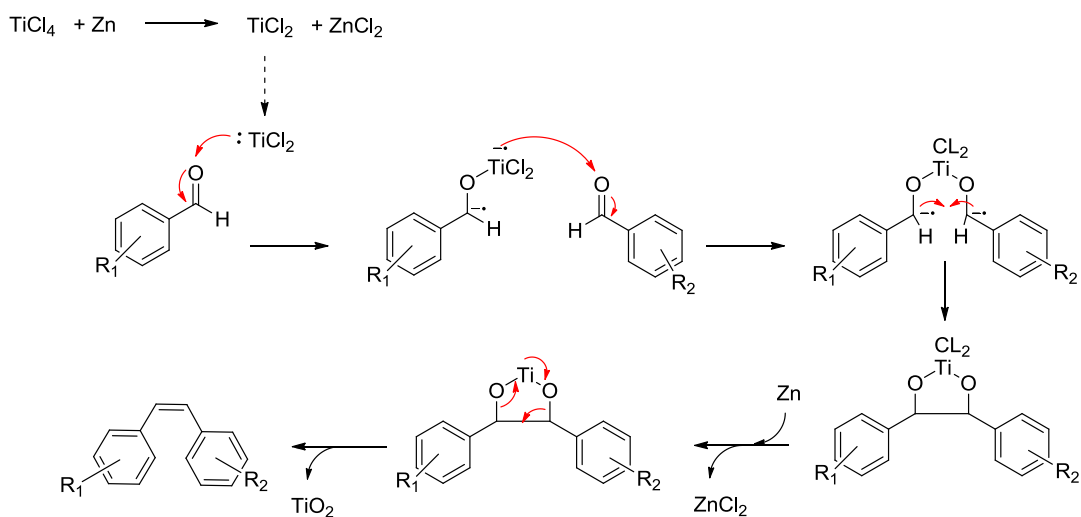
En el nostre cas, es va intentar la preparació de l'estilbè intermediari **85** a partir de la condensació dels benzaldehids **83** i **84** sota les condicions de *McMurry* i es va obtenir el *trans* estilbè esperat amb un 38% de rendiment (Esquema 43).



Esquema 43

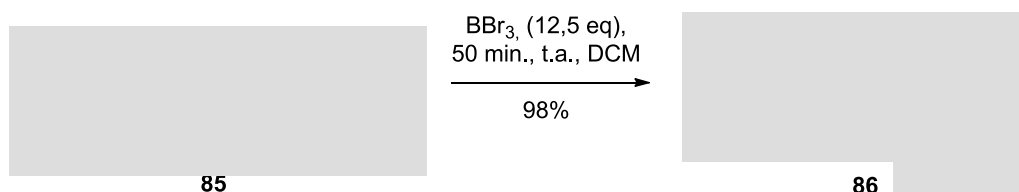
La reacció de *McMurry* implica un acoblament reductiu entre dos aldehyds o cetones aromàtiques generant un alquè. Aquesta transformació està promoguda per derivats de titani (III) ja que la reducció de titani (IV) a titani (III) es du a terme *in situ* per l'addició de reductors com el zinc (Esquema 44).<sup>141</sup>

<sup>141</sup> H. R. Diéguez; A. López; V. Domingo; J. F. Arteaga; J. A. Dobado; M. M. Herrador; J. F. Quilez del Moral; A. F. Barrero. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 254-259.



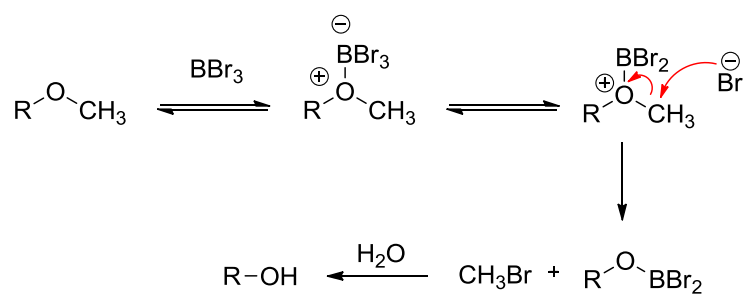
Esquema 44

A continuació, es procedeix a la desprotecció dels grups metoxils per tal de generar els fenols per tractament de **85** amb  $\text{BBr}_3$  a  $0\text{ }^\circ\text{C}$  durant trenta minuts per tal d'obtenir el compost **86** amb rendiments quantitius (Esquema 45).



Esquema 45

Un possible mecanisme per aquesta reacció s'indica en l'esquema següent (Esquema 46):<sup>142</sup>

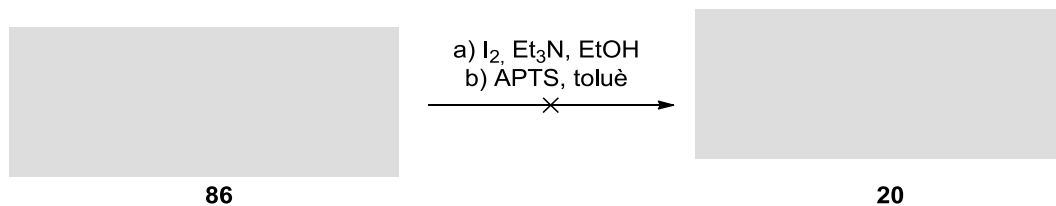


Esquema 46

Finalment es procedeix a la formació del **20** per ciclació intramolecular de **86** mitjançant dues metodologies: a) iodació i posterior ciclació amb trietilamina en el si d'etanol i b) àcid *para*-toluensulfònic en el si de toluè (Esquema 47).

<sup>142</sup> T. M. Kosak; H. A. Conrad; A. L. Korich; R. L. Lord. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 7460-7467.

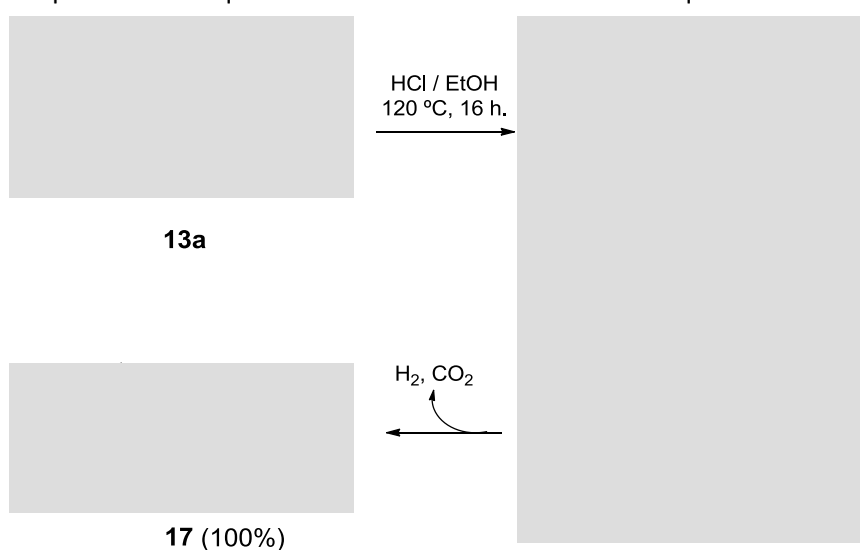




Esquema 47

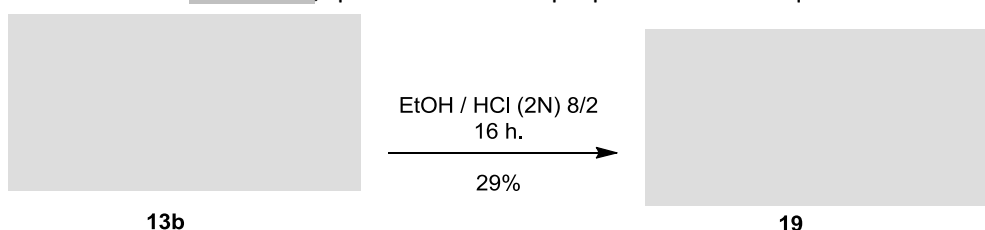
Cap de les dues permet l'obtenció de **20** sinó que té lloc un procés de degradació del producte **86**. Atès que la ruta esmentada anteriorment no permet l'obtenció del compost **20**, es planteja una alternativa sintètica a partir de **13a** tal i com es detalla a continuació.

La **13a** en medi àcid s'hidrolitza i posteriorment té lloc una ciclació intramolecular generant el **17** en rendiments pràcticament quantitius tal i com es mostra en l'Esquema 48.



Esquema 48

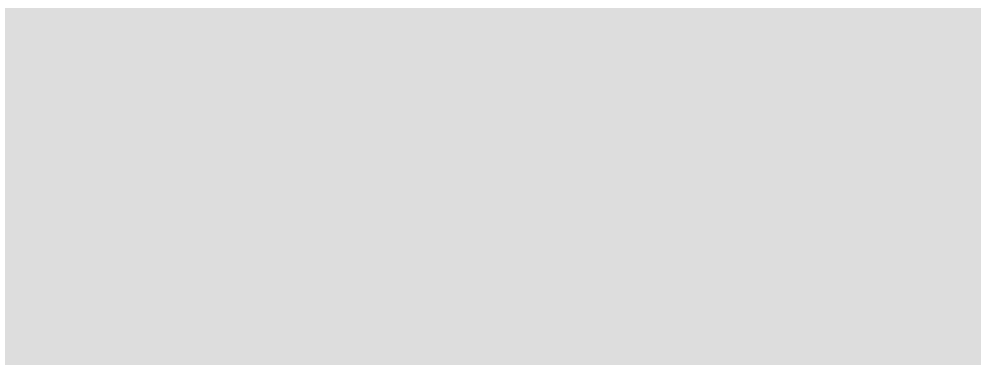
Paral·lelament es realitza el mateix procediment partint de la lactona **13b** per tal d'obtenir el compost **19**, tot i que aquest cop el rendiment disminueix fins al 29% (Esquema 49), probablement degut al substituent de **13b**, que influeix en les propietats electròniques del doble enllaç.



Esquema 49

Per tal d'obtenir els derivats **18** i **20** amb els fenols lliures es procedeix a la desprotecció dels metoxils dels compostos **17** i **19** respectivament per tractament amb  $\text{BBr}_3$  a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  amb rendiments d'entre el 41% i 57%. Es varen assajar diferents condicions de reacció utilitzant  $\text{BBr}_3$  en combinació amb  $\text{HBr}$  en el sí de diclorometà, així com també  $\text{HI}$  en el sí de THF, però cap d'aquestes va permetre l'obtenció

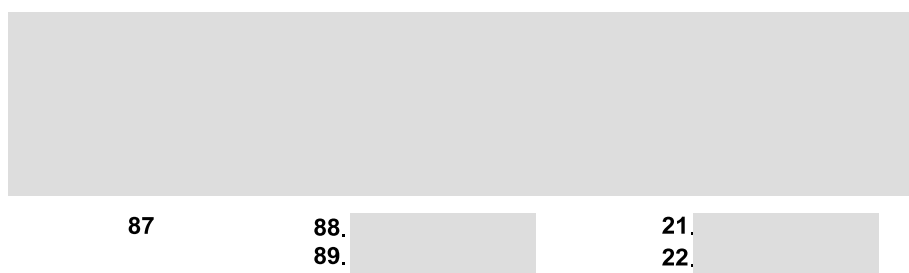
dels productes esperats (Esquema 50). El rendiment global d'obtenció del producte **18** és del 57%, mentre que el del compost **20** és del 8% després de tres etapes sintètiques en ambdós casos.



Esquema 50

### 3.2.2.2. Preparació de derivats cíclics **21** i **22**

Els anàlegs indòlics **21** i **22** que contenen substituents en ambdós anells aromàtics s'han preparat a partir de **87** i l'anilina corresponent en condicions de la reacció de *Bischler*. Aquesta síntesi implica l'alquilació de l'anilina, seguida d'una ciclació intramolecular. La reacció té lloc en el si d'*N,N*-dimetilaniolina a 165 °C (Esquema 51).



Esquema 51

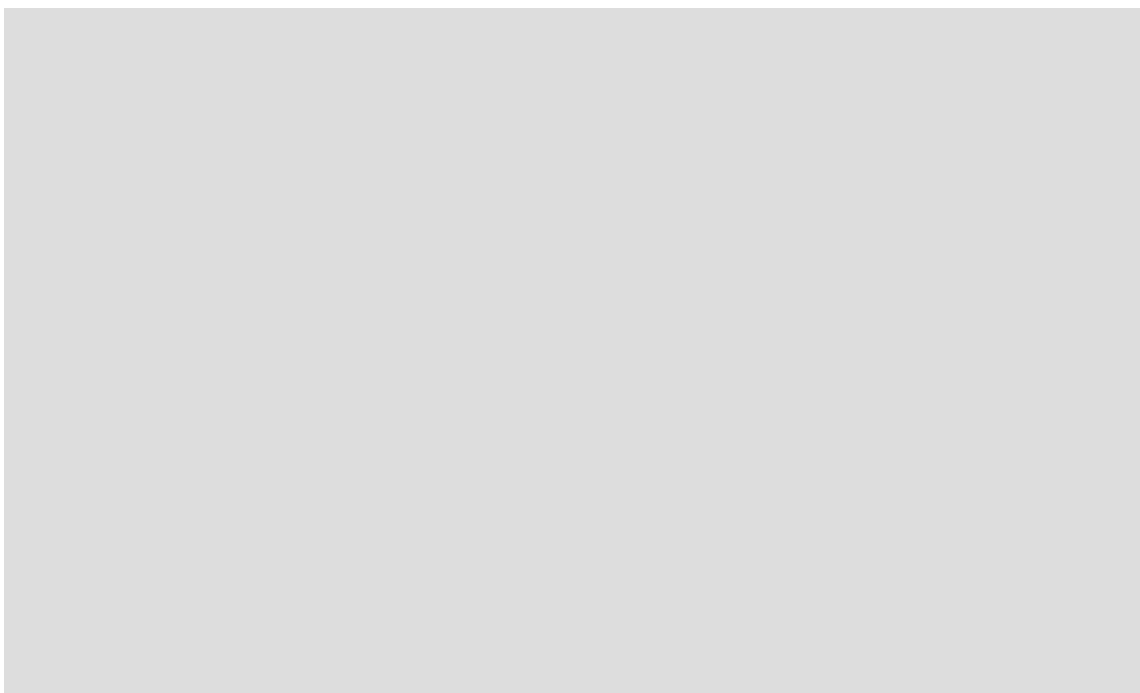
La condensació de **87** amb l'anilina **89** condueix a **22** esperat amb millors rendiments que amb l'anilina **21**.

El principal problema es troba en l'etapa de purificació, majoritàriament realitzada per cromatografia de columna, degut a la polaritat similar dels productes de partida i els productes finals obtinguts, fet que també en dificulta el control de la reacció.

Un possible mecanisme per aquesta reacció de tipus *Bischler* s'indica a continuació (Esquema 52).<sup>143,144</sup>

<sup>143</sup> Crowther, A. F.; Mann, F. G.; Purdie, D. *J. Chem. Soc.* **1943**, 4, 28-31.

<sup>144</sup> Y. Vara; E. Aldaba; A. Arrieta; J. L. Pizarro; M. I. Arriortua; F. P. Cossío. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 1763-1772.



Esquema 52

El procés comença per l'alquilació de l'anilina, seguida d'una condensació d'una altra anilina sobre la cetona, tautomerització i ciclació intramolecular per atac del nucli aromàtic sobre el carboni que sosté l'anilina protonada, a través d'una substitució electròfila aromàtica ( $S_EAr$ ) que condueix a l'alquilació de l'anell aromàtic.

### 3.2.3 Preparació de derivats no cíclics del *resveratrol*

#### 3.2.3.1 Preparació dels profàrmacs del *resveratrol* 23-31

Un dels objectius sintètics del treball és la preparació de diferents profàrmacs del *resveratrol* (Figura 47) per tal d'augmentar-ne la seva biodisponibilitat, en especial reduint la velocitat del seu metabolisme.

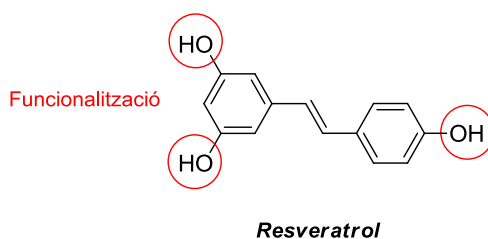
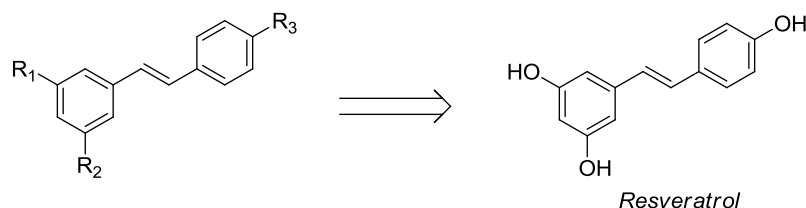


Figura 47: Estructura química del *resveratrol*. En vermell s'indiquen les principals modificacions realitzades en aquest apartat.

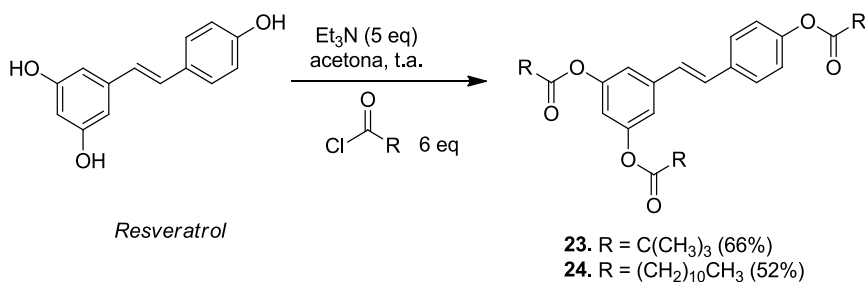
Aquests derivats són sintetitzats a partir del *resveratrol* generalment en una sola etapa sintètica mitjançant la modificació dels fenols tal i com es mostra en l'Esquema 53. En la majoria dels casos la modificació es realitza de forma no selectiva en els tres fenols, mentre que en els casos de **27** i **28** s'aïllen diferents isòmers derivats de la funcionalització selectiva d'aquests.



- |  |   |
|--|---|
| <b>23.</b> $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCOC}(\text{CH}_3)_3$                  | <b>29.</b> $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$               |
| <b>24.</b> $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCO}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$     | <b>30.</b> $R_1 = \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}; R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$ |
| <b>25.</b> $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_2\text{OCOC}(\text{CH}_3)_3$      | <b>31.</b> $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$                                   |
| <b>26.</b> $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCOCH}_2\text{OCH}_2\text{COOH}$       | <b>32.</b> $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OSO}_2\text{CF}_3$                        |
| <b>27.</b> $R_1 = \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}; R_2 = R_3 = \text{OH}$ | <b>33.</b> $R_1 = R_2 = R_3 = \text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$     |
| <b>28.</b> $R_1 = R_3 = \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}; R_2 = \text{OH}$ |   |

Esquema 53

Per a la preparació dels èsters **23** i **24** es van emprar els clorurs d'àcid corresponents com a agents alquilants i carbonat de potassi com a base en el si de diclorometà. La solubilitat del producte de partida en aquest dissolvent és molt baixa i per tant no permet la formació dels productes esperats. Per tal de millorar-la s'afegeix en el si de reacció acetona i trietilamina com a base líquida, condicions que sí que permeten la formació dels productes acilats **23** i **24** amb un 66% i 52% de rendiment respectivament (Esquema 54). Cal destacar que l'ús de piridina com a base i dissolvent va ser assajat en la formació de **23** per tal de millorar el rendiment de la reacció, però no va permetre aïllar el producte esperat.



Esquema 54

Una representació ORTEP del producte **23** es mostra en la Figura 48. Les distàncies i angles d'enllaç seleccionats, així com les dades del cristall i altres detalls es troben en l'annex d'aquesta memòria.

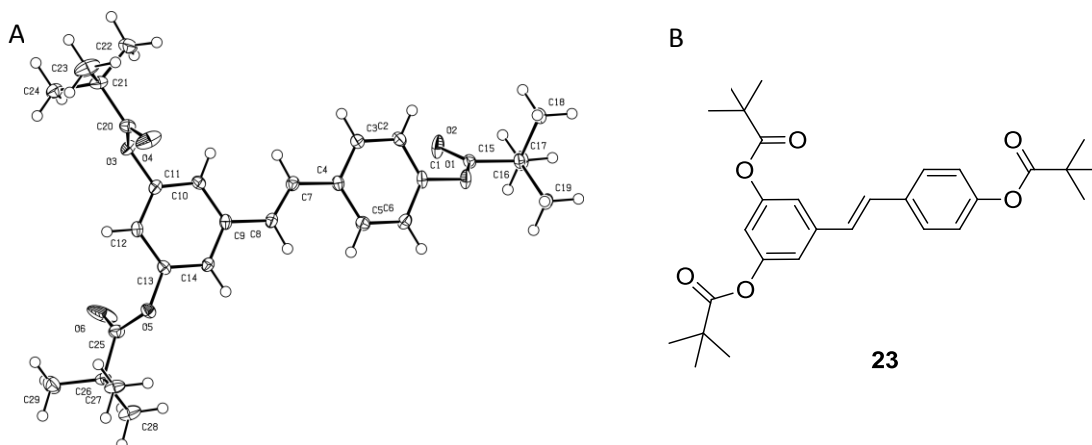
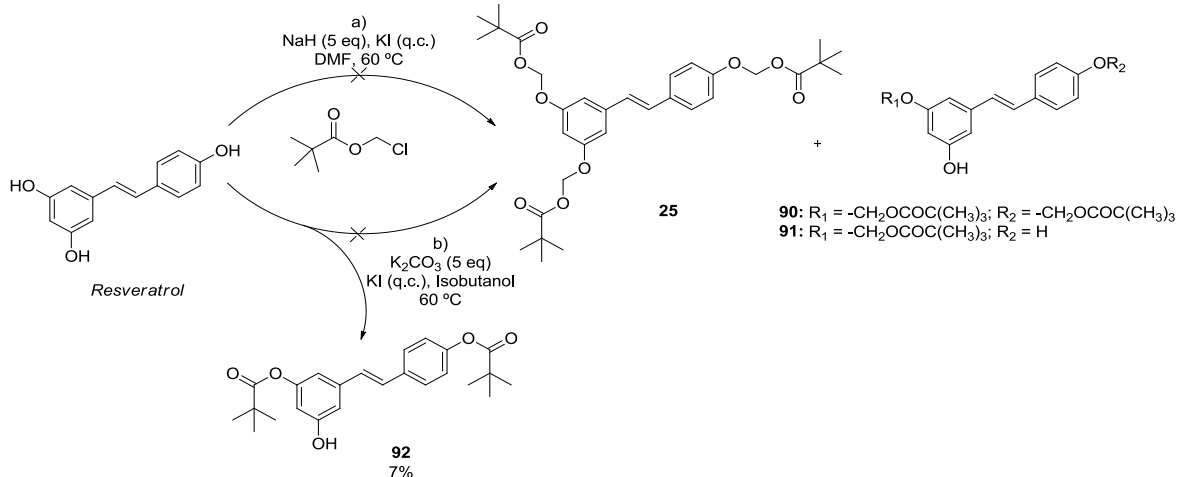


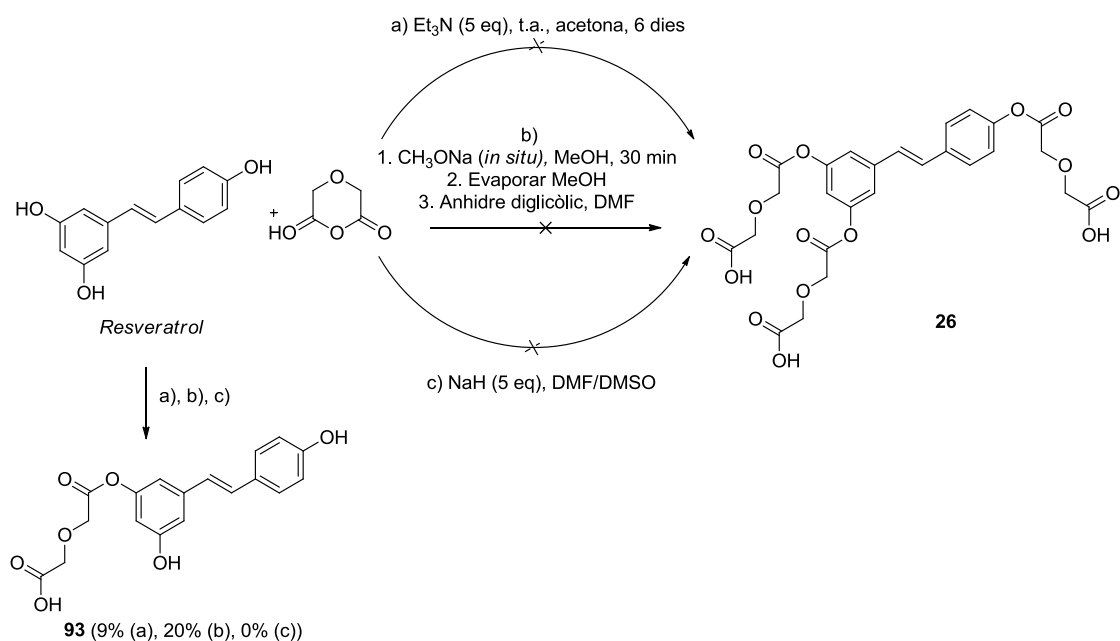
Figura 48: Representació ORTEP (A) i l'estructura desenvolupada (B) del producte **23**.

Per a la preparació del compost **25** s'empra el clorometilpivalat com a agent alquilant en dues condicions diferents: (a) amb hidrur de sodi com a base i KI com a catalitzador en el si de DMF, i (b) amb carbonat potàssic com a base i KI com a catalitzador en el si d'isobutanol (Esquema 55). En cap cas es va obtenir el producte final esperat, ni tampoc els productes derivats de la funcionalització d'un o dos dels fenols (**90** i **91**). Per contra sí que es va aïllar el derivat **92** amb un 7% de rendiment, corresponent a l'acilació dels fenols de les posicions 3 i 4' del *resveratrol* amb el clorometilpivalat.



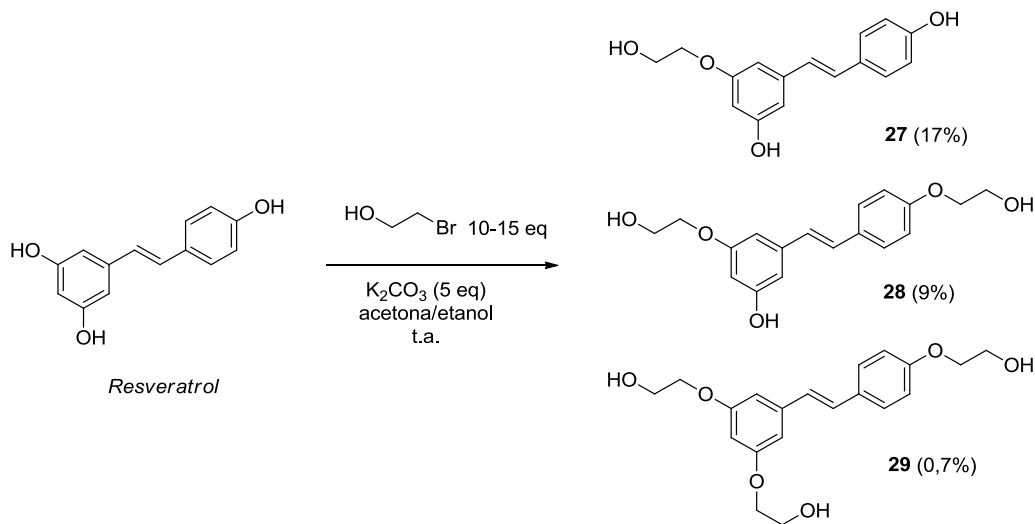
Esquema 55

El compost **26** s'intenta preparar emprant l'anhidre diglicòlic com a agent acilant seguint les condicions anteriorment descrites (a) però aquestes no en permeten la seva obtenció. Posteriorment s'utilitza metòxid sòdic generat *in situ* (b) o NaH com a base i DMF com a dissolvent (c) però tampoc s'obté el producte esperat sinó que s'aïlla el producte derivat de la monoacilació d'un dels fenols **93** amb un 9% (b) i 20% (c) de rendiment (Esquema 56).



Esquema 56

El compost **29** es va preparar emprant carbonat de potassi com a base i 2-bromoetanol com agent alquilant en el si d'acetona. En aquest cas va ser necessària l'addició d'etanol per tal de millorar la solubilitat dels intermediaris de reacció derivats de l'alquilació d'un i dos fenols. Mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manual es va poder aïllar tant el producte esperat **29** amb un 0,7% de rendiment, així com els diferents subproductes de reacció derivats de la monoalquilació **27** i dialquilació **28** dels fenols amb un 17% i un 9% de rendiment respectivament (Esquema 57).



Esquema 57

Els compostos **27**, **28** i **29** es caracteritzen per espectroscòpia d'RMN, de manera que s'identifiquen quins fenols es troben alquilats en cada cas, tal i com es descriu en la Taula 11:

Taula 11: Desplaçaments de l'espectre d'RMN de <sup>1</sup>H en ppm dels compostos **27**, **28** i **29**.

Àtom/ grup	Multiplicitat	Desplaçaments (ppm)		
		<b>27</b>	<b>28</b>	<b>29</b>
H-2, H-6	dd	6,64	6,65	6,75
H-4	t	6,33	6,34	6,42
H-2', H-6'	d	7,42	7,50	7,52
H-3', H-5'	d	6,84	6,94	6,95
HC=C	d	6,92	6,97	7,01
C=CH	d	7,09	7,12	7,20

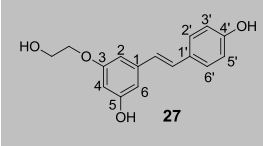
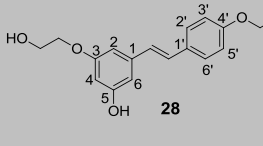
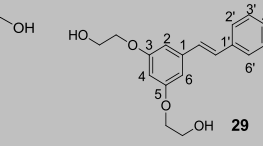
d: doblet; dd: doble doblet; t: triplet

Els grups de protons H-2' i H-6', i H-3' i H-5' presenten desplaçaments pràcticament iguals en els dos compostos que tenen H-4' alquilat **28** i **29**, i lleugerament més apantallats quan es tracta del fenol lliure **27**.<sup>145</sup> D'altra banda, els desplaçaments dels protons corresponents als dobles enllaços

<sup>145</sup> P. Ballesteros; R. M. Claramunt; D. Sanz del Castillo; E. Teso. *Química Orgànica Avanzada*. UNED. **2013**. ISBN: 978-84-362-6799-0.

presenten desplaçaments més apantallats a mesura que s'incrementa la presència dels grups alquilats.

Taula 12: Desplaçaments de l'espectre d'RMN de  $^{13}\text{C}$  en ppm dels compostos **27**, **28** i **29**.

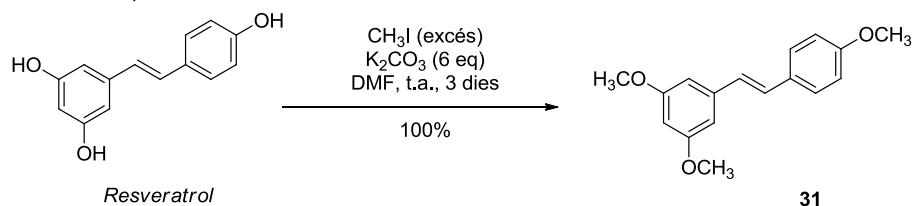
Àtom/ grup	Desplaçaments (ppm)		
			
C-1	141,5	141,4	141,4
C-2	107,3	107,4	106,3
C-3	159,0	160,7	162,3
C-4	102,4	102,6	101,9
C-5	162,3	160,3	162,3
C-6	105,0	105,1	106,3
C-1'	130,5	131,6	131,6
C-2', C-6'	129,3	128,0	129,3
C-4'	160,3	162,3	160,7
C-3', C-5'	116,9	116,1	116,1
HC=C	127,6	128,0	127,9
C=CH	130,0	131,6	130,1

Pel que fa als desplaçaments en l'espectre de  $^{13}\text{C}$  (Taula 12) també s'observen diferències notables. Els desplaçaments de C-3 són diferents als de C-5 en els compostos que presenten un grup fenol lliure i un substituït en el mateix anell (compostos **27** i **28**), mentre que són iguals quan es tracta del compost **29** amb els dos grups idèntics ja que tenen el mateix entorn electrònic. Aquest és també el cas de C-2 i C-6, que presenten desplaçaments diferents entre ells, en el cas de **27** i **28** però iguals en el cas de **29**. A més a més, els desplaçaments de C-2 i C-6 són iguals quan es comparen entre els dos productes **27** i **28**, ja que ambdós tenen el mateix patró de substitució en aquest anell aromàtic.

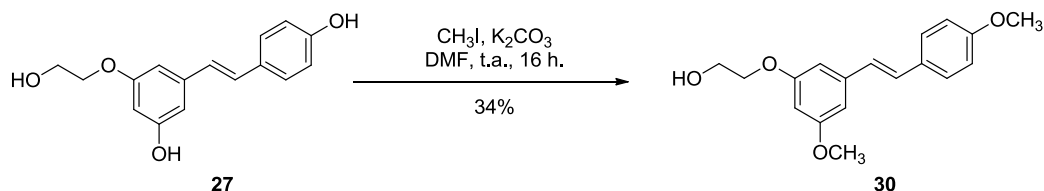
A partir dels derivats mono- i di- alquilats **27** i **28** respectivament, així com també del *resveratrol*, es proposa la metilació de la resta de fenols per tal de poder estudiar les propietats farmacocinètiques entre el fenol lliure i protegit amb cadenes alquílques de diferents longituds de carboni. Per tant es sotmet el *resveratrol* i els compostos **27** i **28** a condicions clàssiques d'alquilació emprant iodur de metil com a agent alquilant i carbonat de potassi com a base en el si de DMF i a temperatura ambient (Esquema 58).

A diferència del que passa en la metilació de tots els fenols per formar **31** (Esquema 58 (a)), que cursa amb el 100% de rendiment, el compost **30** (Esquema 58 (b)) s'obté només amb un 55% de rendiment, mentre que **94** (Esquema 58 (c)) no s'observa usant aquestes condicions. Tampoc es detecta quan la base es canvia per carbonat de cesi ni hidròxid de tretrabutilamoni. Aquesta diferència en el rendiment de les reaccions de metilació quan hi ha presents cadenes alifàtiques amb heteroàtoms pot deure's al fet que aquestes interaccionen amb la resta de fenols lliures mitjançant la formació de ponts d'hidrogen, dificultant-ne la seva funcionalització.

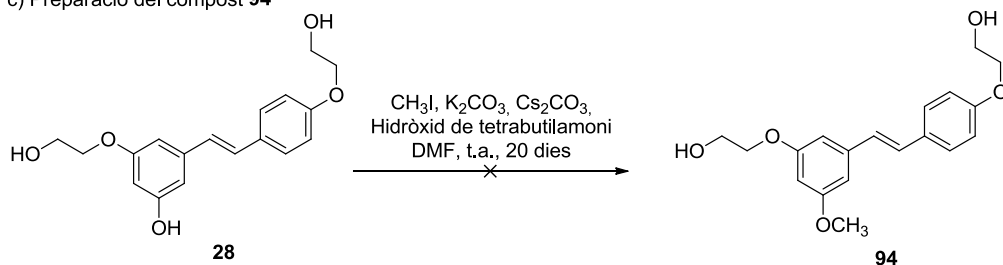
a) Preparació del compost **31**



b) Preparació del compost **30**

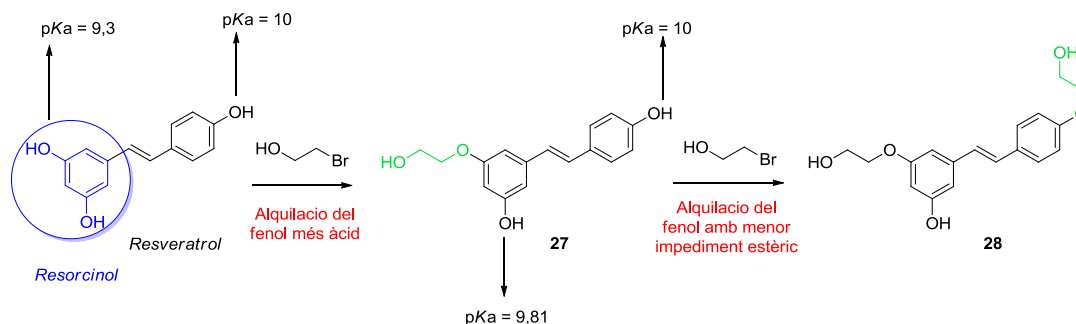


c) Preparació del compost **94**



Esquema 58

En comparar el  $pK_a$  del resorcinol ( $pK_a = 9,32$ ) veiem que és més àcid que no pas el del fenol ( $pK_a = 10$ ) degut a l'efecte atraient del segon oxigen situat en *meta*. Per tant, cal esperar que el primer anió que es formi sigui precisament aquest, essent el primer en reaccionar amb l'agent alquilant. Un cop aquest es troba alquilat, el  $pK_a$  del segon fenol de l'anell de resorcinol augmenta fins a 9,81 degut a l'efecte donador de la cadena alquímica introduïda, de manera que l'acidesa dels dos fenols restants és pràcticament igual. En aquest punt l'impediment estèric de l'anell de resorcinol ja alquilat juga un paper clau en l'alquilació del segon fenol, fent que sigui molt més fàcil en l'altre anell i generant així el producte dialquilat que s'indica en l'Esquema 59.



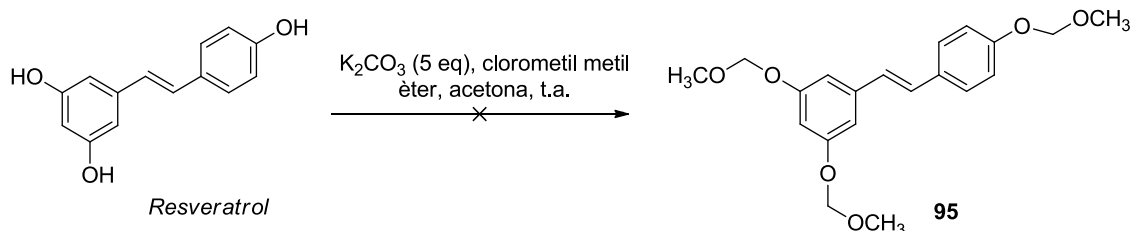
Esquema 59

Per espectroscòpia d'RMN de protó es comprova que el compost **27** correspon a l'isòmer monoalquilat mostrat en l'esquema de reacció. D'altra banda cal destacar que s'observa la formació de diferents rotàmers en que la cadena alquímica adopta diferents posicions, possiblement



estabilitzada per la formació de ponts d'hidrogen. En aquest cas es detecta una petita variació en les senyals corresponents als protons H-2 i H-6, mentre que les corresponents a les senyals del doble enllaç no s'alteren i apareixen com a senyal única.

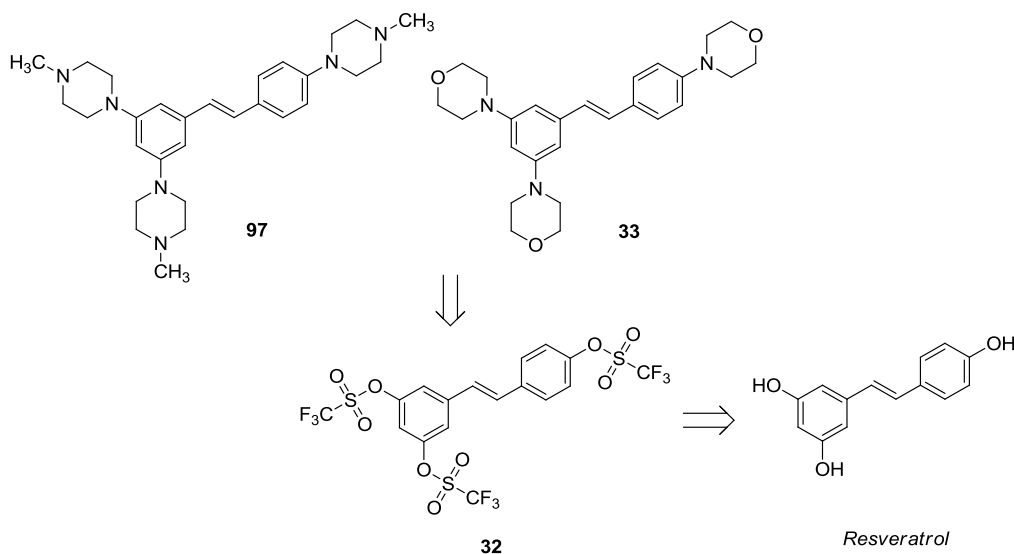
Usant les mateixes condicions d'alquilació que en el cas anterior i clorometil metil èter (MOM) com a agent alquilant s'intenta preparar el compost **95**, però en aquestes condicions no s'obté el producte esperat (Esquema 60).



Esquema 60

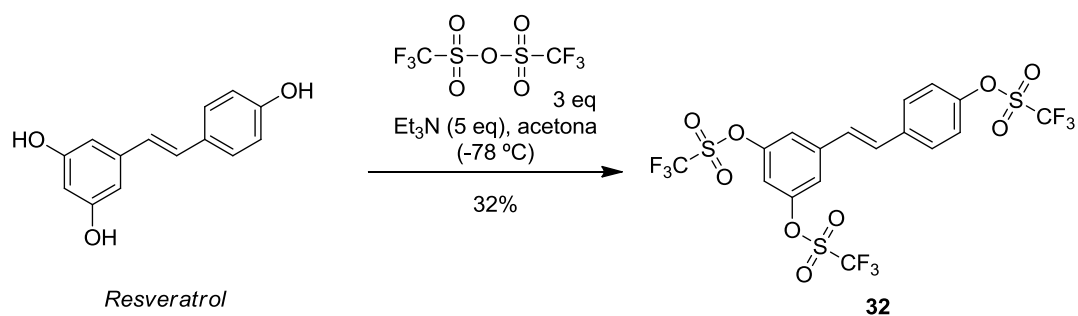
### 3.2.3.2 Preparació dels derivats de *resveratrol* **32** i **33**

Un dels inconvenients més grans que cal superar per poder emprar el *resveratrol* en clínica és la seva baixa solubilitat en aigua. Per tal d'abordar aquest problema es planteja la síntesi de derivats amb grups funcionals més polars que els fenols com són la morfolina i la piperazina. Per a la seva preparació es planteja el següent esquema retrosintètic (Esquema 61):



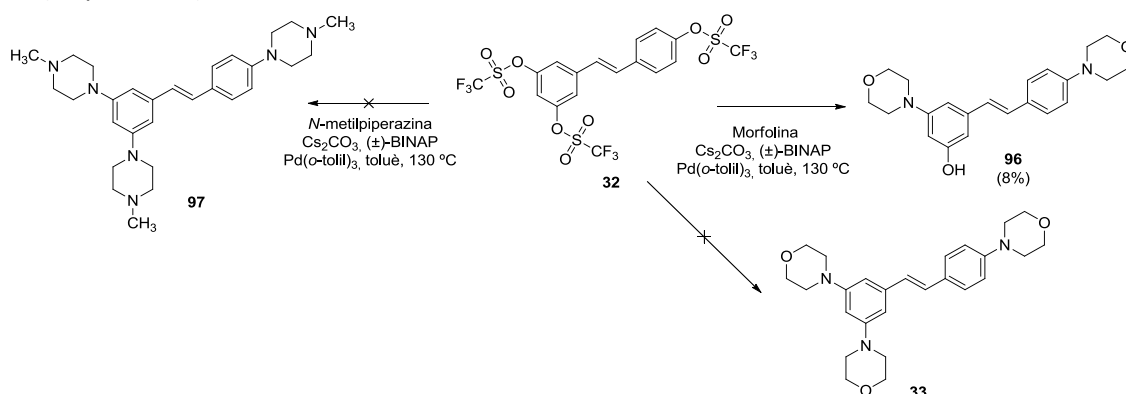
Esquema 61

Primerament, i per tal de convertir els fenols en bons grups sortints mitjançant la formació de triflats, es prepara el derivat **32** amb un 32% de rendiment. Per això el *resveratrol* dissolt en el si d'acetona i a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  en presència de trietilamina i anhídrid trifluorometansulfònic es converteix en el *tris*-triflat **32** (Esquema 62). El baix rendiment es deu a la pèrdua de producte durant l'etapa de purificació mitjançant columna cromatogràfica, ja que aquest és molt làbil i descomposa regenerant el producte de partida.



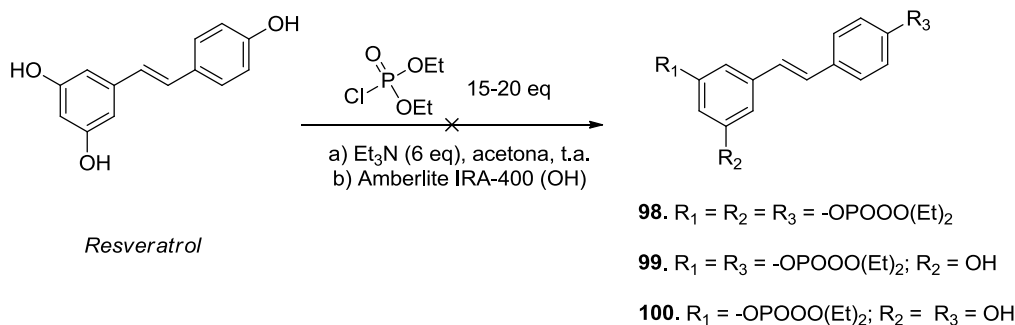
Esquema 62

A continuació, es sotmet el derivat **32** a condicions d'acoblament de *cross-coupling* amb l'*N*-metilpiperazina per tal d'obtenir **97**, o bé emprant morfolina per tal d'obtenir **33**, però no s'observa el producte esperat. Tampoc es recupera el producte de partida ja que sota les condicions de reacció aquest es degrada. Per tal de disminuir aquest fet es repeteix la reacció disminuint la temperatura fins a  $-20 \pm 10$  °C durant l'addició de morfolina i a temperatura ambient durant el temps de reacció (2 dies). Finalment s'escalfa a  $50 \pm 10$  °C durant 7 dies. Tot i que sota aquestes condicions tampoc no s'observa el producte final esperat **33**, sí que s'aïlla el producte de la substitució de dos dels fenols en les posicions 3 i 4' **96** amb un 8% de rendiment. El triflat en posició 5 s'hidrolitza regenerant el fenol inicial (Esquema 63).



Esquema 63

La introducció de grups fosfats a determinats derivats naturals com per exemple a la *combretastatina A4* per formar la *fosbretabulina* permet, tal i com s'ha explicat prèviament, augmentar la solubilitat en aigua i millorar les seves propietats farmacocinètiques. Per aquest motiu es proposa la introducció de grups fosfats en l'estructura del *resveratrol*. Per a la preparació del compost **98** es plantegen dues síntesis alternatives però en cap dels casos s'obté el producte esperat. El *resveratrol* i el dietilclorofosfat es fan reaccionar amb trietilamina en el si d'acetona (a) o amb resina d'intercanvi iònic (b), però en cap cas s'observa el producte final esperat **98**, així com tampoc els derivats de la introducció d'un i dos fosfats (**99** i **100**) respectivament, sinó que es recupera el producte de partida inalterat (Esquema 64).



Esquema 64

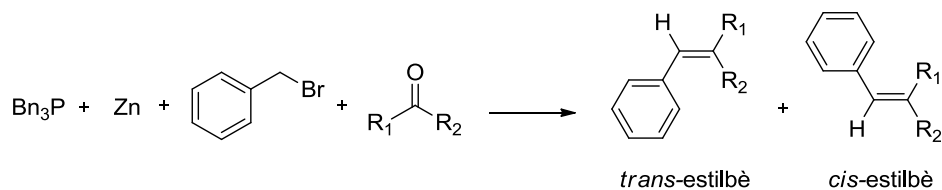
### 3.3. Preparació de derivats de la *combretastatina A4*

#### 3.3.1. Antecedents per a la preparació d'estilbens

Els *cis* i *trans* estilbens formen un grup de compostos d'interès tant des del punt de vista de la química orgànica com de la química terapèutica. Es coneixen diversos mètodes de síntesi d'estilbens<sup>146,147</sup> tal i com es descriu a continuació:

##### 1. Metodologia de Shen<sup>148</sup>

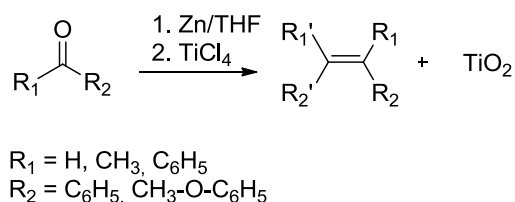
Es tracta d'un mètode senzill i fàcil d'aplicar que condueix a una barreja d'isòmers *cis/trans*. La síntesi consisteix en la reacció entre un derivat carbonílic i una sal de fosfoni catalitzada per un metall. La sal de fosfoni reacciona amb el metall formant un il·lur de fòsfor (Esquema 65).



Esquema 65

##### 2. Metodologia de Mc. Murry<sup>149,150</sup>

Es tracta d'un acoblament reductiu dels compostos carbonílics que condueixen al doble enllaç olefínic dels estilbens (Esquema 66).



Esquema 66

##### 3. Metodologia de Heck<sup>151,152</sup>

<sup>146</sup> G. I. Likhtenshtein. *Stilbenes Synthesis and Applications. Encyclopedia of Chemical Technology*. Kirk Oothmer. John Wiley and Sons **2012**. DOI: 10.1002/0471238961.stillkh.a01

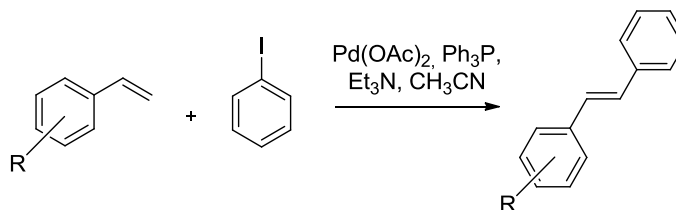
<sup>147</sup> O. H. Wheeler; H. N. Batlle de Pabon. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 1473-1477.

<sup>148</sup> T. Shen; X. I. N. Wang; H. X. Lou. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 916-935.

<sup>149</sup> H. Idriss; K. G. Pierce; M. A. Barteau. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3063-3074

<sup>150</sup> L. Benz; J. Haubrich; R. G. Quiller; S. C. Jensen; C. M. Friend. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15026-15031.

La reacció d'acoblament de Heck catalitzada per pal·ladi constitueix un bon mètode per a la formació d'enllaços carboni-carboni en química orgànica. El procés es basa en la reacció entre un alquè i un halogenur d'aril o d'alquenil per formar vinilarens o diens en presència d'una base, emprant pal·ladi (0) com a catalitzador, i trifenilfosfina com a lligand (Esquema 67).

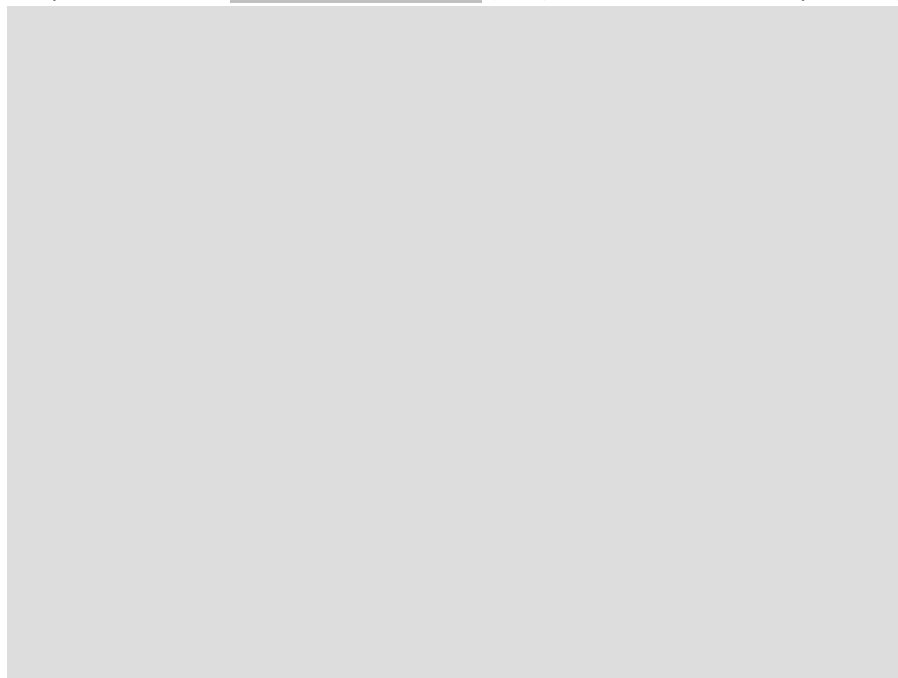


Esquema 67

La majoria d'aquests mètodes permeten accedir a *trans*-estilbens. Els *cis*-estilbens són menys estables que els *trans*- degut a que l'impediment estèric força a la disposició dels anells aromàtics en disposició no coplanar.<sup>153</sup> En conseqüència, es fa necessària una etapa de isomerització per passar de l'isòmer *trans* a l'isòmer *cis*.<sup>154</sup>

### 3.3.2. Preparació de 34

Es planteja la síntesi dels anàlegs de la *combretastatina A4* mitjançant la següent anàlisi retrosintètica a partir de l'àcid [redacted] (**101**) amb l'aldehid corresponent (Esquema 68).



Esquema 68

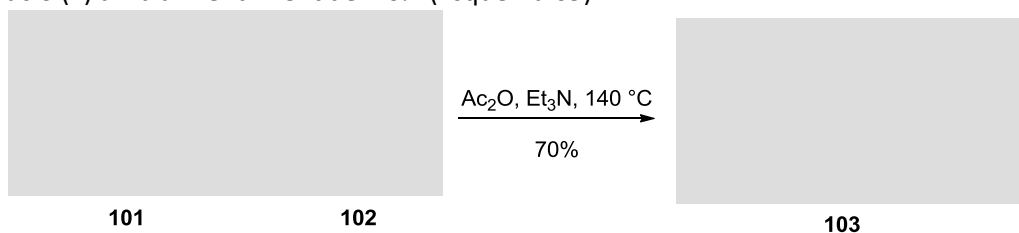
<sup>151</sup> A. S. Saiyed; K. N. Patel; B. V. Kamath; A. V. Bedeker. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 4692-4696.

<sup>152</sup> C. M. Kormos; N. E. Leadbeater. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3854-3858.

<sup>153</sup> J. R. Norman. *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 1818-1824.

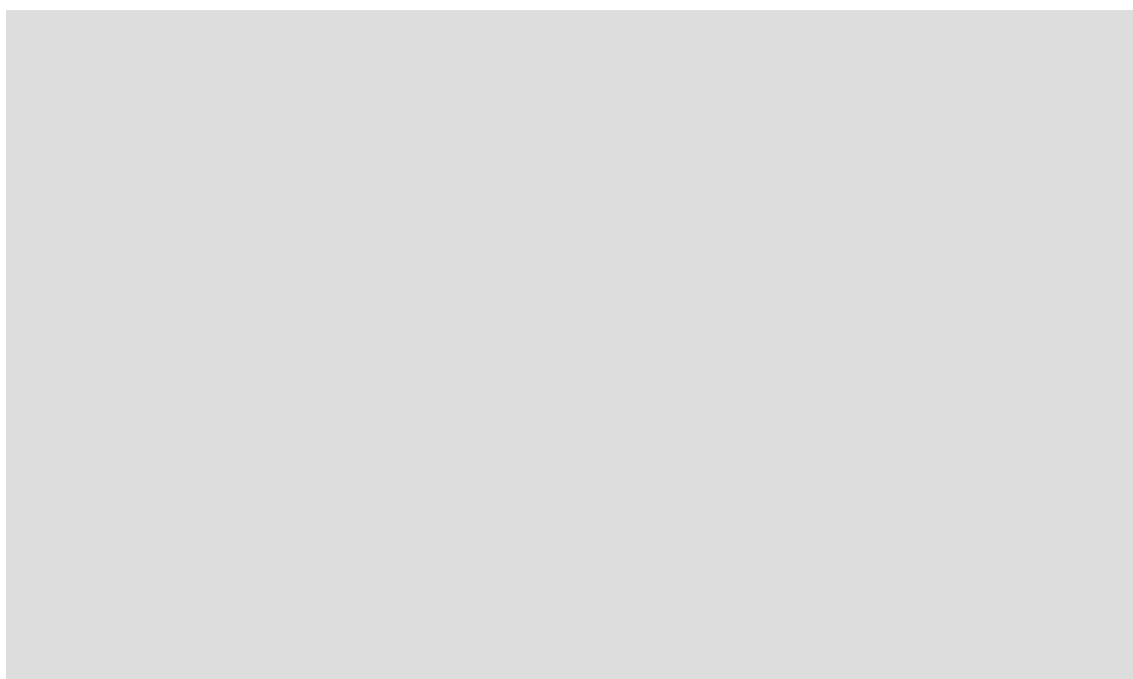
<sup>154</sup> J. Saltiel; E. D. Megarity; K. G. Kneipp. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *88*, 2336-1267.

Per a la preparació de l'àcid **103** es realitza la condensació entre l'àcid **101** i el **102** i mitjançant una condensació de tipus *Perkin* modificada,<sup>155,156</sup> obtenint el corresponent àcid de configuració (*E*) amb un rendiment del 70% (Esquema 69).



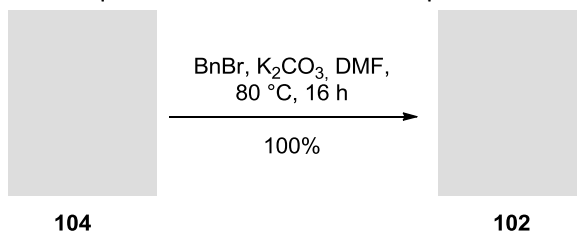
Esquema 69

Un possible mecanisme de la reacció de *Perkin* modificada s'indica a continuació (Esquema 70).<sup>157,158</sup>



Esquema 70

Per tal d'evitar les possibles interaccions del fenol lliure durant l'etapa de condensació no es va emprar el **104** sinó que el fenol es protegeix prèviament amb un grup benzil tal i com es mostra en l'Esquema 71, reacció que cursa amb rendiments quantitius.



Esquema 71

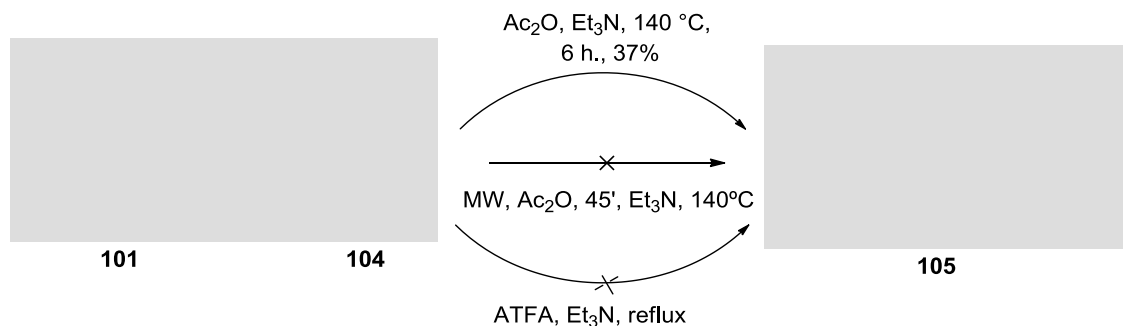
<sup>155</sup> K. C. Sanko; L. Illes; K. Felsoeldi; J. Kiss; P. Sipos; I. Palinko. *J. Mol. Struct.* **2011**, 993, 259-263.

<sup>156</sup> A. Khalaf; I. M. Awad; I. M. El-Emary; T. I. Abd El-Aal. *J. Ind. Chem. Soc.* **2010**, 87, 595-600.

<sup>157</sup> J. F. J. Dippy; R. M. Evans. *J. Org. Chem.* **1950**, 15, 451-456.

<sup>158</sup> K. R. Bansal. *Organic Reaction Mechanisms*. Tata Mcgraw Hill. 3rd Edition. **1998**, 199-201.

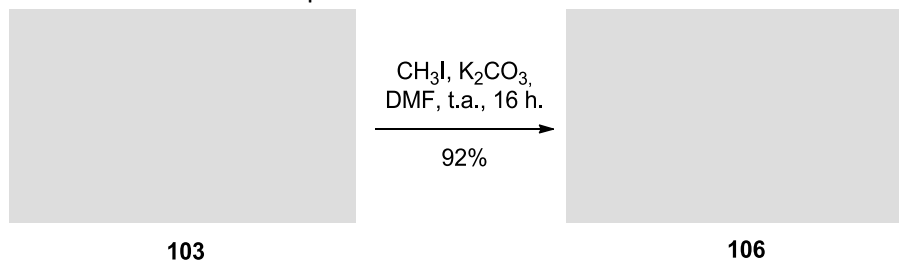
Paral·lelament, per tal de estudiar si el rendiment d'aquesta ruta sintètica es veu afectada per la presència del fenol lliure es realitza la condensació de l'àcid **101** directament amb l'aldehid sense protegir **104**, mitjançant les mateixes condicions que les exposades anteriorment, per tal d'obtenir l'àcid **105** amb un 37% (Esquema 72). Comparativament queda patent que la presència del fenol lliure genera una disminució del rendiment de la reacció.



Esquema 72

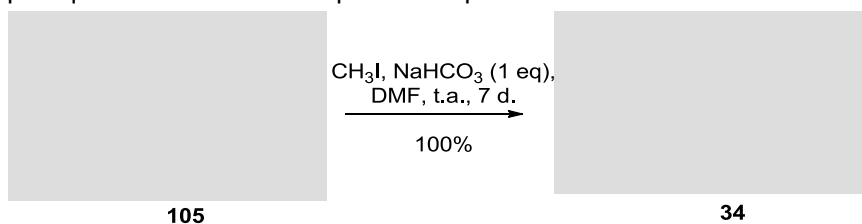
Per intentar obtenir **105** amb millor rendiment i adaptar el temps de reacció s'assagen altres condicions. En primer lloc s'empra trietilamina en el sí d'àcid trifluoroacètic (ATFA) a temperatura de reflux. En segon lloc, la reacció es realitza assistida per irradiació de microones, usant iguals proporcions de trietilamina en el sí d'anhidrid acètic durant 45 minuts a 140 °C. En cap dels dos casos s'observa el producte final desitjat.

L'àcid carboxílic **103** es tracta a continuació amb iodur de metil en excés com a agent alquilant i carbonat de potassi com a base, en el sí de DMF, per tal d'obtenir l'acrilat **106** amb un 92% de rendiment tal i com es mostra en l'Esquema 73.



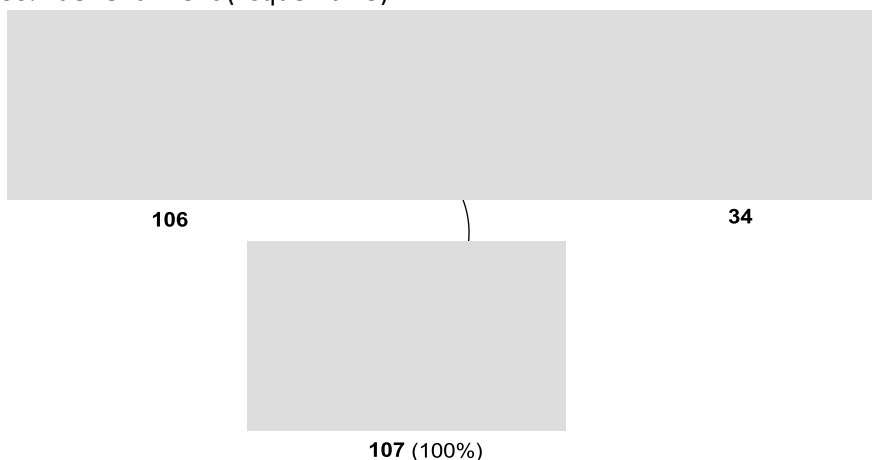
Esquema 73

Paral·lelament, l'àcid **105** s'alquila utilitzant un excés de iodur de metil, en el sí de DMF, però emprant bicarbonat com a base per tal de metilar quimiosselectivament l'àcid carboxílic i no el fenol, obtenint l'acrilat **34** amb rendiments quantitius (Esquema 74). El rendiment global de les dues etapes sintètiques que condueixen a **34** a partir dels productes comercials **101** i **104** és del 37%.



Esquema 74

L' **106** s'intenta convertir en el derivat **34** mitjançant una hidrogenació catalítica amb pal·ladi i carbó però en el seu lloc s'obté el derivat procedent de la desbenzilació i la reducció del doble enllaç **107** amb un 100% de rendiment (Esquema 75).



Esquema 75

### 3.3.3. Preparació de 35

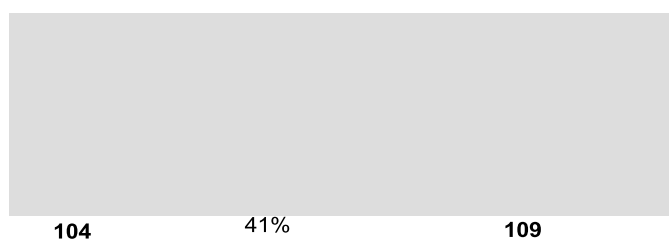
A partir de l'àcid **34** es prepara el derivat **35** mitjançant la sulfonació del fenol amb **(108)**, amb carbonat de potassi en el si de DMF, amb un rendiment del 25% (Esquema 76). Aquest grup constitueix un bon grup electròfil que és fàcilment atacat pel fenolat corresponent produint-se una addició electròfila seguida d'eliminació del clorur.



Esquema 76

Emprant la ruta indicada, iniciada amb la condensació entre **101** i **104**, formació de l'èster **34** i posterior sulfonació, s'obté **35** amb un 9,3% de rendiment global.

Per tal de comprovar si el rendiment pot millorar-se, s'intenta incorporar el grup **108** a l'aldehid **104** des de l'inici de la síntesi. La sulfonació del fenol del **(104)** es duu a terme utilitzant les condicions anteriorment descrites i s'obté el derivat **109** amb un 41% de rendiment (Esquema 77).



Esquema 77

Tot seguit es procedeix a la condensació de l'aldehid **109** amb l'àcid **101** sota condicions de *Perkin* modificades que permeten obtenir **110** amb un 76% de rendiment (Esquema 78).



Esquema 78

A continuació, l'àcid **110** s'alquila amb iodur de metil en excés i carbonat de potassi com a base, en el si de DMF, condicions que condueixen a l'acrilat **35** amb un 16% de rendiment (Esquema 79).



Esquema 79

Emprant les condicions indicades s'obté **35**, en tres etapes i amb un rendiment global del 5%, fet que suposa una disminució d'aproximadament el 50% respecte del rendiment obtingut quan la sulfonació del fenol es realitza en l'última etapa. Això es deu probablement a la inestabilitat del grup sulfonil, que en cada etapa posterior a la seva incorporació es trenca regenerant el fenol lliure.

### 3.3.4. Preparació de 36

Seguint l'esquema anterior es prepara l'estilbè **36** mitjançant dues rutes sintètiques alternatives, introduint el grup fosfat des d'un inici o bé en l'última etapa.

Inicialment s'intenta la funcionalització del fenol des del inici de la ruta sintètica formant el derivat **111**. D'aquesta manera, tal i com es mostra en l'Esquema 80, l'aldehid **104** es fa reaccionar amb  $\text{POCl}_3$  en el si de toluè i amb piridina seguint la metodologia de Mitrus et al.<sup>159</sup> però no s'obté el producte intermediari esperat **112**. L'addició de més quantitat de  $\text{POCl}_3$  i de trietilamina com a base tampoc en permet el seu aïllament. El canvi de toluè per acetona i l'addició de trietilamina a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  com descriu Ruda<sup>160</sup> no aporta cap millora respecte a les anteriors proves. En tots els casos, el producte aïllat es tracta del provinent de la hidròlisi del clorur de fosfat a l'àcid corresponent **113**.

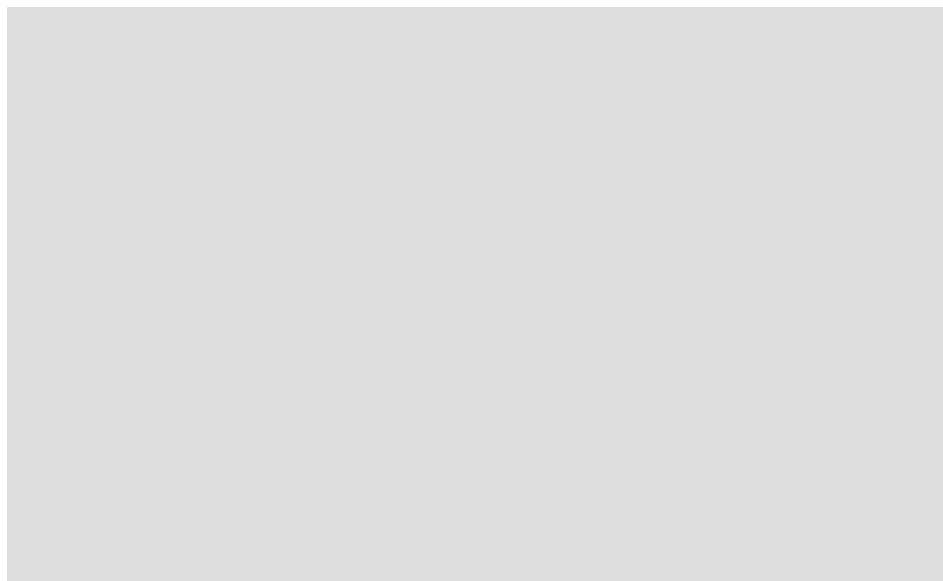
Per tal de formar l'èster de fosfat desitjat es dissol el producte en etanol i s'hi addiciona quantitat catalítica d'àcid trifluoroacètic. Tampoc en aquestes condicions s'obté el producte **111**, sinó que a

<sup>159</sup> I. Mitrus; A. Sochanik; T. Cichon; S. Szala. *Acta Biochim Pol.* **2009**, *56*, 161-165.

<sup>160</sup> G. F. Ruda; P.E. Wong; V. P. Alibu; S. Norval; K. D. Read; M. P. Barrett; I. H. Gilbert. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6071-6078.

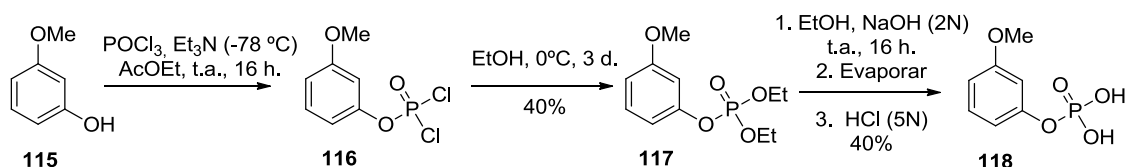


part de formar-se l'èster de fosfat, l'etanol s'addiciona també sobre el carbonil donant lloc a l'acetal **114** amb un 25% de rendiment (Esquema 80).



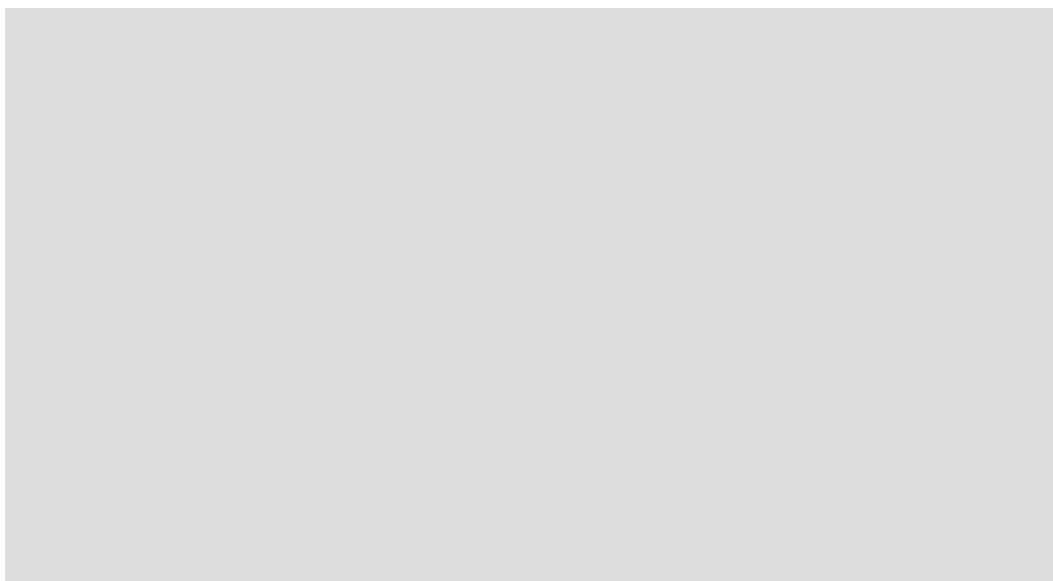
Esquema 80

Els resultats ens porten a considerar un mètode alternatiu per a la introducció de grups fosfats, que es posa a punt a partir del 3-metoxifenol (**115**) ja que presenta una reactivitat més limitada per l'absència del grup aldehid. Seguint el procediment descrit per a la preparació dels compostos **36** i **37**, es fa reaccionar el producte **115** amb  $\text{POCl}_3$  i trietilamina com a base, en el si d'acetat d'etil, per tal d'obtenir **116**, seguit amb el tractament d'aquest amb etanol. Aquestes condicions per obtenir satisfactòriament l'èster de fosfat **117** amb un 40% de rendiment. A continuació, i per tal de formar l'àcid corresponent, l'èster **117** es sotmet a hidròlisi en medi bàsic per tal de generar la sal disòdica de fosfat i finalment s'obté l'àcid **118** per tractament amb àcid clorhídric (Esquema 81).



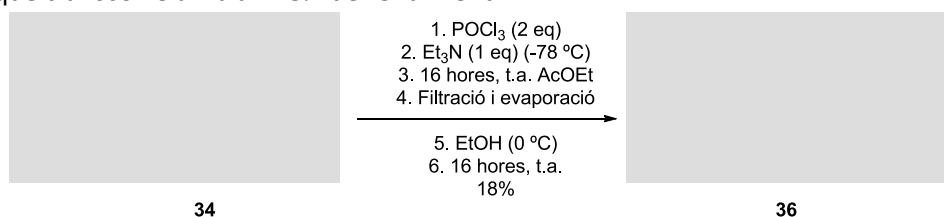
Esquema 81

Per tant, un cop posada a punt la metodologia que permet la incorporació d'èsters de fosfats a grups fenol es procedeix a la preparació de l'estilbè **36**. Per això es fosforila el grup fenol del benzaldehid **104** per tal d'obtenir l'aldehid **111**, que es condensa amb l'àcid **101** sota condicions de la reacció de *Perkin* per tal d'obtenir l'àcid **119**. Finalment es procedeix a l'alquilació de l'àcid carboxílic **119** per tal d'obtenir **36**. En aquestes condicions no es va detectar la presència de **36**, sinó que en el seu lloc s'aïlla el producte derivat de la hidròlisi dels grups fosfats, generant l'àcid fosfòric **120** amb un 25% de rendiment (Esquema 82).



Esquema 82

Paral·lament, es prepara l'estilbè **36** per fosforilació del fenol del derivat **34** emprant les condicions descrites anteriorment que impliquen l'ús de trietilamina i  $\text{POCl}_3$  en el si d'acetat d'etil (Esquema 83), reacció que transcorre amb un 18% de rendiment.

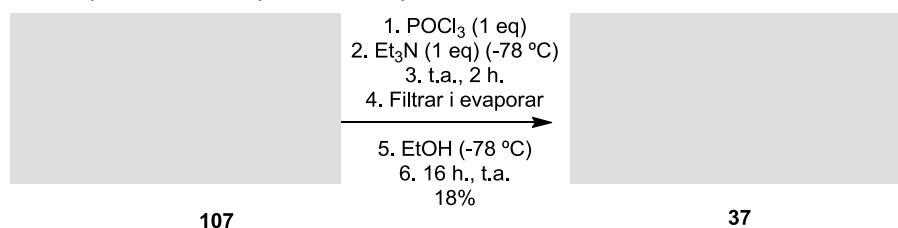


Esquema 83

Es conclou doncs que la millor manera d'obtenir el compost **36** es quan la fosforilació es duu a terme al final del procés sintètic, ja que aquest s'obté amb un 7% de rendiment global de les tres etapes de síntesis a partir dels compostos comercials **101** i **104**, mentre que quan la fosforilació del fenol es produeix en la primera etapa de la ruta sintètica no condueix al compost **36** sinó al derivat amb l'àcid fosfòric **120**.

### 3.3.5. Preparació de 37

El procediment de fosforilació descrit per a la preparació de **36** s'aplica a l'èster **107** per tal d'obtenir el producte **37** amb un 18% de rendiment d'aquesta etapa (Esquema 84) i amb un 12% de rendiment global de les 5 etapes de síntesi partint dels productes comercials **101** i **104**.

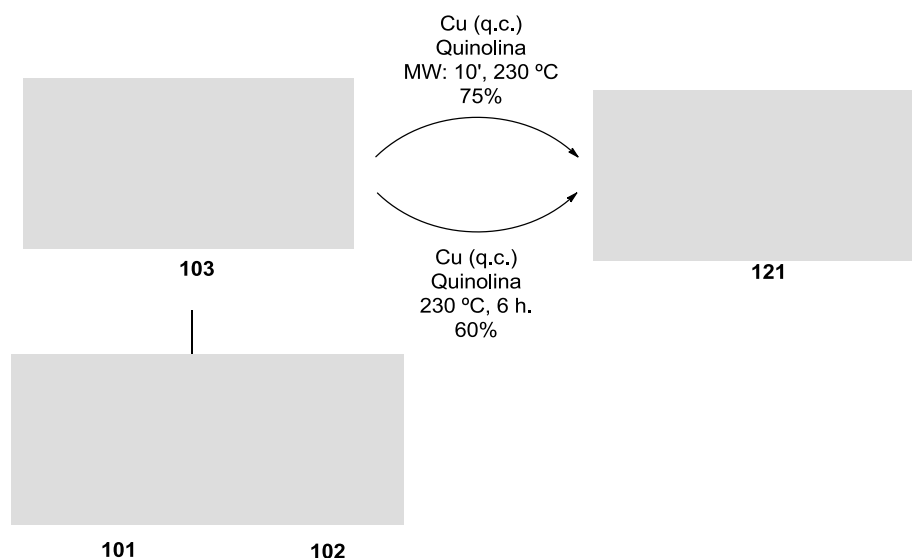


Esquema 84



### 3.3.6. Preparació de 121

L'àcid **103** es descarboxila en condicions clàssiques, emprant coure i quinolina en quantitat catalítica o bé aplicant irradiació de microones, obtenint l'olefina **121** amb un 60% i 75% de rendiment respectivament (Esquema 85). Així doncs es posa de manifest que l'assistència d'irradiació per microones suposa, per aquesta reacció, un augment de rendiment i disminució de temps considerable.

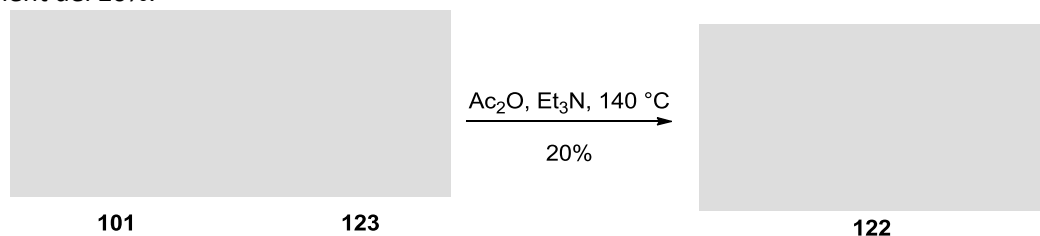


Esquema 85

L'ús de coure com a catalitzador de la reacció es deu a la seva capacitat d'acomplexar-se amb el carboxilat generat i augmentar l'electrofilia del carbonil, fet que facilita el moviment electrònic necessari per a la descarboxilació. La quinolina, d'altra banda, aporta l'àtom de nitrogen que forma part del complex amb el coure i a més permet elevar la temperatura de reacció gràcies al seu elevat punt d'ebullició (237 °C). En aquest cas és especialment interessant atès que elevades temperatures faciliten la degradació de l'àcid **103** donant lloc a **101** i a **102**.

### 3.3.7. Preparació de 38 i 39

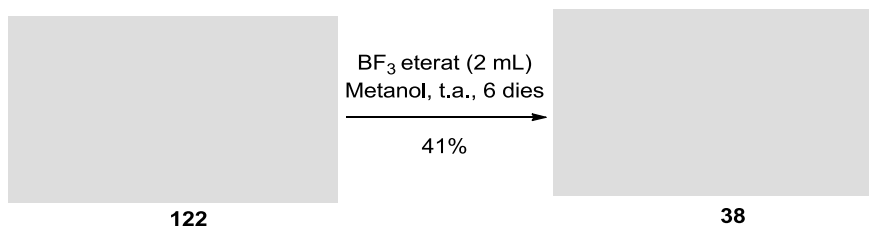
Per a la preparació de l'àcid **122** es realitza la condensació entre l'àcid **101** i el **123** i mitjançant una condensació de tipus *Perkin* en les condicions indicades anteriorment en aquesta memòria (Esquema 86), que condueix al corresponent àcid en configuració (*E*) amb un rendiment del 20%.




Esquema 86

L'àcid carboxílic **122** s'alquila utilitzant trifluor de boro eterat, en el si de metanol, per tal de realitzar quimioselectivament la metilació de l'àcid carboxílic i no del fenol, obtenint l'**38** amb

un 41% de rendiments (Esquema 87) i un rendiment global del 8% a partir de **101** i **123** en dues etapes.



Esquema 87

L'estructura **38** es caracteritza per cristal·lografia de raig X. Una representació del seu ORTEP es mostra en la Figura 49. Les distàncies i angles d'enllaç seleccionats, així com les dades del cristall i altres detalls es troben en l'annex d'aquesta memòria. Les dades d'estudi de difracció de raig X confirmen la configuració (*E*) assignada a aquest  i també mostren la disposició no coplanar dels nuclis aromàtics.

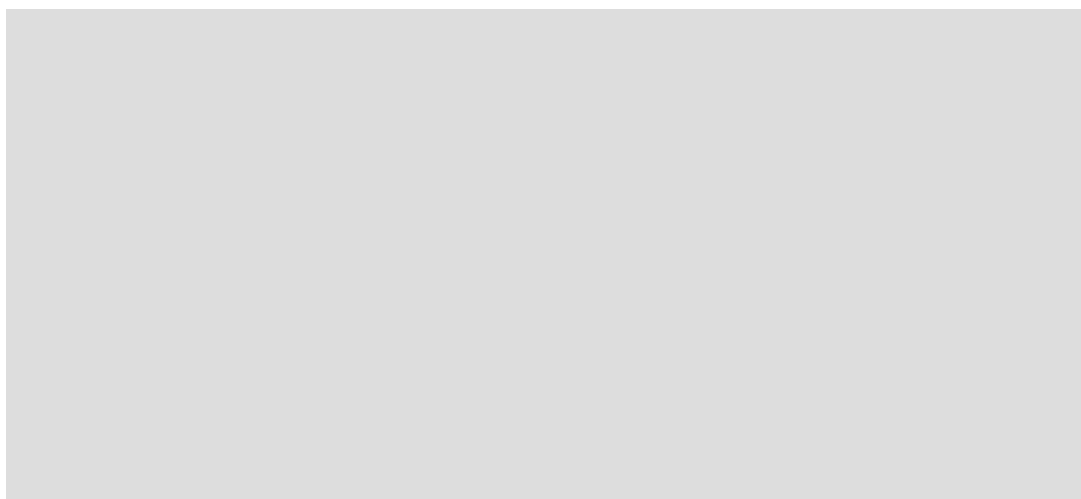



Figura 49: Representació ORTEP (A) i l'estructura desenvolupada (B) del producte **38**.

Paral·lelament, l'àcid carboxílic **122** es tracta amb iodur de metil i carbonat de potassi, en el si de DMF, per tal d'obtenir  **39** amb un 91% de rendiment tal i com es mostra en l'Esquema 88. L'estilbè **39** s'obté amb un 18% de rendiment global a partir dels productes comercials **101** i **123** en una ruta sintètica de dues etapes de síntesi.



Esquema 88

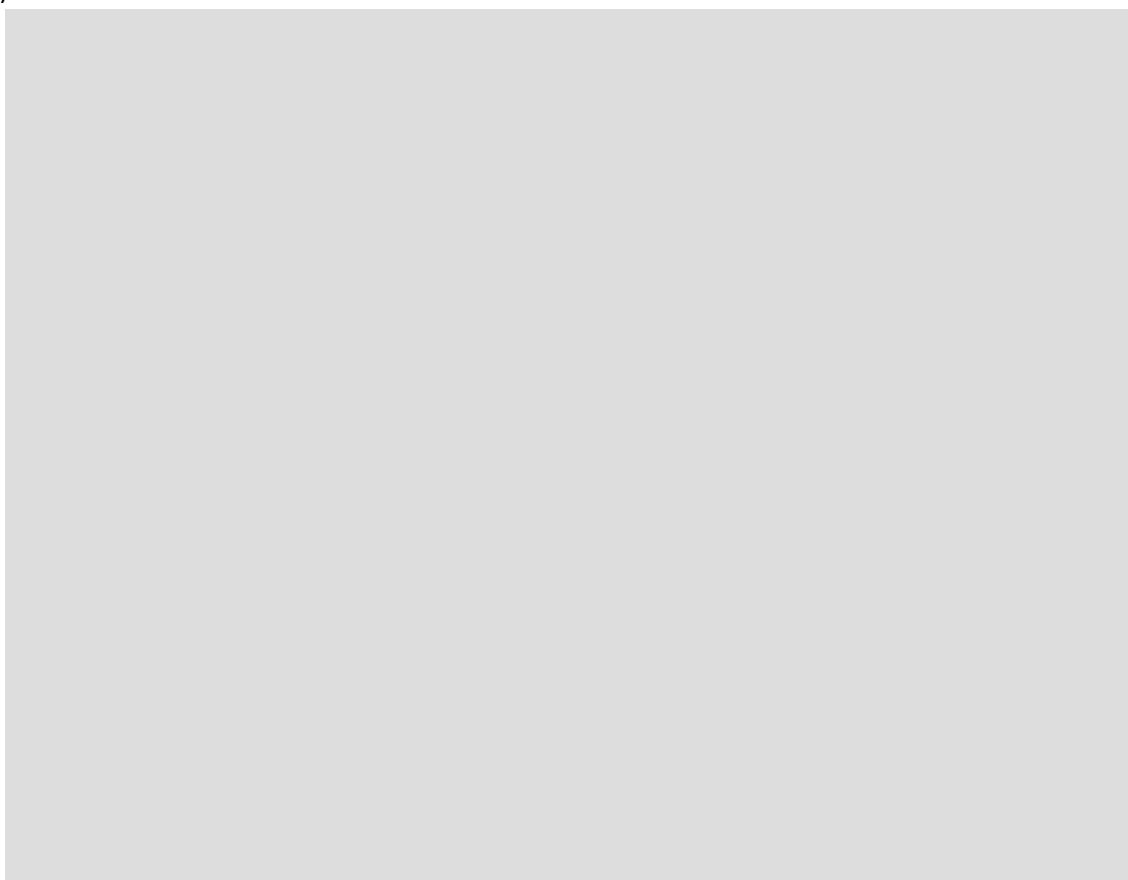
### 3.3.8. Preparació de 40a

Per a la preparació dels derivats cíclics de la *combretastatina A4* es tracten els èsters corresponents amb una solució [redacted] en el si de metanol a reflux. D'aquesta manera l'èster **106** permet obtenir la [redacted] **40a** amb un 53% de rendiment quan **106** es tracta amb una solució aquosa [redacted] en el si de metanol a reflux durant 5 dies (Esquema 89) (Taula 13, Entrada 1).



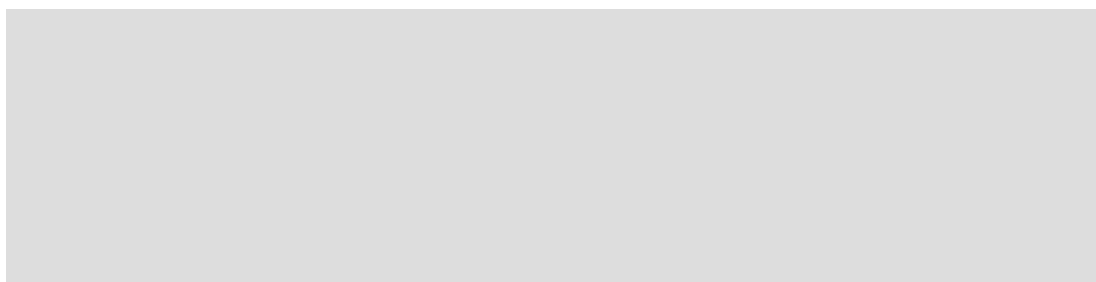
Esquema 89

La formació de l'anell de [redacted] transcorre mitjançant una addició de *Michael* de la [redacted] sobre l'èster [redacted], seguida de ciclació intramolecular mitjançant un mecanisme d'addició-eliminació. Tot i que el mecanisme de reacció pot explicar-se mitjançant dues vies possibles, depenent de si l'addició nucleòfila de [redacted] té lloc primerament en el carbonil o en el doble enllaç, es creu que sota aquestes condicions de reacció l'addició [redacted] s'inicia sobre el doble enllaç de l'acrilat de metil **106** i per últim es produeix l'atac de [redacted] sobre el carbonil, per tal de formar el cicle [redacted] (Esquema 90).



Esquema 90

Cal destacar que els baixos rendiments d'obtenció dels productes procedents de la ciclació intramolecular amb un nucli de  , en part, és deu a la dificultat de purificació dels productes finals. En aquest sentit tot i comprovar que el producte és pur per tècniques d'RMN, s'observa la presència de dues taques en la CCF de manera constant i repetitiva. Això pot deure's a la presència de formes tautomèriques en el producte final entre el carbonil i el nitrogen tal i com s'indica a continuació (Esquema 91), dificultant el procés de purificació mitjançant columna cromatogràfica en gel de sílice ja que les dues formes hi interaccionen de manera diferent. Aquesta tautomeria es veuria catalitzada pel caràcter àcid de la fase estacionària usada.<sup>161</sup>



Esquema 91

Per tal d'optimitzar la síntesi dels derivats procedents de la ciclació intramolecular s'estudia la seva formació mitjançant diferents condicions de reacció tal i com s'indica a la Taula 13, però en cap dels casos el rendiment és superior al que s'obté mitjançant les condicions descrites anteriorment.

Taula 13: Resum de les condicions de ciclació per a la formació de l'anell de   partint de l'èster **106**.

Entrada	Tècnica	p.p.	Reactiu	Dissolv.	Temps	t <sup>a</sup> (°C)	Resultat	R.
<b>1</b>	Clàssic	<b>106</b>	<span style="background-color: #cccccc; padding: 0 5px;"> </span>	MeOH	7 d.	80	<b>40a</b>	53%
<b>2</b>	Clàssic	<b>106</b>		MeOH	3 d.	80	<b>106 + 124</b>	-
<b>3</b>	Clàssic	Cru de 2(a)		DMF	16 h.	100	<b>40a</b>	23%
<b>4</b>	Clàssic	<b>106</b>		MeOH	16 h.	80	<b>40a</b>	8%
<b>5</b>	MW	<b>106</b>		DMF	60 min.	100	<b>40a</b> (traces) + derivat DMF + hidrazina	-
<b>6</b>	MW	<b>106</b>		DMF	30 min.	80	Derivat de DMF + hidrazina	-
<b>7</b>	MW	<b>106</b>		ACN	30 min.	90	<b>125</b>	-
<b>8</b>	MW	<b>106</b>		ACN	1,5 h.	90	<b>126 + 127</b>	-

p.p.: producte de partida; Dissolv.: dissolvent; R. rendiment; MW: microones

Inicialment es manté la temperatura de reflux de metanol i es redueix el temps de reacció de 7 a 3 dies (Taula 13, entrada 2) partint de l'èster **106** com a producte de partida,   com a nucleòfil i metanol com a dissolvent. Sota aquestes condicions s'observa que la reacció és incompleta ja que es recupera el producte de partida **106** i a més, s'observa l'intermediari **124** procedent de l'addició   al doble enllaç sense finalitzar la ciclació.

<sup>161</sup> F. Aguilar-Parrilla; R. M. Claramunt; C. López; D. Sanz. H. H. Limach; J. Elguero. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 8752-8760.

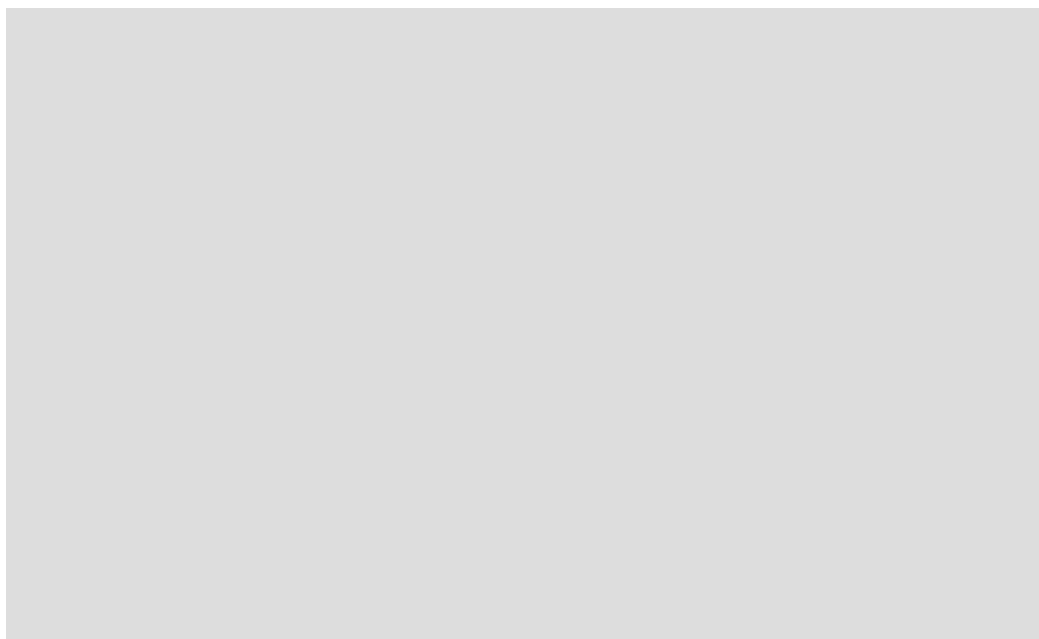
Per tal d'obtenir l'anell esperat es sotmet el cru anterior a 100 °C en el si de DMF (Entrada 3), condicions que permeten l'obtenció del producte esperat **40a** amb un 23% de rendiment.

Si es repeteixen les condicions anteriors però disminuint el temps de reacció (Taula 13, entrada 4) fins a 16 hores, s'obté el compost **40a** en molt baix rendiment.

A continuació, s'intenta realitzar la reacció assistida per microones durant 60 minuts a 100 °C en el si [redacted] com a reactiu i dissolvent, però el producte de partida **106** presenta problemes de solubilitat, de manera que s'utilitza DMF com a dissolvent (Taula 13, entrada 5), condicions que condueixen a l'obtenció d'un adducte entre la [redacted] i la DMF mentre que només s'observen traçes de **40a**. Quan el temps de reacció es redueix a 30 minuts també s'obté el mateix resultat (Taula 13, entrada 6).

Per tal d'evitar la formació d'aquest subproducte es canvia el dissolvent per acetonitril (Taula 13, entrada 7) i es redueix el temps de reacció a 30 minuts i la temperatura a 90 °C. En aquest cas tampoc s'obté el producte final esperat sinó que s'aïlla la cetona **125**, atribuïble a l'addició de la [redacted] al carbonil seguida de l'addició d'aigua al doble enllaç provinent del reactiu [redacted], que en les condicions de la reacció s'oxida a cetona.

El mecanisme de formació de la cetona **125** pot descriure's de la manera següent: primerament es forma un intermediari derivat de l'addició [redacted] al carbonil. A continuació s'addiciona al doble enllaç una molècula d'aigua provinent del reactiu [redacted]. L'aigua ataca com a nucleòfil a l'acrilat [redacted] mitjançant una addició 1,4 generant l'alcohol, que espontàniament s'oxida a cetona (Esquema 92). Aquesta cetona evita que la [redacted] pugui finalitzar la ciclació. Per tal que això no passi caldria eliminar l'aigua del cru de la reacció (afegint per exemple Na<sub>2</sub>SO<sub>2</sub> o amb APTS i/o toluè acoblat a un sistema de *Dean-Stark*).



Esquema 92

Per tal de confirmar si la formació de la cetona **125** es degut a l'ús [redacted] en solució aquosa, es va emprar [redacted] anhidra (Taula 13, entrada 8) usant també irradiació per microones i acetonitril com a dissolvent a 90 °C durant 1,5 hores. En aquest cas tampoc es forma el producte **40a**, sinó que s'observa un procés de retrosíntesi i de retorn als productes de partida, que posteriorment *in situ*, per reacció amb [redacted] present en el medi, condueixen a la [redacted] **126** i a la [redacted] **127** (Esquema 93).



Esquema 93

Una de les alternatives que es planteja per a la preparació dels derivats de *combretastatina* que incorporen un anell de [redacted] és la ciclació directament des de l'àcid acrílic intermediari abans de la seva esterificació. A més a més, l'ús de l'àcid carboxílic enlloc de l'èster genera una disminució en l'electrofilia del carbonil, de manera que la [redacted] en lloc d'addicionar-se preferentment sobre ell ho farà també en el doble enllaç, fet que reduiria la formació de la dicetona.

Taula 14: Resum de les condicions de ciclació per a la formació l'anell de [redacted] partint de l'àcid **103**.

Entrada	Tècnica	pp.	Reactiu	d.	Temps	tª (°C)	Resultat	R.
<b>1</b>	MW	<b>103</b>	[redacted]	ACN	2 h. 15 min.	90	<b>125</b>	-
<b>2</b>	MW	<b>103</b>	[redacted]	DMSO	30 min.	100	<b>101 + 102</b>	-
<b>3</b>	MW	Cru 2(a)	APTS (qc)	Toluè	1 h. 10 min.	100	<b>101 + 102</b>	-

pp.: producte de partida; d.: dissolvent; R. rendiment; MW: microones

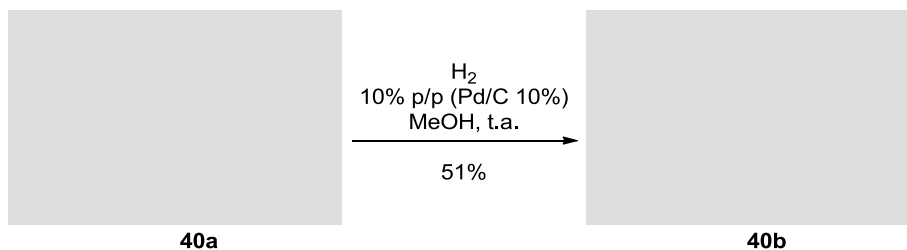
Per això, es sotmet l'àcid **103** a 90 °C durant 2 hores i quart amb [redacted], en el si d'acetonitril, i amb l'assistència de microones (Taula 14, entrada 1) per tal d'obtenir el producte **40a**, però en lloc d'aquest s'obté de nou la dicetona **125** (Esquema 92).

Una de les variacions que s'estudia per tal d'obtenir el producte desitjat és el canvi de dissolvent d'ACN a DMSO i reduïnt el temps de reacció a 30 minuts escalfant a 100 °C (Taula 14, Entrada 2). En aquestes condicions no s'observa tampoc el compost **40a** sinó que es recuperen l'àcid **101** i l'aldehid **102** (Esquema 69) provinents de la degradació de l'èster **106** (Esquema 73). Al cru obtingut se li afegeix APTS (q.c.) en el si de toluè i s'escalfa a 100 °C durant 1 hora i 10 minuts (Taula 14, Entrada 3). Tal i com passava en altres intents, no s'obté el producte final esperat sinó que s'observa el trencament del producte de partida. És conclou doncs que les primeres condicions assajades (Taula 13, entrada 1) són les que permeten obtenir el producte **40a** final amb millors rendiments.

### 3.3.9. Preparació de 40b

#### 3.3.9.1. Preparació de l'anàleg cíclic 40b a partir de 40a

Un cop obtinguda la [redacted] **40a** es procedeix a la *O*-desbenzilació mitjançant una hidrogenació catalítica amb addició d'hidrogen gasós catalitzat per pal·ladi carbó al 10% en pes, per obtenir el producte **40b** amb un 95% de rendiment (Esquema 94). Quan es purifica el compost el rendiment disminueix fins al 51% degut a la difícil purificació tal i com s'ha explicat en el cas del producte de partida.



Esquema 94

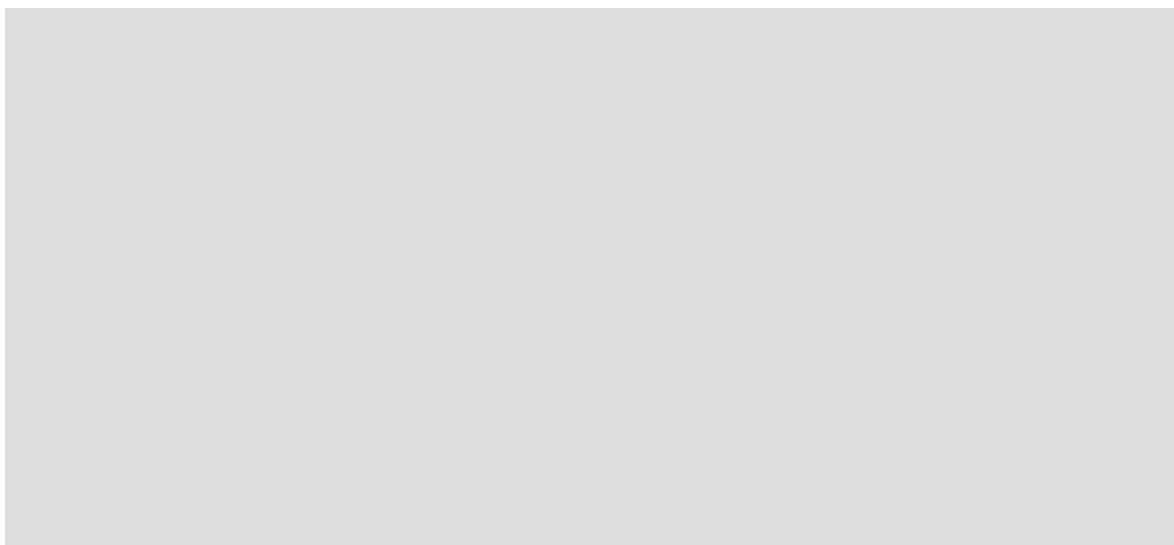
### 3.3.9.2. Preparació de l'anàleg cíclic 40b a partir de 34

La retrosíntesi plantejada pel compost **40b** inicialment comprèn la benzilació del fenol de l'aldehid comercial **102** per tal de disminuir la seva reactivitat en les posteriors etapes de síntesi i millorar el rendiment global, i finalment una etapa de desbenzilació mitjançant una hidrogenació catalítica. Paral·lelament, s'estudia la preparació del mateix compost sense aquesta protecció de manera que es redueix la síntesi global en dues etapes, el cost implicat i també la perillositat al laboratori ja que no es requereix l'ús d'hidrogen, gas altament explosiu. Per aquest motiu es parteix de l'èster **34** i es fa reaccionar amb  , en el si de metanol, a reflux durant 5 dies, que condueix a **40b** amb un 62% de rendiment (Esquema 95).



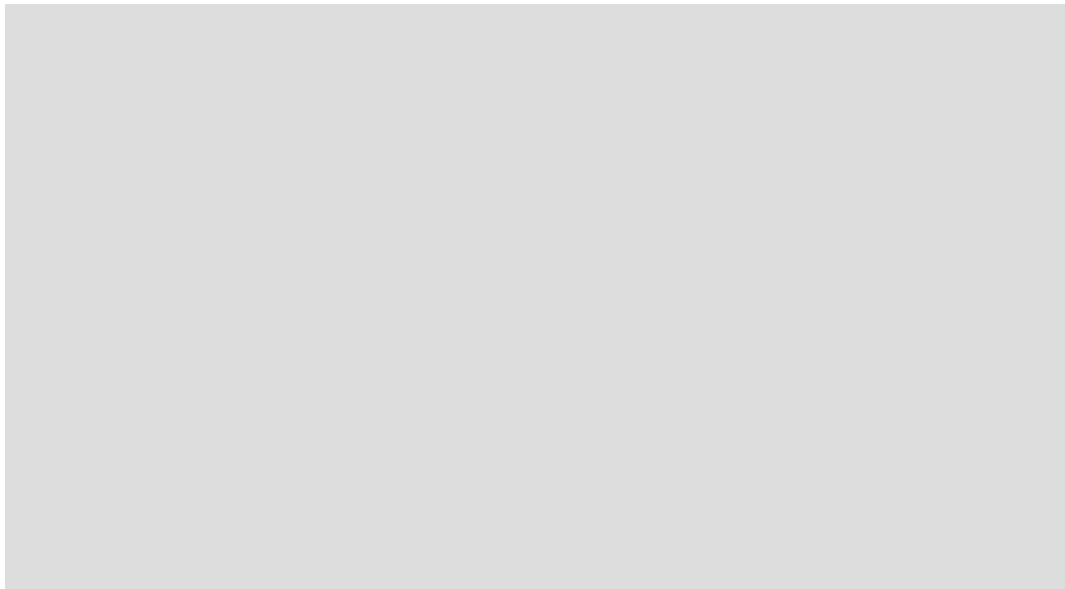
Esquema 95

El rendiment global d'obtenció de **40b** mitjançant la ruta de protecció és del 8% en el cas que es purifiquin totes les etapes, i del 31% si s'obvia la purificació en el pas de formació de l'anell de   i és fa només en l'últim pas de síntesi. Ambdós rendiments engloben 5 etapes de síntesi a partir de l'àcid carboxílic **101** i l'aldehid **104** (Esquema 96).





Esquema 96

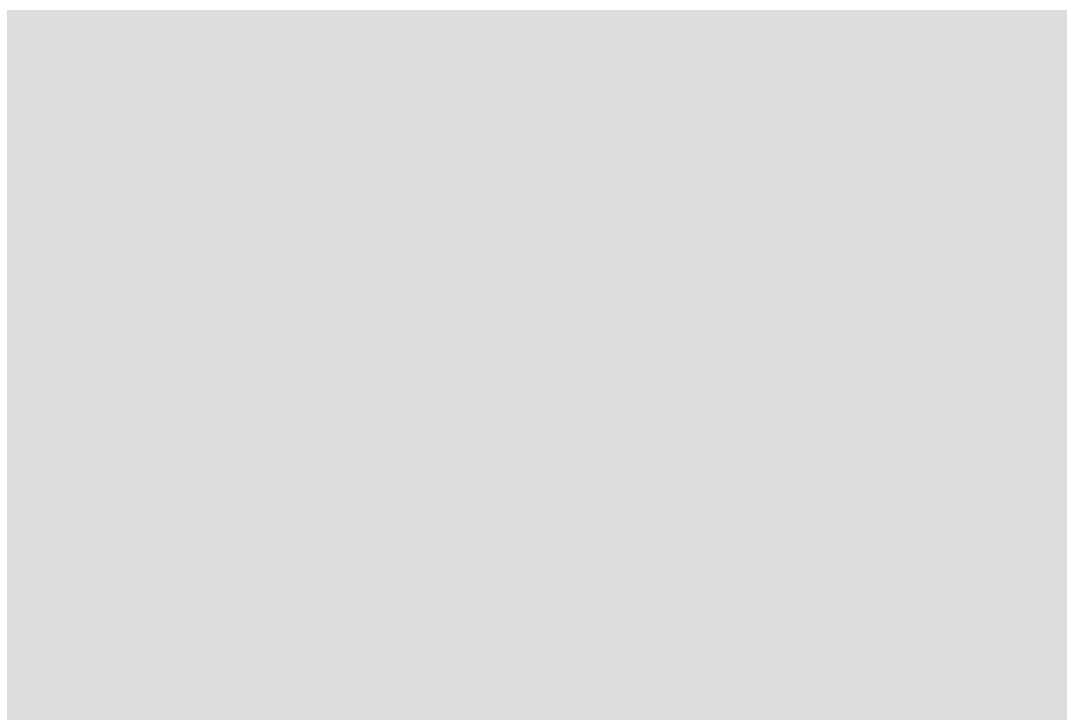
En el cas de la via sense protecció, el rendiment global és del 23% en tres etapes de síntesi partint dels mateixos productes comercials que en el cas anterior (Esquema 97). Per tant es conclou que la no protecció del fenol inicial **104** disminueix el rendiment però no de manera dràstica. Tanmateix, la falta de protecció permet l'economització de recursos i disminució del temps i perillositat de la síntesi.



Esquema 97

### 3.3.9.3. Preparació de l'anàleg cíclic 40b a partir de 105

Finalment, i tenint en compte que per aquest tipus de síntesi la irradiació per microones no ha aportat cap benefici, es procedeix a la ciclació de l'àcid **105** en condicions tèrmiques clàssiques emprant  i carbonat com a base, en el si de toluè, a reflux durant 4 dies. A més a més, s'hi afegeix DCI per tal d'activar l'àcid i millorar la reactivitat d'aquest amb  (Esquema 98).



Esquema 98

En aquestes condicions tampoc s'obté el producte **40b** sinó que s'observa la formació del derivat de la [redacted] amb la DCI **128**.

Una de les qüestions que podrien plantejar-se és el pas de l'àcid **105** al clorur corresponent per tal d'augmentar la reactivitat del grup carbonil i afavorir així la ciclació intramolecular, però en condicions àcides o en presència de clorurs el fenol és susceptible d'oxidar-se a la forma de quinona. És per això que cal usar medi bàsic, l'èster o l'àcid en presència de DCI.

### 3.3.10. Preparació de 41

Tal i com s'ha fet amb l'èster **106**, es tracta el nitroderivat **39** amb una solució [redacted] aquosa, en el si de metanol, a reflux per tal d'obtenir [redacted] **41** amb un 12% de rendiment. (Esquema 99). Cal destacar que inicialment s'esperava la formació del compost **129**, però aquest no es detecta ja que en les condicions assajades es produeix una oxidació que condueix a **41**. La [redacted] **41** s'obté a partir dels productes comercials **101** i **123** en tres etapes i amb un rendiment global del 2,2%.

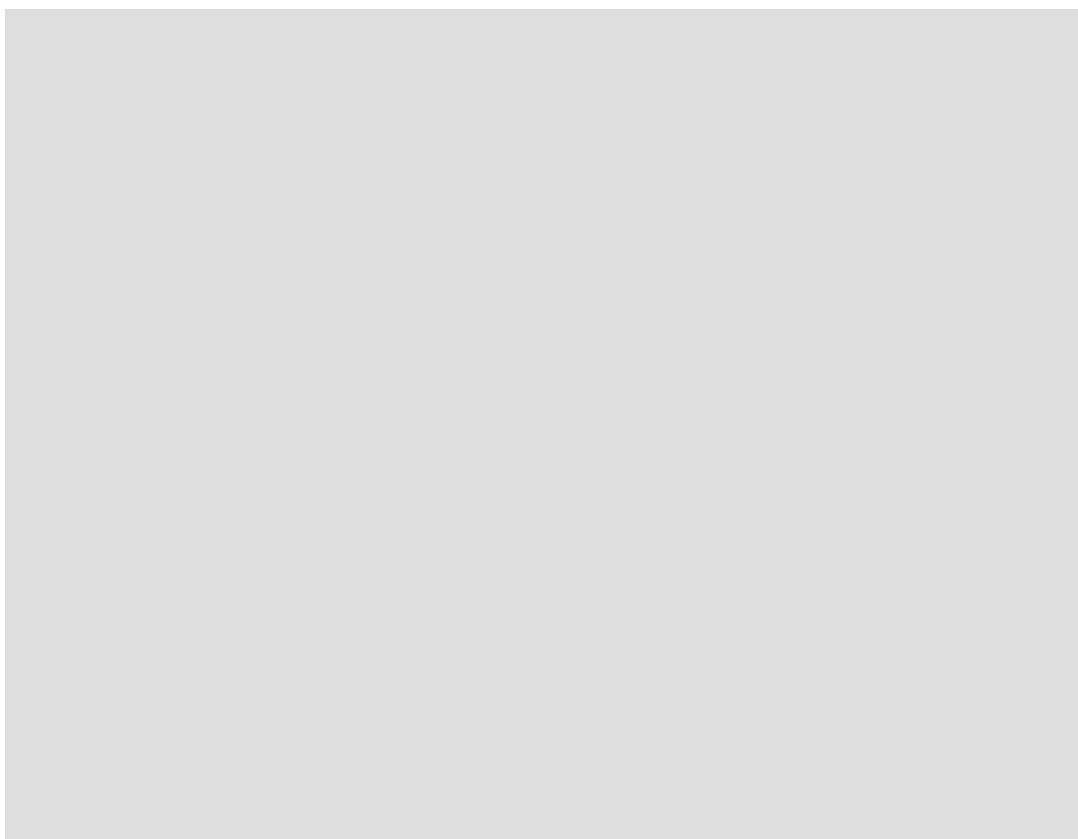


Esquema 99


Les [redacted] **40a** i **40b** que contenen un grup hidroxil i *O*-benzil respectivament a la posició C-3'' no experimenten l'oxidació de l'anell de [redacted] com ho fa **129**. Mentre que el grup hidroxil i *O*-benzil tenen caràcter donador d'electrons per efecte ressonant, el grup NO<sub>2</sub> genera una bipolarització de l'enllaç de [redacted] molt més elevada i facilita la seva oxidació, que d'altra banda es veu també afavorida per la conjugació final adquirida pel sistema juntament amb els dos anells aromàtics del producte final. A més a més, l'excés [redacted] present en el medi de reacció afavoreix aquest procés oxidatiu.

### 3.3.11. Preparació de 42a i 42b

Un cop obtingut el compost **40b** i veient l'elevada activitat que presenta en els assajos biològics d'Eli Lilly, es procedeix a la síntesi de nous derivats mitjançant la funcionalització del nitrogen i/o el fenol per tal de poder obtenir una llibreria de compostos, que permetin fer un estudi de les relacions estructura-activitat i alhora avaluar les modificacions de les propietats farmacocinètiques i fisicoquímiques dels diferents productes. Els derivats dissenyats originalment es mostren en l'Esquema 100.



Esquema 100

L'acilació de l'àtom de nitrogen-4 de l'anell de  **40b** es duu a terme amb anhídrid acètic com a agent alquilant i trietilamina com a base, en el si de diclorometà, durant 16 hores i a temperatura ambient, però sota aquestes condicions no s'obté el producte final esperat **42b** sinó el de la doble acilació **42a** (Esquema 101) amb rendiments de 6,5%.



**40b**

**42a**  
6,5%

**42b**  
0%

Esquema 101

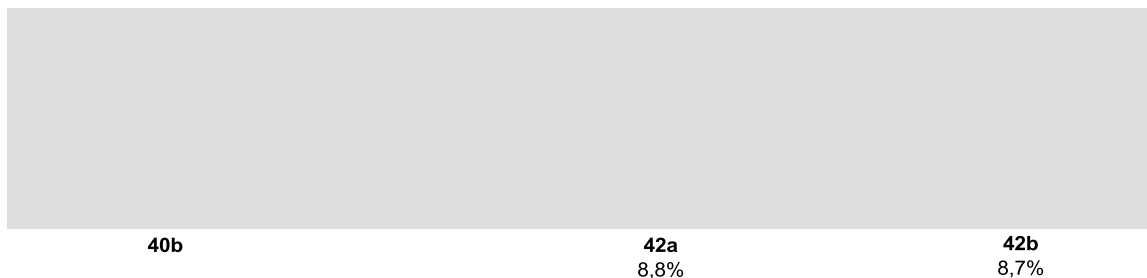
Per tant es procedeix a aplicar les condicions de reacció de *Schotten-Baumann*,<sup>162 - 164</sup> que consisteixen en realitzar l'acilació en un sistema bifàsic (aigua-diclorometà) en presència de base (Esquema 102). La base (NaOH) en la fase aquosa neutralitza l'àcid generat en la reacció, mentre que els productes de partida i els productes finals resten en la fase orgànica. La presència de la base i del medi aquós permeten la formació d'amides per acilació químiaselectiva en presència de fenols o alcohols. Malauradament, seguint aquestes condicions tampoc s'obté únicament el producte derivat

<sup>162</sup> A. Leoncini; J. Huskens; W. V. *Synlett*. **2016**, 27, 2463-246.

<sup>163</sup> S. Vasanti; M. Suman; H. Priyanka. *J. Pharm. Res.* **2009**, 2, 455-457.

<sup>164</sup> A. P. Rajput; P. R. Gore. *Pharma Chem.* **2011**, 3, 409-421.

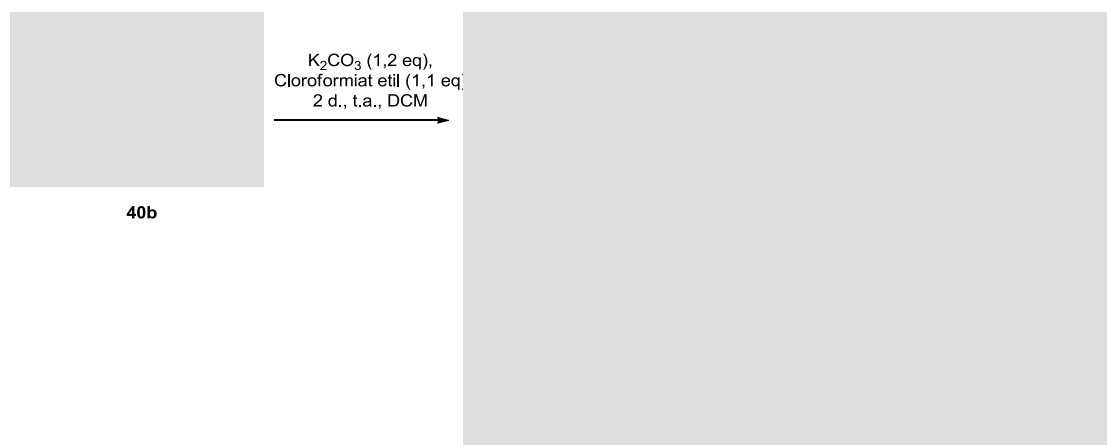
de l'acilació quimiosselectiva sobre el nitrogen, sinó una barreja de productes consistent en el producte de mono (**42b**) i diacilació (**42a**) en proporció 1:1, amb un 8,7% i 8,8% de rendiment respectivament (Esquema 102).



Esquema 102

### 3.3.12. Preparació dels anàlegs 43a i 43b

A continuació, es procedeix a l'acilació del producte **40b** emprant cloroformat d'etil, en el si de diclorometà, i carbonat de potassi com a base tal i com es mostra en l'Esquema 103.



Esquema 103

En aquesta reacció s'obtenen els dos possibles isòmers de posició en els quals el grup acilat és el nitrogen-1 o el fenol de la posició C-3'' respectivament, amb un 17% i un 7% de rendiment respectivament.

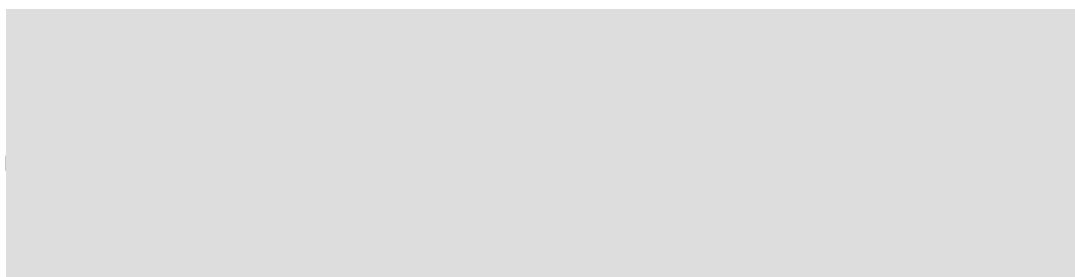
L'espectroscòpia de masses permet veure que també es formen traces del producte **130** derivat de l'acilació del fenol i del nitrogen 1 alhora.

Per espectre d'RMN de protó podem diferenciar els dos isòmers de posició atès que la senyal del CH<sub>2</sub> corresponent a la cadena incorporada surt més apantallada en el cas que l'heteroàtom acilat sigui el nitrogen. D'aquesta manera quan es tracta del compost **43a** en que s'acila el nitrogen, el CH<sub>2</sub> de la cadena etílica del carbamat (N-CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) apareix a 4,11-4,18 ppm, mentre que quan es tracta de l'oxigen (compost **43b**) apareix a 4,27-4,35 ppm. De la mateixa manera i tal com s'indica a la Taula 15 (A) els protons aromàtics H-2'', H-5'' i H-6'' pateixen un efecte de desapantallament quan el fenol es troba acilat ja que disminueix l'efecte donador d'electrons per part de l'àtom d'oxigen, que passa a tenir els electrons conjugats amb el carbonil incorporat (Figura 50).

Taula 15: Desplaçaments de l'espectre d'RMN de  $^1\text{H}$  (A) i de RMN de  $^{13}\text{C}$  (B) en ppm dels compostos **43a** i **43b**.

A. Desplaçaments de l'espectre d'RMN de $^1\text{H}$				B. Desplaçaments de l'espectre d'RMN de $^{13}\text{C}$		
Àtom/grup	Multiplicitat	Desplaçaments (ppm)		Àtom/grup	Desplaçaments (ppm)	
		<i>N</i> -acilat ( <b>43a</b> )	<i>O</i> -acilat ( <b>43b</b> )		<i>N</i> -acilat ( <b>43a</b> )	<i>O</i> -acilat ( <b>43b</b> )
CO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	ba/m	1,22	1,35-1,42	CO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	14,1	14,0
CO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	m	4,11-4,18	4,27-4,35	CO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	62,3	64,9
H-2	m	2,88-2,93	2,90-2,98	C=O-NH-NH	173,3	175,0
H-3	m	3,34-3,41	3,37-3,44	C=O-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	156,9	156,9
H-2', H-6'	s	6,49	6,62	C4	38,7	29,6
H-2''	s	6,71	6,97	C5	53,1	49,1
H-5''	d/dd	6,68	6,81	C1'	132,6	133,6
H-6''	d/dd	6,55	6,69	C-2', C-6'	105,5	105,8
				C-3', C-5'	153,9	153,6
				C-4'	145,8	145,8
				C-1''	134,5	132,9
				C-2''	110,9	110,7
				C-3''	137,8	135,7
				C-4''	146,0	149,1
				C-5''	115,4	115,5
				C-6''	121,0	121,1

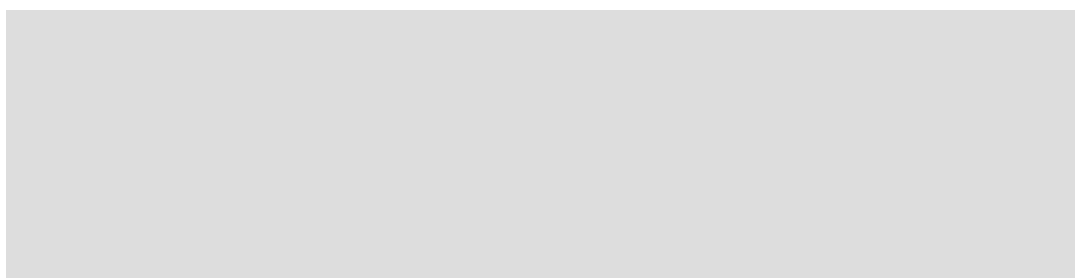
A



43a

43b

B




43a

43b

Figura 50: Desplaçaments de l'espectre d'RMN de  $^1\text{H}$  (A) i d'RMN de  $^{13}\text{C}$  (B) de **43a** i **43b** que permeten identificar els dos isòmers de posició.

Pel que fa a l'espectre de carboni (Taula 15 (B)), els desplaçaments de C-4 i C-5 són els que més es veuen afectats, de manera que en trobar-se el nitrogen acilat en **43a** els senyals apareixen més desapantallades degut a la disminució de la capacitat donadora d'electrons del nitrogen en entrar en conjugació amb el carbonil. El mateix passa amb el desplaçament de C-4'', que es veu desapantallat

quan és l'oxigen que es troba acilat atès que disminueix la riquesa electrònica d'aquesta posició. Pel que fa C-3" pràcticament no varia de desplaçament degut a que la variació electrònica es compensa amb l'impediment estèric aportat pel carbamat.

El baix rendiment de reacció és deu principalment a la difícil purificació dels compostos amb anell de  degut a problemes de solubilitat en els dissolvents orgànics.

### 3.3.13. Preparació de 44

Per a la preparació de **44** es tracta el compost **40b** amb carbonat potàssic, en el sí de DMF, a temperatura ambient amb clorometil clorosulfat (Esquema 104). Sota les condicions assajades no s'obté el producte **131**, sinó la seva forma oxidada amb el doble enllaç **44** amb un rendiment del 18%, procés que té lloc degut a l'efecte atraient d'electrons del grup sulfat incorporat, tal i com passava amb el grup nitro de **41**.



Esquema 104

### 3.3.14. Preparació de 132

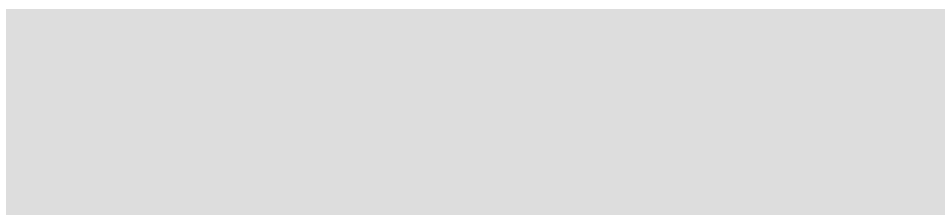
Per accedir al derivat fosforilat de **40b**, aquest es fa reaccionar amb el clorur de fosforil i trietilamina com a base, en el sí d'acetat d'etil, durant 16 hores a temperatura ambient per tal de formar el clorur de fosforil corresponent, que posteriorment s'esterifica amb etanol (Esquema 105). Aquesta metodologia s'ha posat a punt amb la síntesi del compost **117** i ha estat utilitzada satisfactòriament per a la preparació dels derivats **36** i **37** tal i com s'ha explicat anteriorment (Esquema 83 i Esquema 84), però malauradament, en aquest cas no s'aïlla el producte esperat sinó que es recupera el producte de partida inalterat. Tampoc s'observa la formació del compost **133**, fosforilat en el nitrogen 1 de l'anell de pirazolidinona.



Esquema 105

A continuació, es repeteixen les condicions de fosforilació i en lloc de procedir a l'esterificació del fosfat s'intenta generar *in situ* la sal disòdica **134** corresponent per tractament amb metòxid sòdic i metanol (Esquema 106). En aquest cas però tampoc s'obté el producte esperat sinó que es recupera el producte de partida.






40b

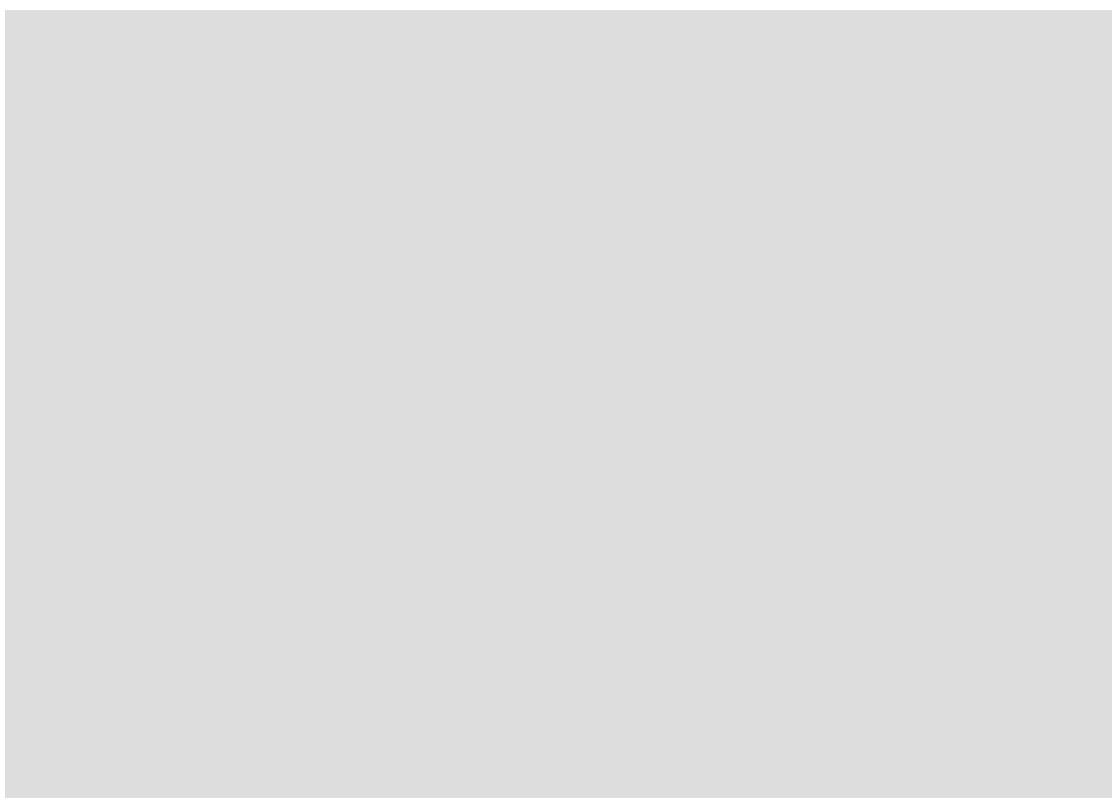
134

Esquema 106

Podem concloure doncs que en aquest cas l'anell de  interacciona desfavorablement en el mecanisme de la reacció de formació del grup fosfat i no en permet la seva introducció, mentre que quan l'estructura no compta amb aquest sistema heterocíclic sí que és possible la reacció de fosforilació.

### 3.3.15. Preparació de 45

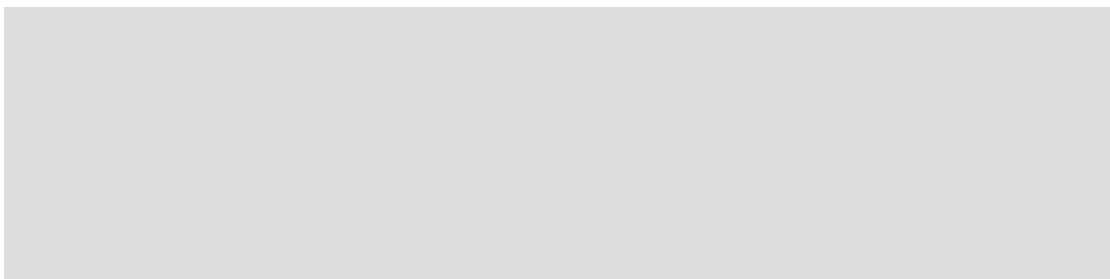
A continuació es proposa la preparació del compost **45** segons l'anàlisi retrosintètica que es mostra a continuació partint dels compostos comercials **140** i **142** (Esquema 107).



Esquema 107


#### 3.3.15.1 Preparació de 139

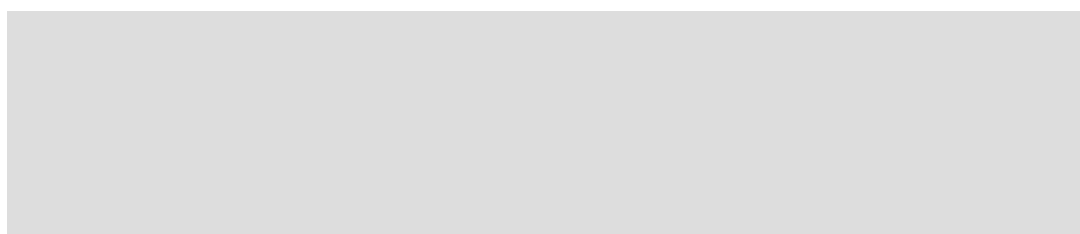
L'aldehid **142** es tracta en primer lloc amb 1,2-dibromoetà en presència de carbonat de potassi com a base i, en el si de DMF, per tal d'aconseguir l'alquilació dels fenols, reacció que cursa amb un 71% de rendiment, generant l'aldehid intermediari **141**. A continuació, l'aldehid es tracta amb iodur de metil en excés com a agent alquilant i carbonat de potassi com a base, en el si de DMF, per tal d'obtenir l'aldehid **139** amb un 90% de rendiment tal i com es mostra en l'Esquema 108.



Esquema 108

### 3.3.15.2. Preparació de 138

Per tal de protegir el grup fenol de l'àcid comercial **140** es duu a terme la benzilació amb bromur de benzil i carbonat de potassi, en el si de DMF, seguit d'un posterior tractament d'hidròlisi de l'èster de l'àcid . Finalment el producte esperat **138** s'aïlla en medi àcid amb un 93% de rendiment (Esquema 109).



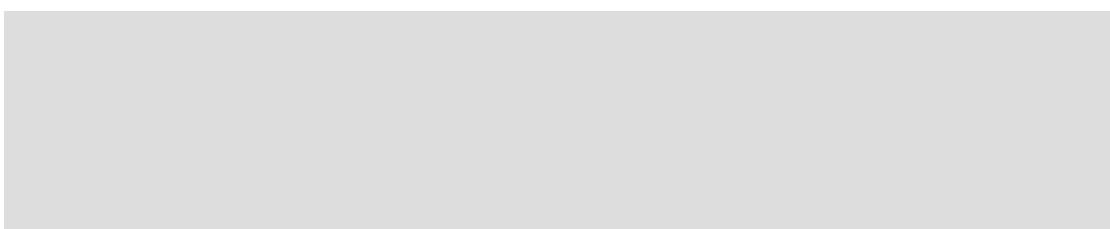
**140**

**138**

Esquema 109

### 3.3.15.3 Preparació de 137

L'àcid **137** s'obté amb un 52% de rendiment per condensació del l'àcid carboxílic **138** i l'aldehid **139** emprant condicions de condensació de tipus *Perkin* en presència de trietilamina en el si d'anhídrid acètic escalfant a reflux (Esquema 110).



**138**

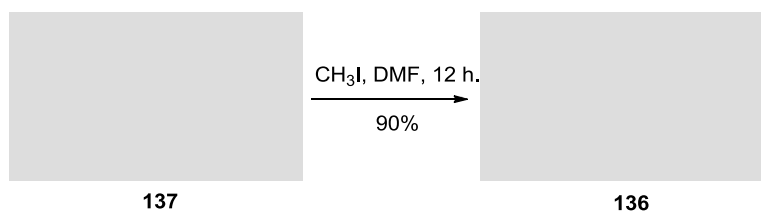
**139**

**137**

Esquema 110

### 3.3.15.6. Preparació de 136

A continuació, es duu a terme l'alquilació de l'àcid **137** sota condicions clàssiques emprant iodur de metil com a agent alquilant i carbonat de potassi com a base, en el si de DMF, i a temperatura ambient (Esquema 111) per obtenir l'èster **136** amb un 90% de rendiment.



Esquema 111

### 3.3.15.7. Preparació de 45

Les condicions citades anteriorment per a la preparació de les **40a-41** s'apliquen a l'èster **136** que condueix a **135** amb un 65% de rendiment.

Tot seguit la *O*-desbenzilació de **135** mitjançant hidrogenació catalítica condueix a la **45** amb un 62% de rendiment (Esquema 112).

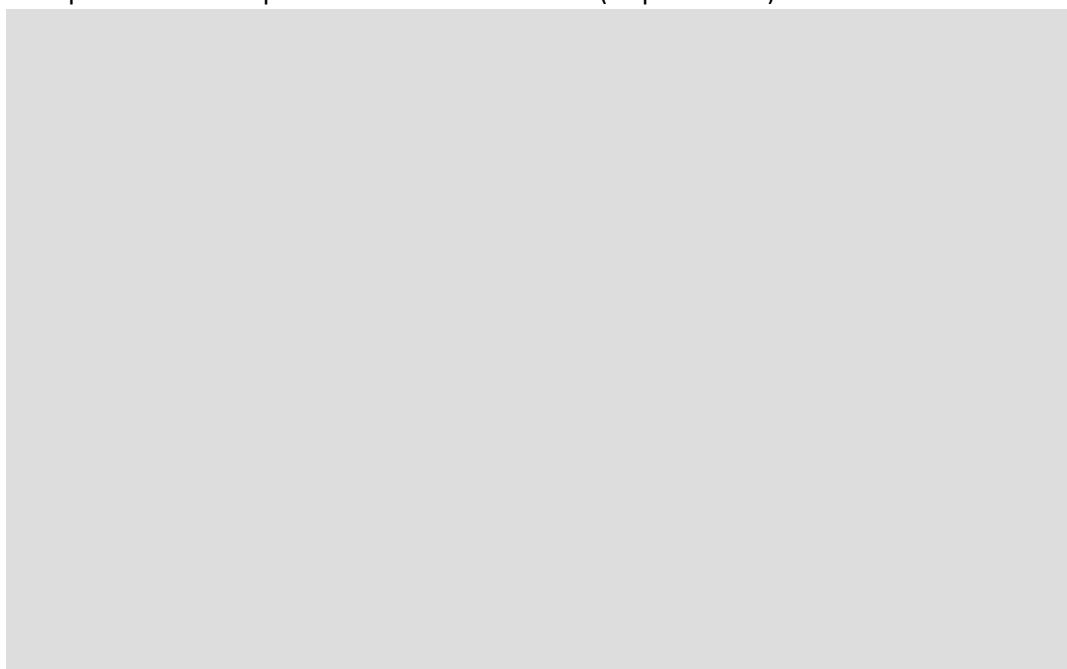


Esquema 112

S'ha aconseguit **45** mitjançant una ruta sintètica de set etapes partint de l'àcid **140** i l'aldehid **142** amb un 11% de rendiment global.

### 3.3.16. Preparació de 46 i 47

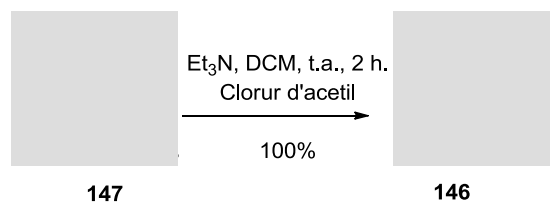
Es proposa la preparació dels compostos **46** i **47** segons l'anàlisi retrosintètica que es mostra a continuació partint dels compostos comercials **101** i **147** (Esquema 113).



Esquema 113

### 3.3.16.1. Preparació de 146

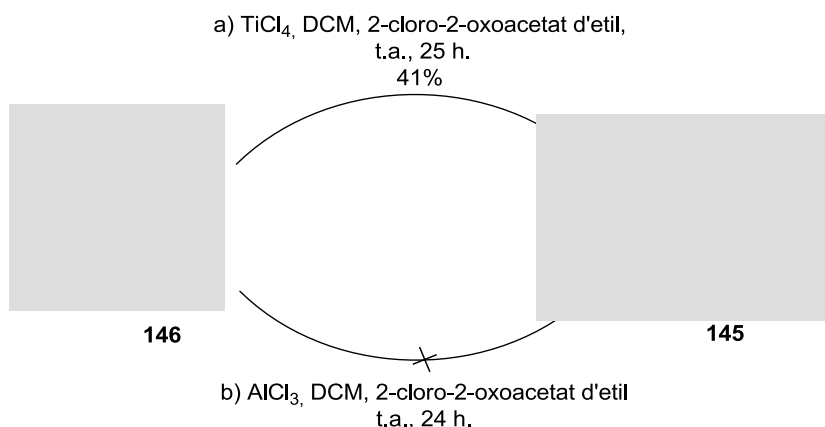
L'acilació del nitrogen de **147** es duu a terme amb clorur d'acetil com a agent alquilant i trietilamina com a base, en el si de diclorometà, durant 2 hores a temperatura ambient. S'obté el producte final **146** amb un 100% de rendiment (Esquema 114).



Esquema 114

### 3.3.16.2. Preparació de 145

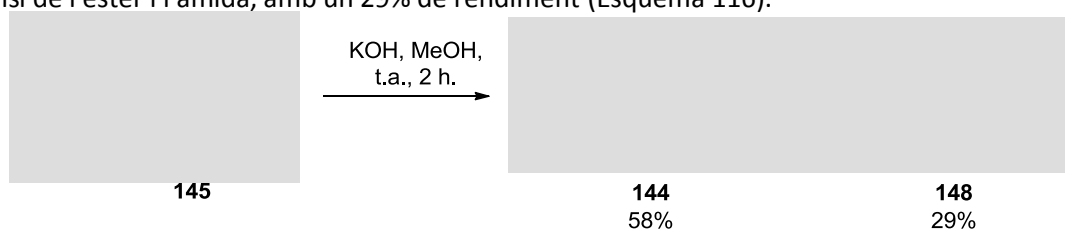
El derivat **146** s'acila en condicions de S<sub>E</sub>Ar mitjançant 2-cloro-2-oxoacetat d'etil i tetraclorur de titani, en el si de diclorometà, a temperatura ambient durant 25 hores. Mentre que en aquestes condicions s'obté **145** amb un 41% de rendiment, quan s'utilitza triclorur d'alumini enlloc de tetraclorur de titani i durant 24 hores de reacció no s'obté el producte esperat **145** sinó que es recupera el producte de partida inalterat **146** (Esquema 115).



Esquema 115

### 3.3.16.3. Preparació de 144

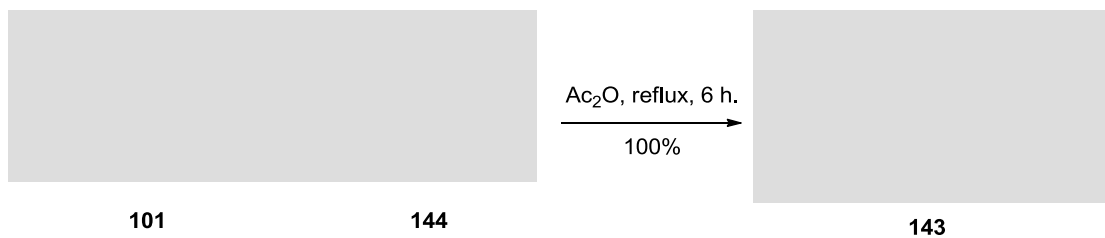
El producte **145** es sotmet a hidròlisi, en medi bàsic, per tal de general l'àcid oxoacètic **144**, que s'obté amb un 58% de rendiment. Sota aquestes condicions també s'obté **148**, procedent de la hidròlisi de l'èster i l'amida, amb un 29% de rendiment (Esquema 116).



Esquema 116

### 3.3.16.4. Preparació de 143

Seguint les condicions de condensació tipus *Perkin* descrites anteriorment es condensen els àcids **101** i **145** generant l'anhídrid disubstituint **143** amb un 100% de rendiment (Esquema 117).



Esquema 117

### 3.3.16.5. Preparació de 46

El compost **46** es va preparar per tractament de **143** amb acetat amoni, en el si de xilè a reflux, en un matràs acoblat d'un sistema *Dean-Stark*, obtenint-se amb un 100% de rendiment, després de mantenir la reacció a reflux durant 24 hores (Esquema 118).

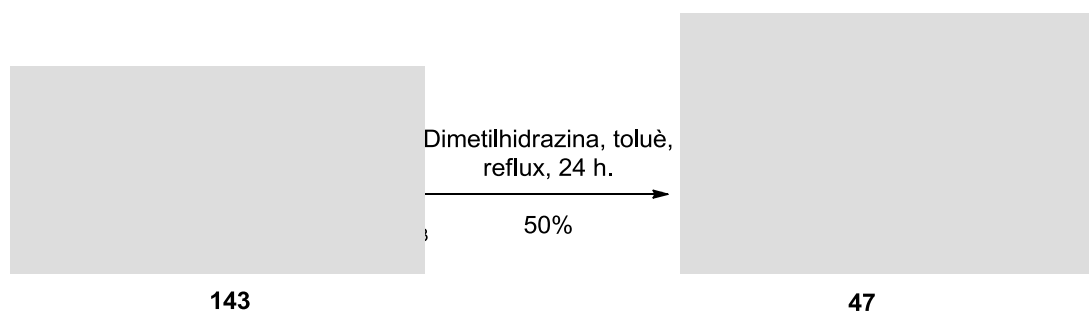


Esquema 118

El rendiment global de les cinc etapes sintètiques que condueixen a **46**, partint dels productes comercials **101** i **147**, és del 24%.

### 3.3.16.6. Preparació de 47

El tractament de l'anhídrid **143** amb dimetilhidrazina, en el si de toluè a reflux, condueix a **47** amb un 50% de rendiment.

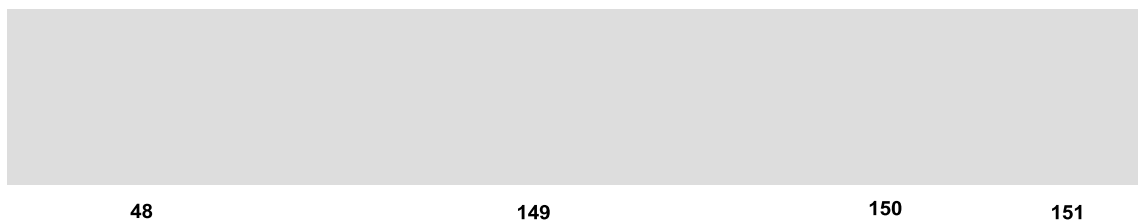


Esquema 119

En aquest cas el rendiment global de les cinc etapes sintètiques que condueixen a **47** partint dels productes comercials **101** i **147** és del 12%.

### 3.3.17. Preparació de 48

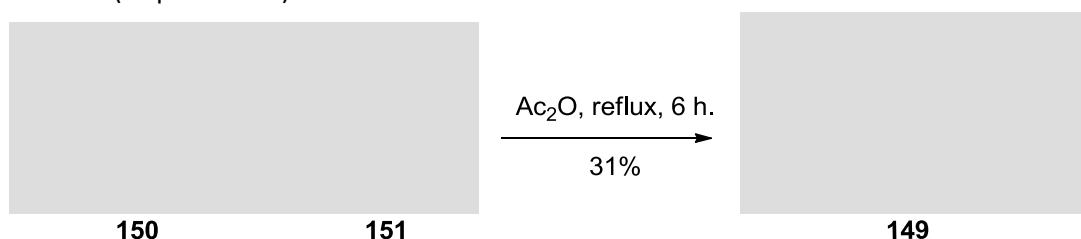
Es proposa la preparació de la **48** segons l'anàlisi retrosintètica que es mostra a continuació partint dels àcids carboxílics comercials **150** i **151** (Esquema 120).



Esquema 120

#### 3.3.17.1. Preparació de 149

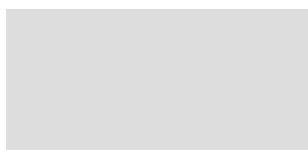
L'anhídrid **149** s'obté per condensació dels àcids comercials **150** i **151** sota les condicions de condensació de tipus *Perkin* descrites anteriorment en aquesta memòria (Esquema 70) amb un 31% de rendiment (Esquema 121).



Esquema 121

#### 3.3.17.2. Preparació de 48

El compost **48** es va preparar amb un 28% de rendiment seguint les mateixes condicions que per a la preparació de **46**, emprant acetat amoni, en el si de xilè a reflux, en un matràs acoblat a un sistema *Dean-Stark* (condicions a)). Es duen a terme també les condicions b) per tal d'obtenir **48** utilitzant amoníac aquós al 25% com a reactiu i dissolvent, però el rendiment d'obtenció del producte final és del 26%, de manera que no presenta una millora respecte de les condicions a) (Esquema 122).



Esquema 122

El rendiment global de les tres etapes sintètiques que condueixen a **48** a partir dels productes comercials **101** i **147** és del 9% seguint les condicions a) en l'última etapa, i del 8% seguint les condicions b) indicades en l'Esquema 122.

Els compostos sintetitzats han estat plenament identificats, analitzats i correctament assignats per diferents tècniques analítiques, i posteriorment s'han enviat als laboratoris corresponents per dur a terme les avaluacions biològiques que permetin determinar el seu potencial terapèutic.

### 3.4. Resultats biològics

Alguns dels compostos preparats durant aquest treball han estat avaluats biològicament pels Laboratoris Eli Lilly (Indianapolis, EEUU). Els compostos seleccionats s'han avaluat enfront a diferents dianes biològiques, atenent l'interès dels mencionats laboratoris. A continuació, s'indiquen els resultats obtinguts de les diferents probes realitzades.

#### 3.4.1. Resultats biològics dels derivats d'arilèters 6 i 7

##### 3.4.1.1. Resultats biològics en diabetis i sistema cardiovascular

La companyia Eli Lilly identifica compostos que inhibeixen l'expressió de la proteïna PCSK9 en varis sistemes cel·lulars, incloent línies cel·lulars d'hepatoma humanes com Huh7, hepatòcits humans primaris i altres com les Hela (càncer de cèrvix).<sup>165</sup>

Els arilèters **6** i **7** presenten una lleugera activitat inhibidòria de PCSK9 inferior al 30% en els dos casos, essent superior la de l'arilèter **7** amb un percentatge d'inhibició del 25,48% respecte del 17,53% del compost **6** (Taula 16)

Taula 16: Determinació de la inhibició de PCSK9

PCSK9 Inhibition (Eff-2) (Diabetes and cardiovascular) Primary SP		
	PCSK9 AlphaLisa Huh7 SP %Inhib @ 5 µM	PCSK9 Huh7 Viability CellTiter-Glo SP %Inhib @ 5 µM
<b>6</b>	<b>-37,61</b>	17,53
<b>7</b>	<b>-57,79</b>	25,48

Huh7: cèl·lules d'hepatòcits humans. SP: Single Point

##### 3.4.1.2. Resultats biològics en immunologia

L'assaig d'autoimmunitat del programa d'Open Innovation Drug Discovery (OIDD) d'Eli Lilly es basa en la mesura de la inhibició proteïna-proteïna (IL17A-PPI)<sup>165</sup> entre la proteïna d'IL17 i l'anticòs específic contra aquest, mitjançant un assaig tipus IL17A AlphaLisa.

L'arilèter **6** presenta activitat inhibidòria d'IL17 a la concentració de 100 µM, amb un percentatge d'inhibició del 85,32% i una IC<sub>50</sub> de 46,72 µM. D'altra banda el compost **7** presenta una pèrdua considerable d'activitat, amb un percentatge d'inhibició del 16,64% (100 µM) (Taula 17).

La comparació d'aquests dos resultats permet determinar la importància de la presència de la cetona en lloc de la funció alcohol. Sembla ser que resulta més encertada la presència d'un grup electròfil com el grup carbonil cetònic que un nucleòfil feble com l'alcohol de la posició 4 de la piperidina.

Taula 17: Determinació de la inhibició d'IL17

IL17 PPI (Immunology)		
	Primary SP IL17A AlphaLisa SP %Inhib @ 100 µM	Primary CRC IL17A AlphaLisa CRC Abs IC <sub>50</sub> (µM)
<b>6</b>	85,32	46,72
<b>7</b>	16,64	-

SP: Single Point. CRC: Concentration Response Curve

<sup>165</sup> <https://openinnovation.lilly.com> (4/05/2017)

### 3.4.1.3. Resultats biològics en malalties tropicals i oblidades

Taula 18: Determinació de l'activitat enfront a tuberculosi

Tuberculosi (Neglected and tropical diseases)	
	Primary SP. TB MIC SP IDRI OIDD %Inhib @ 20 µM
<b>6</b>	22,9
<b>7</b>	16,9

SP: Single Point. CRC: Concentration Response Curve

Tant el compost **6** com el **7** presenten una lleugera activitat antituberculosa amb una inhibició feble del 22,9% i del 16,9% respectivament a concentracions de 20 µM (Taula 18).

### 3.4.2. Resultats biològics dels derivats de *resveratrol* 19-21 i 28-30

#### 3.4.2.1 Resultats biològics en diabetis i malalties cardiovasculars

Els profàrmacs del *resveratrol* estudiats no presenten activitats inhibidores de PCSK9 significatives a excepció de l'anàleg rígid **21**, que presenta una inhibició d'entre el 20 i el 29% en cèl·lules humanes d'hepatoma (Huh7) a concentració de 5 µM (Taula 19).

L'activitat inhibidora de la secreció de PCSK9 dels compostos **19** i **20** s'assagen també en línies de cèl·lules humanes d'hepatoma HepG2 però en aquest cas tampoc presenten activitat significativa. Dels resultats es dedueix que la presència del nitrogen en l'estructura confereix certa afinitat per a PCSK9.

Taula 19: Determinació de la inhibició de PCSK9

PCSK9 Inhibition (Eff-2) (Diabetes and cardiovascular)		
	Primary SP	
	PCSK9 AlphaLisa Huh7 SP %Inhib @ 5 µM	PCSK9 Huh7 Viability CellTiter-Glo SP %Inhib @ 5 µM
<b>21</b>	20,76	28,44
<b>28</b>	-28,2	1,406
<b>29</b>	-84,07	5,205
<b>30</b>	-58,63	9,044

Huh7: cèl·lules d'hepatòcits humans. SP: Single Point

El receptor GPR120 (FFAR4) s'expressa en teixits importants a nivell de malalties metabòliques i diabetis com són el pàncrees, el teixit adipós i el gastrointestinal, i serveix de receptor per a àcids grassos de cadena llarga. Es troba involucrat en la regulació del pes corporal i l'homeòstasi de la glucosa, i quan es presenta un dèficit de la seva funció s'associa amb obesitat i resistència a la insulina. El seu agonisme s'ha postulat com a possible tractament per a la diabetis i altres malalties metabòliques.

Els anàlegs no cíclics **28** i **29** no presenten activitats significatives com a agonistes de GPR120, mentre que el derivat **30** mostra una inhibició del 40% a la concentració de 30 µM. Aquest fet indica que l'augment de polaritat per introducció de substituents d'hidroxietil (compost **29**) és desaconsellable per a aquesta activitat, que en canvi es veu afavorida per grups alquil poc voluminosos. D'altra banda, queda patent també que la presència del fenol lliure de la posició 5 provoca un descens en



l'activitat respecte de quan es troba alquilat (quan el fenol es substitueix per una cadena d'hidroxietoxil l'activitat augmenta 3,8 vegades) (Taula 20).

Taula 20: Determinació de l'agonisme sobre GPR120

GPR120 Agonist (Diabetes and cardiovascular)	
	Primary SP hGPR120 Clone 22 Ca Mobiln Ag SP %Stim @ 30 µM
28	0,7619
29	4,571
30	40

Els anàlegs cíclics del *resveratrol* **19**, **20** i **21** no han mostrat activitat sobre aquesta diana. S'assaja també la capacitat formadora d'os dels compostos **19** i **20** però cap d'ells mostra una activitat osteoblàstica significativa.

SP: Single Point

### 3.4.2.2 Resultats biològics en oncologia

El mòdul fenotípic de *KRAS synthetic lethal* mesura la supervivència de cèl·lules de càncer de colon amb mutacions que activen alhora la senyalització dels oncògens WNT i KRAS, basant-se en el fenomen de la letalitat sintètica, per tal d'identificar compostos que inhibeixin la formació de càncer de colon amb mutacions en KRAS.<sup>165</sup>

Els compostos **19** i **20** han estat assajats en aquest mòdul, i presenten activitats considerables enfront a cèl·lules de càncer de colon HCT116 a concentracions de 20 µM, sense mostrar una diferència significativa entre ells, és a dir, que el fet que els grups funcionals es trobin en forma de fenols o èters, obtinguts per metilació, no implica un canvi important en l'activitat.

Ambdós compostos han mostrat també una lleugera activitat enfront a cèl·lules DLD1 a la concentració màxima assajada, però per contra, no han mostrat capacitat inhibidora en cèl·lules SW480 (Taula 21).

Taula 21: Determinació de la inhibició de KRAS-WNT

	KRAS-WNT SL											
	Primary SP									GSK3b inh pretreated_Viability ATP HCT116		
	Basal_Viability ATP DLD-1			Basal_Viability ATP HCT116			Basal_Viability ATP SW480					
	0,2 µM	20 µM	2n µM	0,2 µM	20 µM	2µ M	0,2 µM	20 µM	2 µM	0,2 µM	20 µM	2 µM
<b>19</b>	8,7	14,9	8,7	0,7	47,4	6,3	-14	-7,5	4,4	-35,9	-15,2	0,5
<b>20</b>	5,8	11,2	3,1	2,7	45,9	3,3	-16,5	-8,2	-2,4	15,6	-7,5	-1,3

DLD-1, HCT116 i SW480: cèl·lules de càncer de colon. SP: Single Point

D'altra banda, aquests dos compostos s'han avaluats per tal de determinar la seva capacitat anti-angiogènica, mostrant ambdós una lleugera activitat a la concentració màxima assajada i no significativament diferent entre ells, és a dir, que en aquest cas tampoc és indispensable la protecció dels fenols per grups alquil poc voluminosos (Taula 22).

L'hexoquinassa 2 és un enzim clau en la via de la glicòlisi, ruta metabòlica utilitzada per les cèl·lules canceroses com a font principal d'energia. Aquest es troba sobreexpressat en molt tumors i la seva

expressió es correlaciona amb l'agressivitat i la mala prognosi del tumor.<sup>165</sup> Els compostos **19** i **20** han estat assajats com a inhibidors d'aquest enzim. S'observa una disminució de dues vegades l'activitat inhibidora a concentracions de 20 µM del compost **20** respecte del **19**, essent aquest el més actiu (Taula 23). Per tant en aquest cas la presència de grups electronegatius, polars i amb capacitat donadora de ponts d'hidrogen genera una pèrdua d'aquesta activitat.

Taula 22: Determinació de la inhibició de l'angiogènesi

Anti-angiogenesis		
	Primary SP VEGF_ADSC\ECFC Angio TubeArea	
	%Inhib @ 10 µM	%Inhib @ 2 µM
<b>19</b>	15,7	-11,2
<b>20</b>	13,8	-12

SP: Single Point

Taula 23: Determinació de la inhibició d'HK2

Hexokinase 2 (HK2) Inhibitor	
	Primary SP hHK2 ADP-FP
	%Inhib @ 20 µM
<b>19</b>	22,3
<b>20</b>	11,8

SP: Single Point

L'enzim Nicotinamida *N*-MethylTrasferassa (NNMT) és un enzim metabòlic associat al càncer que catalitza la transferència de grups metil i la seva sobreexpressió està associada a resistència a la quimioteràpia i la radioteràpia, així com a l'agressivitat del tumor.<sup>165</sup>

Els compostos **19**, **21**, **28**, **29** i **30** no presenten activitat inhibidora d'NNMT. En canvi, el derivat **20** mostra una inhibició del 57% a la concentració de 10 µM (Taula 24).

Taula 24: Determinació de la inhibició d'HNNMT

HNNMT inhibitor (Oncology)		
	Primary SP	
	hNNMT MNAN SP %Inhib @ 10 µM	hNNMT SAH SP %Inhib @ 10 µM
<b>20</b>	56,57	57,3

SP: Single Point

Comparant les activitats i les estructures dels compostos queda patent que es necessiten grups poc voluminosos i de caràcter electronegatiu com són els fenols per tal de millorar l'activitat enfront a HNNMT, ja que quan al nucli d'estilbè s'hi incorporen metoxils o cadenes alifàtiques més llargues, tot i contenir un alcohol terminal en aquestes, l'activitat és negligible (compostos **28** - **30**).

ATG4B és una cistein-proteassa necessària per l'autofàgia, procés que es creu cada cop més important en les cèl·lules canceroses per la seva supervivència en condicions de falta de nutrients típiques dels microambients tumorals. Es pensa que la seva inhibició pot potenciar els tractaments quimioteràpics actuals.<sup>165</sup> En aquest sentit, el compost **20** mostra una lleugera activitat inhibidora d'ATG4B, mentre que el compost **19** no, fet que indica que la presència dels fenols lliures afavoreix aquesta activitat (Taula 25).

D'altra banda l'EZH2 (*Enhancer of Zeste Homolog 2*) és un enzim que actua com a histona metiltrasferassa sobre la histona 3 i forma part del complex PRC2 (*Polycomb Repressive Complex 2*). La metilació que catalitza aquest enzim genera l'expressió i el silenciament de gens supressors de tumors, i la seva sobreexpressió s'ha associat a creixement tumoral, metàstasi i resistència als tractaments quimioteràpics.<sup>165</sup>

Taula 25: Determinació de la inhibició d'ATG4B, EZH2, SetD8 i DNMT1

	ATG4B Inhibitor	EZH2 Inhibitor	SetD8 Inhibitor	DNMT1 Inhibitor
	Primary SP	Primary SP	Primary SP	Primary SP
	hATG4B AlphaLisa	hEZH2_5-mer SPA Inhib	hSETD8 SPA Inhib	hDNMT1 SPA
	%Inhib @ 100 $\mu$ M	%Inhib @ 100 $\mu$ M	%Inhib @ 10 $\mu$ M	%Inhib @ 50 $\mu$ M
<b>19</b>	5,3	22,2	19,57	22,4
<b>20</b>	24,9	27,0	8,518	10

SP: Single Point

### 3.4.2.3. Resultats biològics en immunologia

Taula 26: Determinació de la inhibició d'IL17

IL17 PPI (Immunology)	
	Primary SP
	IL17A AlphaLisa SP
	%Inhib @ 100 $\mu$ M
<b>19</b>	-77,16
<b>20</b>	-84,34
<b>21</b>	44,28
<b>28</b>	28,25
<b>29</b>	21,27
<b>30</b>	57,78

SP: Single Point

Tots els derivats de *resveratrol* assajats, a excepció de **19** i **20**, han presentat un percentatge d'inhibició d'IL17 en l'assaig IL17A AlphaLisa superior al 20% a una concentració de 100  $\mu$ M. La reducció en l'activitat inhibidora observada en comparar el compost **28** i **29**, que passa de ser del 28,25% al 21,27%, posa de manifest que la presència de grups voluminosos en la posició C-5 es desfavorable, essent l'activitat major quan presenta un fenol en lloc del grup d'hidroxietoxil.

La reducció de la capacitat donadora de ponts d'hidrogen en aquesta posició és també favorable per l'activitat inhibidora d'IL17 tal i com s'observa en el canvi del fenol en posició C-5 del compost **28**, al metoxil del compost **30**. A més a més, en aquest cas l'activitat també s'afavoreix per la reducció del volum i la capacitat donadora de ponts d'hidrogen present en el grup substituent de C4'. D'aquesta manera el derivat **30** més lipòfil presentà la màxima capacitat inhibidora d'entre els derivats de *resveratrol*, amb una inhibició del 57,78%, essent 2 vegades major que la del compost **28** i 2,7 vegades major que la del compost **29**. L'anàleg ciclat **21** presenta una inhibició del 44,28% (Taula 26).

### 3.4.2.4 Resultats biològics en dolor i malalties neurodegeneratives

El pèptid CGRP (*Calcitonin Gene-Related Peptide*) és un neuropèptid associat a la migranya, de manera que es troba elevat durant els atacs d'aquesta i els seus antagonistes s'usen com a agents antimigranyosos.<sup>165</sup>

Els compostos **19** i **20** presenten activitats inhibidores de CGRP a concentracions de 30  $\mu$ M, sense mostrar una diferència significativa entre elles. Quan aquesta disminueix fins a 12,5  $\mu$ M només l'anàleg amb el nucli de **19** mostra una lleugera activitat inhibidora, de manera que aquest nucli resulta afavorit respecte del **19**, fet que es podria atribuir a l'augment de lipofília (Taula 27).

Taula 27: Determinació de l'antagonisme del receptor CGRP

CGRP Receptor Antagonist				
	Primary SP hCGRP1 cAMP %Inhib @ 30 µM	Primary CRC hCGRP1 cAMP IC <sub>50</sub> (µM)	Kb (µM)	Secondary hCGRP CHO FB %Inhib @ 12,5 µM
<b>19</b>	54,2	2,413	776,1466	-16.3 19.8
<b>20</b>	59,9	2,772	891,7323	-27.6 4.0

CHO: cèl·lules de càncer d'ovari. SP: Single Point. CRC: Concentration Response Curve

Taula 28: Determinació de la inhibició de Tau

Tau	
	Primary SP hTau_mRuby2 Huh7 TT Inhib SP %Inhib @ 40 µM
<b>19</b>	57,98
<b>20</b>	55,26

Huh7: línies cèl·lules hepatòcits humans. SP: Single Point

La proteïna Tau contribueix a l'estabilització dels microtúbuls i es localitza a nivell del sistema nerviós central. La seva disfunció s'ha associat a malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer i el Parkinson.<sup>165</sup>

Els compostos **19** i **20** han estat assajats per tal d'avaluar la seva capacitat inhibidòria enfront a

Tau i tots dos mostren un inhibició entorn al 55% a concentracions de 40 µM (Taula 28). Un cop més sembla que la metilació no suposa un canvi important en l'activitat.

### 3.4.2.5. Resultats biològics en malalties tropicals i oblidades

Mentre que els anàlegs **19**, **20**, **29** i **30** no presenten activitat significativa com a anti-tuberculosos, amb inhibicions inferiors al 1,7% a concentracions de 20 µM, els derivats **21** i **28** presenten una lleugera capacitat inhibidòria del 14,4% i del 10,8% respectivament (Taula 29).

Taula 29: Determinació de l'activitat enfront a tuberculosi

Tuberculosi (Neglected and tropical diseases)	
	Primary SP TB MIC SP IDRI OIDD %Inhib @ 20 µM
<b>21</b>	14,4
<b>28</b>	10,8

SP: Single Point

El mòdul de malària dels laboratoris Eli Lilly estudia l'activitat dels compostos sobre les formes hepàtiques de *Plasmodium Berghei* i l'activitat parasítica de *Plasmodium Falciparum*. S'estudia també la

citotoxicitat no específica en cèl·lules HepG2 (cèl·lules de càncer hepàtic).<sup>165</sup>

En aquest assaig els anàlegs **19** i **20** no han mostrat activitat significativa en *P. Falciparum* però sí en *P. Berghei*. El compost **19** presenta una selectivitat de 1,5 vegades més per *Plasmodium* que per cèl·lules humanes, mentre que malauradament el compost **20** presenta activitats semblants, essent doncs no selectiu i potencialment més tòxic (Taula 30).

Taula 30: Determinació de l'activitat antimalàrica

Malaria (Neglected and tropical diseases)			
	Primary SP		
	<i>Plasmodium Falciparum</i> DD2 (Malaria parasite) Inh	NV- <i>P.berghei</i> EEF parasite viability HepG2 SP UCSD	HepG2 cytotox SP MMV
	%Inhib @ 12,5 µM	%Inhib @ 10 µM	%Inhib @ 10 µM
<b>19</b>	7,818		
	4,059	50,92	33,89
	18,69	-3,979	17,08
	1,41		
<b>20</b>	-25,32		
	-10,36	31,9	32,37
	-73,85	43,02	31,74
	-26,2		

HepG2: cèl·lules de càncer hepàtic. SP: Single Point

### 3.4.3. Resultats biològics dels derivats cíclics de la *combretastatina A4* 40a, 40b, 41 i 43a

#### 3.4.3.1. Resultats biològics en diabetis i sistema cardiovascular

L'activitat inhibidora de la secreció de PCSK9 dels compostos **40a** i **40b** s'assagen en línies cel·lulars humanes d'hepatoma HepG2. En aquest cas la presència del grup benzil genera una disminució dràstica de l'activitat, ja que el compost **40a** es 9 vegades menys actiu que el derivat **40b**, que presenta el fenol lliure (Taula 31). Aquest fet demostra que la presència d'un grup hidroxil lliure en aquesta posició afavoreix positivament l'activitat sobre PCSK9.

Taula 31: Determinació de la inhibició de PCSK9 en cèl·lules HepG2

PCSK9 Inhibition (Eff-1) (Diabetes & Cardiovascular)		
	Primary SP	
	Basal_PCSK9 HepG2 SP %Inhib @ 5 µM	Basal_PCSK9 HepG2 Cell Health %Inhib @ 5 µM
<b>40a</b>	7,703	-0,4226
<b>40b</b>	70,33	33,94

HepG2: cèl·lules de càncer hepàtic. SP: Single Point

Els compostos **40b**, **41** i **43a** s'assagen en cèl·lules Huh7 i mostren elevada capacitat inhibidora de la secreció de PCSK9 en el mòdul fenotípic PCSK9 dels laboratoris Eli Lilly. En els estudis de resposta en funció de la concentració es determina

que el derivat **40b** és el més actiu, tot i que la variació d'IC<sub>50</sub> entre els tres anàlegs és mínima en l'assaig PCSK9 AlphaLisa (Taula 32).

Aquest fet demostra que la presència d'un grup voluminos sobre el nitrogen i la impossibilitat d'aquest d'actuar com a donador de pont d'hidrogen no són impediment per la seva activitat enfront a PCSK9.

Taula 32: Determinació de la inhibició de PCSK9 en cèl·lules Huh7 (estudis primaris)

PCSK9 Inhibition (Eff-2) (Diabetes and cardiovascular) (Primary)								
	AlphaLisa Huh7 SP	Huh7 Viability CellTiter- Glo SP	AlphaLisa Huh7 SP	Alpha ELISA Huh7 Acumen dead:total SP	AlphaLisa Huh7 CRC	Alpha ELISA Huh7 Acumen dead:total CRC	ELISA Huh7 CRC	Huh7 Viability CellTiter -Glo CRC
	%Inhib @ 10 µM	%Inhib @ 5 µM	%Inhib @ 5 µM	%Inhib @ 5 µM	Rel IC <sub>50</sub> (µM)	Rel IC <sub>50</sub> (µM)	Rel IC <sub>50</sub> (µM)	Rel IC <sub>50</sub> (µM)
<b>40b</b>	-	20,18	71,51	-	0,796	-	-	>40,0
<b>41</b>	74,36	25,11	-	-	1,188	-	-	>40,0
<b>43a</b>	-	-	40,44 69,13	3,678 0,3774	1,572 1,974 2,637 1,614 4,783	>40,0	3,459	>100,0

Huh7: cèl·lules d'hepatòcits humans. SP: Single Point. CRC: Concentration Response Curve

Un cop observada l'elevada inhibició de PCSK9 dels derivats **40b**, **41** i **43a** de CA4 amb IC<sub>50</sub> de l'ordre de µM, els laboratoris Lilly van procedir a realitzar assajos secundaris que avaluen la inhibició de la secreció de PCSK9 en línies cel·lulars de Huh7, HeLa i HPH (hepatòcits humans primaris) sense afectar la viabilitat cel·lular i la secreció de la proteïna Apo-A1 (essent aquesta el major component proteic de les partícules HDL plasmàtiques).<sup>165</sup> En aquest sentit els compostos **40b** i **41** presenten poca selectivitat respecte de la proteïna Apo-A1, ja que són capaços de unir-s'hi amb una IC<sub>50</sub> d'1,014 µM pel compost **40b** i 1,351 µM pel compost **41**. L'anàleg **43a** en canvi, és 11 vegades més selectiu per PCSK9 respecte d'ApoA-1 (Taula 33).

Taula 33: Determinació de la inhibició de PCSK9 en cèl·lules Huh7 (estudis secundaris)

PCSK9 Inhibition (Eff-2) (Diabetes and cardiovascular)					
	Secondary			Confirmatory	
	ApoA-I ELISA Huh7 24 hour QB CRC	ApoA-I PCSK9 ELISA Huh7 CRC	PCSK9 ELISA Hela CRC	PCSK9 ELISA Hela Viability CellTiter-Glo CRC	PCSK9 ELISA HPH CRC
	Rel IC <sub>50</sub> (µM)	Rel IC <sub>50</sub> (µM)	Rel IC <sub>50</sub> (µM)	Rel IC <sub>50</sub> (µM)	Rel IC <sub>50</sub> (µM)
<b>40b</b>	1,014	-	-	-	-
<b>41</b>	1,351	-	-	-	-
<b>43a</b>	>40,0 6,032	3,64	0,9386 3,305	3,497 1,748	>40,0

Huh7: cèl·lules d'hepatòcits humans. HeLa: cèl·lules de càncer de cèrvix. CRC: Concentration Response Curve

Un dels estudis que inclou l'àrea de desenvolupament de fàrmacs per malalties del sistema cardiovascular dels laboratoris Eli Lilly és l'assaig fenotípic de formació d'os, que avalua l'habilitat dels compostos per diferenciar cèl·lules C2C12 murines (que tenen potencial multi llinatge) a fenotip de tipus osteoblast mitjançant estimulació dependent de beta-catenina de l'activitat de fosfatasa alcalina. Els assajos secundaris dins d'aquest mòdul confirmen l'activitat osteogènica en poblacions multi-potents de cèl·lules humanes i de rosegador.

En aquests assajos, el compost **40a** no va mostrar activitat estimulante de l'activitat osteoblàstica, possiblement degut a la protecció del fenol amb el grup benzil. D'altra banda, el compost **40b** presenta una estimulació superior al 50%. A més a més, aquesta estimulació no és dependent de la concentració, ja que quan aquesta disminueix de 10 µM a 2 µM l'estimulació augmenta de 65,2% al 78,6% (Taula 34).

Taula 34: Determinació de la inhibició d'WNT (estudis primaris)

Wnt Pathway Activator (Diabetes & Cardiovascular)				
	Primary SP		Primary CRC	
	WntCondMedia_bCat eninfluor/nucareaC2C 12		Wnt3a_C2C12 Osteogen AlkPhos	Wnt3a_C2C 12 Osteogen b-catenin
	%Stim @ 10 µM	%Stim @ 2 µM	EC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)
<b>40b</b>	65,2	78,6	1,671	1,022

SP: Single Point. CRC: Concentration Response Curve

En els assajos complementaris l'anàleg **40b** mostra una EC<sub>50</sub> de l'ordre de 0,2 µM en cèl·lules Hela (Taula 35).

Taula 35: Determinació de la inhibició d'WNT (estudis secundaris)

Wnt Pathway Activator (Diabetes & Cardiovascular)						
	Secondary. Hela CellCyc					Confirmatory
	2N	4N	MI	Cell Number	G1 Arrest	WntCondMedia_Alk Phos fluor/nucareaADSC
	IC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)	IC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)
<b>40b</b>	0,3069	0,192	0,2923	0,1779	>10,0	0,4499

HeLa: cèl·lules de càncer de cèrvix

### 3.4.3.2. Resultats biològics en oncologia

Segons els resultats, la **40a** presenta una activitat inhibidora de KRAS moderada en cèl·lules HCT116 i SW480 i poca o gens activitat en la resta de línies cel·lulars assajades. D'altra banda, el compost *O*-desbenzilat **40b** mostra elevada activitat en totes les línies cel·lulars i especialment en HCT116, inclús a concentracions baixes (Taula 36). Les relacions estructura-activitat entre aquests dos anàlegs revela que la posició del substituent en C-3'' juga un paper important en l'activitat de

KRAS; es dedueix que petits grups electrodonadors i polars en C-3" generen un increment dràstic d'activitat KRAS.

Taula 36: Determinació de la inhibició de KRAS-WNT

Kras-Wnt SL (Oncology) (Primary)												
	Basal_Viability ATP DLD-1			Basal_Viability ATP HCT116			Basal_Viability ATP SW480			GSK3b inh pretreated_Viability ATP HCT116		
	%Inhib @ (µM)			%Inhib @ (µM)			%Inhib @ (µM)			%Inhib @ (µM)		
	0,2	20	2	0,2	20	2	0,2	20	2	0,2	20	2
<b>40a</b>	10,2	13,6	6,5	1,5	44,3	2,6	-1	29,5	18,4	6,9	9,5	11,3
<b>40b</b>	12,8	50,7	58,3	33,7	97,3	62,4	21	73,1	54,2	1,8	102,6	57,9

DLD-1, HCT116 i SW480: cèl·lules de càncer de colon. SP: Single Point

El mòdul fenotípic d'anti-angiogènesi utilitza cultius de cèl·lules progenitores d'endoteli humà (ECFCs) amb cèl·lules mare d'adult derivades d'adipós (ADSCs) per tal de mesurar la capacitat angiogènica. En aquest assaig els resultats mostren que la **40b** presenta elevada activitat anti-angiogènica amb una inhibició del 100% a la concentració de 2 µM i una IC<sub>50</sub> de 507 nM (Taula 37). Per contra, la **40a** presenta poca activitat anti-angiogènica, fet que posa de manifest que el substituent de la posició C-3" té un paper important també en aquesta activitat.

Taula 37: Determinació de l'activitat antiangiogènica

Anti-Angiogenesis (Oncology)									
	Primary SP		Primary CRC			Secondary			
	VEGF_ADSC\ECFC		VEGF_ADSC\ECFC			Hela CellCyc			
	Angio TubeArea (%Inhib)		Angio TubeArea	Angio NucArea	2N	4N	MI	Cell Number	G1 Arrest
	10 µM	2 µM	IC <sub>50</sub> (µM)	IC <sub>50_NS</sub> (µM)	IC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)	IC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)
<b>40a</b>	38,7	9,8	>10,0	>10,0	-	-	-	-	-
<b>40b</b>	104,9	103	0,5069	>10,0	0,3069	0,192	0,2923	0,1779	>10,0

HeLa: cèl·lules de càncer de cèrvix. SP: Single Point. CRC: Concentration Response Curve

Degut a l'elevada importància que té l'afectació del cicle cel·lular en càncer, s'estudia també com els compostos el poden afectar. Així doncs, l'assaig de cicle cel·lular *G2/M Arrest* mesura el contingut d'ADN, la condensació d'aquet i els nivells de ciclina B, per tal de trobar compostos que inhibeixin la divisió cel·lular en fase G2M i per tant tinguin un efecte antiproliferatiu.

Els resultats mostren que el derivat **40b** mostra una elevada activitat en la fase G2M del cicle i les seves subfases (Taula 38). Això demostra que aquest compost actua com a agent antiproliferatiu per



mecanismes diferents al de la *combretastatina A4*, la qual actua com a agent antimitòtic majoritàriament en fase M (69,78%) en lloc de en fase G2M (30,25).<sup>166</sup>

Taula 38: Determinació de l'efecte sobre el cicle cel·lular

Cell Cycle G-2M (Oncology)						
	Primary CRC					
	Hela CellCyc 2N	Hela CellCyc 4N	Hela CellCyc MI	Hela CellCyc Cell Number	Hela CellCyc G1 Arrest	Hela CellCyc S Phase
	IC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)	IC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)	EC <sub>50</sub> (µM)
<b>40b</b>	0,3069	0,192	0,2923	0,1779	>10,0	-

HeLa: cèl·lules de càncer de cèrvix. CRC: Concentration Response Curve

Assajos complementaris posen de manifest que el derivat **40b** mostra un 27% d'inhibició d'EZH2 a la concentració de 50 µM.


### 3.4.3.3. Resultats biològics en immunologia

Els derivats **40a**, **40b** i **41** mostren una lleugera activitat inhibidora d'IL17 a concentracions de 100 µM, mentre que el compost **43a** no (Taula 39).

Taula 39: Determinació de la inhibició d'IL17

IL17 PPI (Immunology)				
	<b>40a</b>	<b>40b</b>	<b>41</b>	<b>43a</b>
<b>Primary SP. IL17A AlphaLisa SP %Inhib @ 100 µM</b>	12,98	20,99	25,18	-0,9714

SP: Single Point

Això pot indicar que la presència del nitrogen lliure de l'anell de  afavoreix aquesta activitat.

D'altra banda el producte *O*-benzilat **40a** mostra aproximadament la meitat d'activitat que l'anàleg *O*-desbenzilat **40b**, fet que confirma que la presència d'un grup hidroxil en la posició C-3'' facilita l'activitat sobre IL17 en aquesta família de compostos. El compost **43a** per contra sí que actua com a inhibidor de la secreció d'IL5 a concentracions de 10 µM (Taula 40).

Taula 40: Determinació de la inhibició d'IL17 i IL-5

IL17 Secretion (Immunology)			
	Primary SP		
	antiCD3/antiCD28 /IL23_PBMC ELISA IL17 sec Inh	antiCD3/antiCD28/IL 23_PBMC ELISA IL-5 sec Inh	antiCD3/antiCD 28/IL-23_PBMC Cytotox Inh
	%Inhib @ 10 µM	%Inhib @ 10 µM	%Stim @ 10 µM
<b>43a</b>	-10,75	39,86	17,13

SP: Single Point

<sup>166</sup> H. L. Lin; S. H. Chiou; C. W. Wu; W. B. Lin; L. H. Shen; Y. P. Yang; M. L. Tsai; Y. H. Uen; J. P. Liou; C. W. Chi. *J.P.E.T.* **2007**, 323, 365-373.

#### 3.4.3.4. Resultats biològics en dolor i malalties neurodegeneratives

Els compostos **40b**, **41** i **43a** mostren una lleugera activitat inhibidora de Tau a concentracions de 40 µM, essent màxima per a **43a**. Per tan, en comparar les activitats dels compostos **40b** i **43a**, veiem que la presència del nitrogen-1 lliure en l'anell de [redacted] resulta desfavorable. La màxima inhibició la presenta el derivat *O*-benzilat **40**, amb un increment de cinc vegades més d'activitat respecte del producte *O*-desbenzilat **40b** (Taula 41). En aquest cas doncs, i a diferència del que s'ha observar en la resta d'activitats caldria pensar que substituents lipòfils a la posició C-3'' comporten un augment de l'activitat Tau.

La major activitat dels compostos amb grups alquil i aril pot deure's a la major lipofília dels compostos i per tant, a una major absorció cel·lular.

Taula 41: Determinació de la inhibició de Tau

Tau (Neurodegeneration and Pain) (Primary SP)				
	<b>40a</b>	<b>40b</b>	<b>41</b>	<b>43a</b>
<b>hTau_mRuby2 Huh7 TT Inhib SP</b>				
<b>%Inhib @ 40 µM</b>	52,61	10,08	19,51	27,85

SP: Single Point

#### 3.4.3.5. Resultats biològics en malalties tropicals i oblidades

En aquest assaig el compost **40a** mostra una inhibició del 100% de les formes de *P. Falciparum* però molt inferior en *P. Berghei* i cèl·lules humanes (Taula 42). D'altra banda el seu anàleg *O*-desbenzilat **40b** presenta també una elevada activitat en *P. Falciparum*, però també en *P. Berghei* i cèl·lules humanes. Tenint en compte l'estructura dels dos compostos, sembla que la presència de substituents en C-3'' de petita mida i de caràcter polar fa augmentar l'activitat per *P. Berghei* però alhora disminueix la selectivitat enfront a cèl·lules humanes.

Alhora s'observa que el canvi en C-3'' del grup hidroxil pel nitro produeix un descens dràstic en l'activitat enfront a *P. Falciparum* pel compost **42**, mostrant que la presència de substituents atraients d'electrons de **42** resulta menys convenient que la presència de donadors polar com el grup hidroxil de **41**.

El compost **43a** no presenta activitat front a *P. Falciparum*, mentre que aquesta augmenta considerablement enfront a *P. Berghei* quan es compara amb el compost **40**. Per tant, l'acilació del nitrogen-1 de l'anell de pirazolidinona disminueix l'activitat enfront *P. Falciparum* però l'augmenta enfront a *P. Berghei*. Aquesta però també disminueix la selectivitat per les formes del paràsit enfront cèl·lules humanes.

Taula 42: Determinació de l'activitat antimalàrica

Malaria (Neglected and tropical diseases) Primary SP			
	<i>Plasmodium Falciparum</i> DD2 Inh %Inhib @ 12,5 µM	NV- <i>P. berghei</i> EEF parasite viability HepG2 SP UCSD %Inhib @ 10 µM	HepG2 cytoto x SP MMV %Inhib @ 10 µM
<b>40a</b>	106,4		
	108,1	23,86	12,07
	105,5	-14,64	4,916
	105,4		
<b>40b</b>	97,08	77,4	
	91,28	55,8	58,51
	96,89	66,43	54,46
	93,04	46,96	
<b>41</b>	5,717	-	-
	27,52		
<b>43a</b>	-10,83		
	-23,57	63,5	65,83
	-14,35	87,48	56,17
	-23,76		

HepG2: cèl·lules de càncer hepàtic . SP: Single Point

La Taula 43 mostra un resum de les activitats biològiques més destacades des compostos realitzats durant aquest treball i avaluats als laboratoris d'Eli Lilly.

Taula 43: Resultats biològics més significatius realitzats en els Laboratoris Eli Lilly.

	Immunologia	Diabetis i malalties cardiovasculars		Oncologia			Dolor	Malalties neurodegeneratives	Malalties tropicals
Compost	IL17	PCSK9	Activitat osteogènica	KRAS-WNT	HNNMT	Anti-Angiogenesis	CGRP	Tau	Malaria
6	Inh = 85,32% (100 µM) IC <sub>50</sub> = 46,72 µM	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
19	NS	NS	NS	Inh = 47,4% (20 µM) (HCT116)	NR	NR	Inh = 54,2% (30 µM) IC <sub>50</sub> = 2,413 µM	Inh = 57,98% (40 µM)	Inh = 50,92% (10 µM) ( <i>P. berghei</i> )
20	NS	NS	NS	Inh = 45,9% (10 µM) (HCT116)	Inh = 57,3% (10 µM)	NS	Inh = 59,9% (30 µM) IC <sub>50</sub> = 2,772 µM	Inh = 55,26% (40 µM)	Inh = 42,02% (10 µM) ( <i>P. berghei</i> )
21	Inh = 44,28% (100 µM)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
30	Inh = 57,78% (100 µM)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
40a	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	Inh = 52,61% (40 µM)	Inh = 100% (12,5 µM) ( <i>P. Falciparum</i> )
40b	NS	Inh = 71,51% (5 µM) IC <sub>50</sub> = 0,796 µM	Estim = 78,6% (2 µM) EC <sub>50</sub> = 0,4499 µM	Inh = 97,3% (20 µM) (HCT116)	NS	Inh = 100% (2 µM) IC <sub>50</sub> = 0,5069 µM	NS	NS	Inh = 77,4% (10 µM) ( <i>P. berghei</i> ) Inh = 97,08% (12,5 µM) ( <i>P. Falciparum</i> )
41	NS	Inh = 74,36% (10 µM) IC <sub>50</sub> = 1,188 µM	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
43a	NS	Inh = 69,13% (5 µM) IC <sub>50</sub> = 1,572 µM	NS	NS	NS	NS	NS	NS	Inh = 87,48% (10 µM) ( <i>P. berghei</i> )

Inh: Inhibició; Estim: estimació; NS: activitat biològica no significativa

## Spheroid characterisation

In order to understand the spheroids growing and the generation of the hypoxic regions and the necrotic core, a growth curve is performed (Figure 51), followed by the microscope observation (Figure 52) and the histology sectioning in different days (Figure 53).

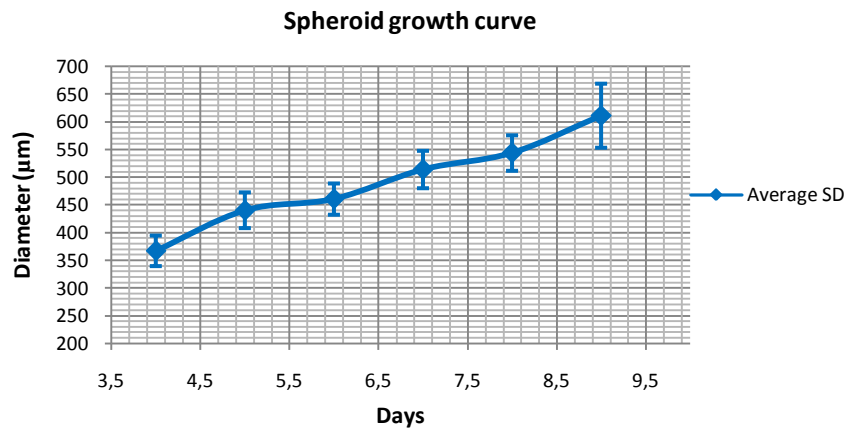


Figure 51: Spheroid growth curve. Each point is the average of at least 4 independent experiments

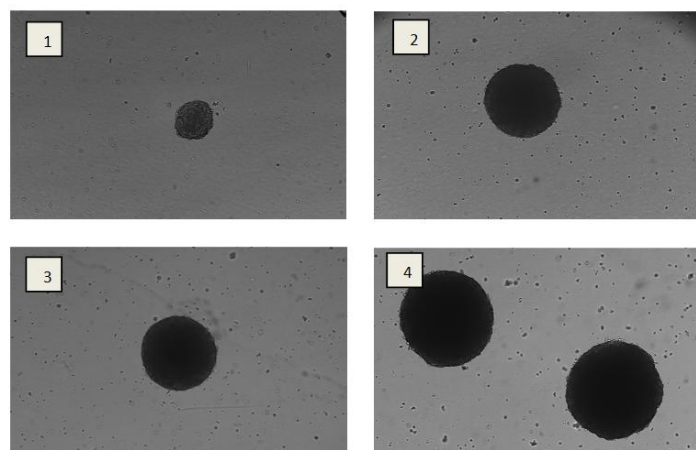


Figure 52: Brightfield images (Lumascope 500) of entire spheroids. Spheroids were collected from the spinner flask and introduced in 25 cm<sup>2</sup> flasks to measure the diameter and capture the images. They were then returned to the spinner flask. Diameter of the spheroid (µm) is as follows; 1: 342 µm; 2: 526 µm; 3: 621 µm; 4: 725 µm.

After the seeding in day 0, the first cluster of cells can be observed under the microscope in day 3, but it is not until day 4-5 when the rounded shape of the spheroid can be clearly observed. As it can be seen in the growth curve, the diameter of the spheroids increases following a linear function up to day 9. Previous studies in the ICT showed that the diameter keeps increasing up to day 15. After that, necrotic core increases, but the variation in the total diameter is not significant.

The histology study shows that necrotic core appears when spheroids reach around 600 µm of diameter and increases accordingly with the diameter. The necrotic core can be observed in the centre of the spheroid, characterized by necrotic and non viable cells as showed in Figure 53.

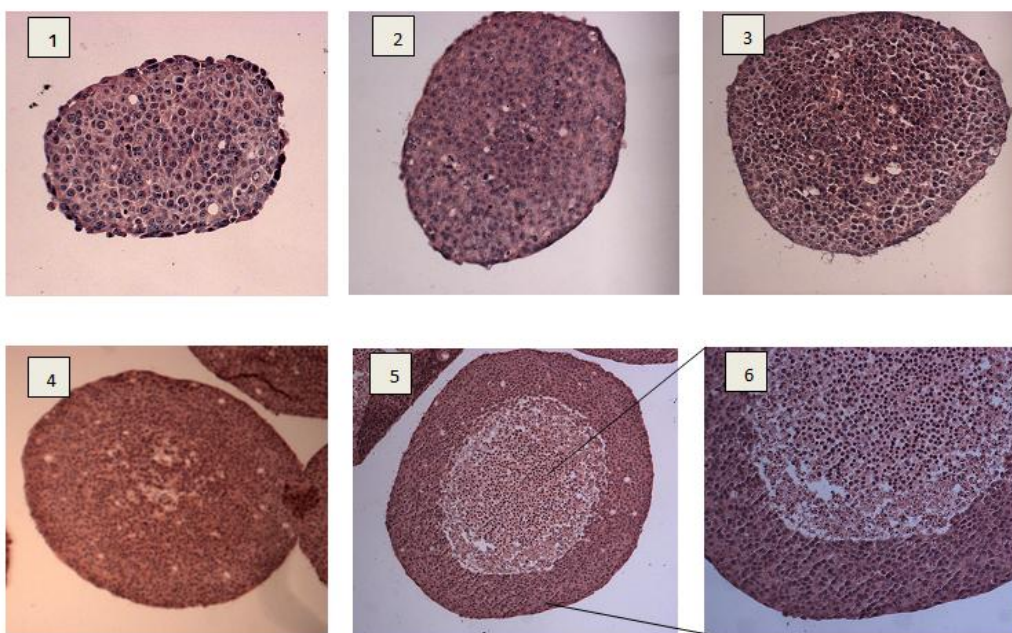


Figure 53: Histology of spheroids: 5  $\mu\text{m}$  sections stained with H&E. Diameter of the spheroid ( $\mu\text{m}$ ) is as follows; 1: 305  $\mu\text{m}$ ; 2: 397  $\mu\text{m}$ ; 3: 438  $\mu\text{m}$ ; 4: 677  $\mu\text{m}$ ; 5: 771  $\mu\text{m}$ . 6: magnification of the necrotic core from the spheroid in 5. Microscope magnifications used are different depending on the diameter.

Since the aim of this part of the project is to study the cytotoxic activity of selected compounds in spheroids, an approximate diameter of 500-550  $\mu\text{m}$  is chosen to carry out the experiments due to the absence of a necrotic core. This will reduce the variability of the results; the cell killing detected will be due to the compound itself and not related to the necrotic process. Accordingly, spheroids are treated at day 8 and in some cases day 7 if the diameter was big enough.

#### Positive controls: *irinotecan* and *oxaliplatin*

*Irinotecan* and *oxaliplatin* were selected as positive controls to compare and validate the results of the compounds tested in this project since both drugs are used in colorectal cancer treatment,<sup>167</sup> have different mechanisms of action and are possible alternatives to use in combination with them.

Both compounds have been tested in HT29 monolayer cultures under normoxic condition and HT29 spheroids (Figure 54 and Table 43). In addition, *irinotecan* has also been tested under hypoxic conditions since it shows cytotoxic activity in these conditions.<sup>50</sup>

<sup>167</sup> I. Grivicich; D.R.A. Mans; G. J. Peters; G. Schwartzmann. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2001**, *34*, 1087-1103.

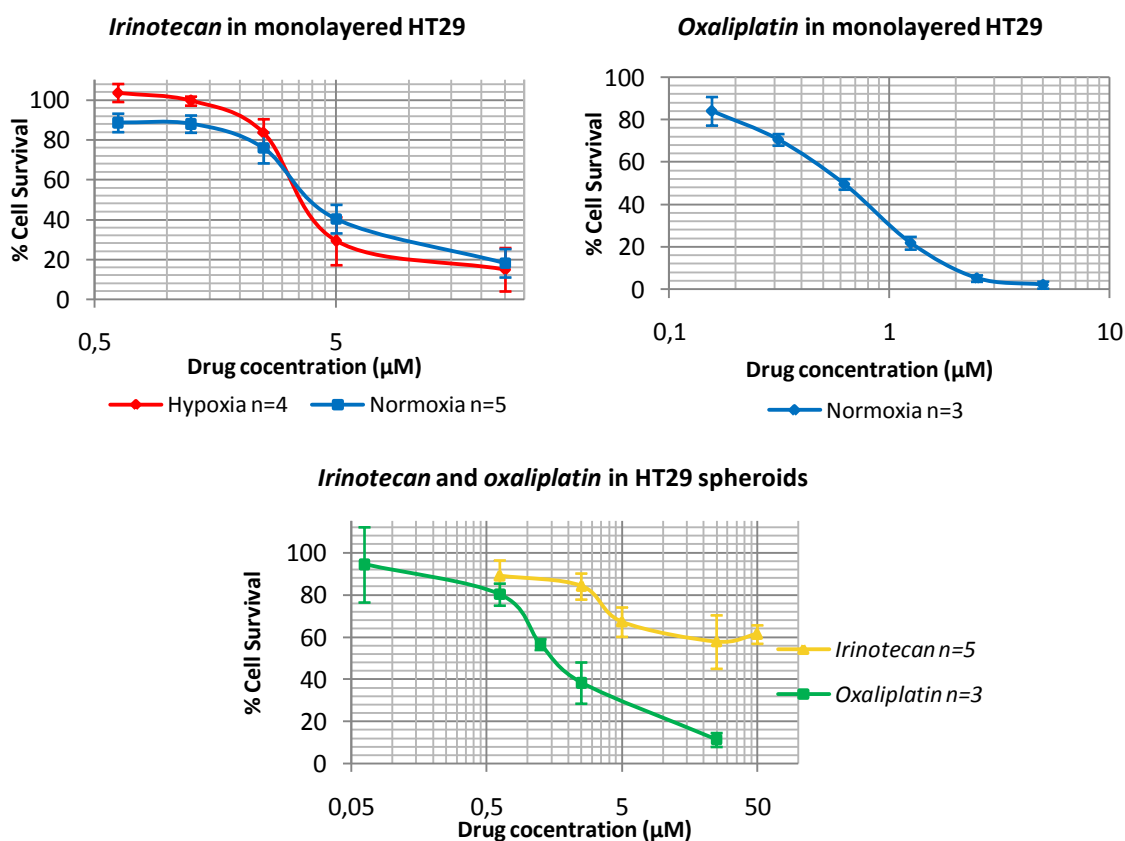


Figure 54: Antiproliferative activity of *irinotecan* and *oxaliplatin* using the MTT assay in monolayered HT29 cells and HT29 spheroids. Each graph is the average of at least 3 independent experiments (n) with the error bar representing the standard deviation. In both cases cells were exposed to drug during 24 hours.

Table 43: IC<sub>50</sub> values for *irinotecan* and *oxaliplatin* under normoxic and hypoxic conditions in HT29 adherent cells and HT29 spheroids using the MTT assay. Each value represents the mean of at least three independent experiments. *Irinotecan* IC<sub>50</sub> in spheroids is not shown since 50% cell killing has not been reached within the concentration range tested (0.625-50 µM). ND: not determined.

IC <sub>50</sub> values of <i>irinotecan</i> and <i>oxaliplatin</i> compounds under normoxic and hypoxic conditions			
Compound	Normoxia IC <sub>50</sub> (µM) ± SD	Hypoxia IC <sub>50</sub> (µM) ± SD	Spheroid IC <sub>50</sub> (µM) ± SD
<i>Irinotecan</i>	3.96 ± 0.66	3.55 ± 0.47	-
<i>Oxaliplatin</i>	0.64 ± 0.035	ND	1.64 ± 0.15

IC<sub>50</sub> values (3.96 ± 0.66 µM for *irinotecan* and 0.64 ± 0.035 µM for *oxaliplatin*) (Table 43) under normoxic conditions are consistent with data available in literature: 5.17 µM,<sup>168</sup> 2.5 µM and 3.5 µM<sup>169</sup> in the case of *irinotecan* in HT29, being the IC<sub>50</sub> of its metabolite SN-38 of 4.5 nM.<sup>168</sup> Nevertheless the cytotoxic activity seen in this project is due to the drug itself and not to SN-38 since the carboxylesterase activity (necessary to transform *irinotecan* into SN-38) is extremely low in this cell line.<sup>168</sup> *Oxaliplatin* IC<sub>50</sub> is also consistent with literature (0.32 ± 0.09 µM).<sup>169</sup>

<sup>168</sup> V. Pavillard; C. Agostini; S. Richard; V. Charasson; D. Montaudon; J. Robert. *Cancer Chemoth. Pharmacol.* **2002**, *49*, 329-335.

<sup>169</sup> T. Mueller; K. Jordan; W. Voigt. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2011**, 30-42.

Data available suggest that the cytotoxic activity of *oxaliplatin* is almost completely abolished under hypoxic conditions but not the effect of *irinotecan*, which remains constant in HT29<sup>50</sup> thanks to the inhibition of HIF1 $\alpha$ , which is consistent with the IC<sub>50</sub> value obtained in this work for *irinotecan* under hypoxic conditions.

Regarding the spheroid treatment, other studies demonstrate that *irinotecan* is distributed across the entire structure after 24 hours in a time-dependant manner in HTC116 spheroids, showing no diffusing problem through the cells. A study of the metabolisms of the parent drug shows that although different metabolites are present in the spheroids, the parent drug and its active metabolite have been detected at a relatively high abundance.<sup>44</sup> Nevertheless, other studies also find a resistance when comparing spheroid treatment in HT29 cells to HTC116 spheroids and HT29 monolayer culture, not reaching 50% cell killing like in this case.

Roberts et al.<sup>170</sup> found sensitivity to *oxaliplatin* was reduced in HTC116 spheroids, especially in the inner layers due to the hypoxic environment. Consequently, cytotoxic activity is expected in spheroids but with some resistance due to the hypoxic cells, generating a shift of the response curve and possibly not reaching 100% cell killing, as shown in the results.

When comparing *oxaliplatin* and *irinotecan* treatment in spheroids more resistance can be observed in the case of *irinotecan*, although it is the only one able to act against normoxic and hypoxic cells. As it can be seen in monolayer cells, potency of *irinotecan* is lower than the one of *oxaliplatin*. Not only *irinotecan* is not transformed to its more active metabolite SN-38, but also its structure contains a lactone moiety that can generate unstability of the compound, especially when entering in the spheroid through different layers of cells. Therefore, hydrolysis of the lactone may generate a loss of its activity and thus, an increase of drug resistance in spheroids.

Nevertheless, it must be stressed out that direct comparison of monolayer and spheroid treatments available in literature and including the one in this project cannot be done without noticing that methodology of treatment is not consistent and may affect the results. Number of treated cells is, for instance, different depending on the experiment and is usually higher in the spheroid treatment compared to the monolayer assay. Furthermore, concentration of the drugs may also vary due to technical problems when scaling from monolayer cultures to spheroids. Thus, some of the resistance observed in the 3D structure could be due to an insufficient administration of the drug. This exemplifies the difficulties when developing spheroid related assays respect to the monolayer culture, where conditions and methods are more consistent and standardized thus, being easier to compare them.

#### 3.4.4.1. Antiproliferative activity of our group compounds

The cytotoxic activity of the 6 compounds from our group **I-1** to **I-6** plus compound **45**, prepared during this thesis, are studied in monolayer HT29 under normoxic and hypoxic conditions. Their IC<sub>50</sub> values are shown in Table 44 and their response curves in Figure 55. Compound **I-7** was not evaluated due to solubility problems in the cell culture medium used.

---

<sup>170</sup> D. L. Roberts; K. J. Williams; R. L. Cowen; M. Barathova; J. Eustace S. Brittain-Dissont; M. J. Tilby; D. G. Pearson; C. J. Ottley; I. J. Stratford; C. Dive. *Br. J. Cancer* **2009**, *101*, 1290-1297.



Table 44: IC<sub>50</sub> values and hypoxic cytotoxicity ratio for I-1 to I-6 and 45 under normoxic and hypoxic conditions in adherent HT29 cells using MTT assay. Each value represents the mean of at least three independent experiments.





IC <sub>50</sub> values of I-1 to I-6 and 45 under normoxic and hypoxic conditions			
Compound	Normoxia IC <sub>50</sub> ± SD (μM)	Hypoxia IC <sub>50</sub> ± SD (μM)	HCR: IC <sub>50</sub> normoxic / IC <sub>50</sub> hypoxic
I-1	1.73 ± 0.25	7.33 ± 1.60	0.24
I-2	1.33 ± 0.22	8.93 ± 1.27	0.15
I-3	7.57 ± 0.60	5.47 ± 0.45	1.38
I-4	0.26 ± 0.01	0.38 ± 0.12	0.68
I-5	9.17 ± 0.57	18.00 ± 3.68	0.51
I-6	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	1.00
45	145 ± 5	- / 66 ± 12.73	- / 2.19

### Antiproliferative activity under normoxic conditions in monolayer cell cultures

The compounds I-1, I-2 and I-4 have similar structures, although there is an important variation when comparing their IC<sub>50</sub> values under normoxic conditions (Table 44). The only difference between I-1 and I-2 is the length of the side chain; although I-2 is more lipophilic (so better cellular penetration is expected), the solubility decreases, generating a problem when adding the drugs during the assay.

While I-1 and I-2 have similar activity, I-4 is around 5 times more active. This difference is not explain by the lipophilic chain in I-4 since its lengths is between the one in I-1 and I-2, but in the 1,4-benzodioxine of the tetracyclic system, being a carbazolin the case of I-4. Probably the shape of the new ring and the substitution of an oxygen for a nitrogen generates a compound with better interaction with its target and more soluble too.

From the three compounds with the indole group in its structure (I-3, I-4, and I-5), I-4 is the one with the highest activity. The side chain explains the decrease in activity in the case of I-5, since the core system is the same. This suggests the urea group does not fit as well as the alkyl chain in the molecular target of the compound. Another important fact to take into consideration is the lipophilicity of the molecule itself, being the highest in I-4 thus enhancing the permeability of the compounds in the cells and improving its cellular uptake.

The last compound with the  core is I-3, in which the lactone ring has been substituted by a  and the lateral chain is reduced to a methyl group. The  group provides more stability to the compound compared to the rest with the lactone ring. Furthermore, the  chain increases its solubility in water medium.

Compound I-6, a *podophyllotoxin* analogue, showed the best activity of all compounds tested, even higher than the positive control *oxaliplatin*.

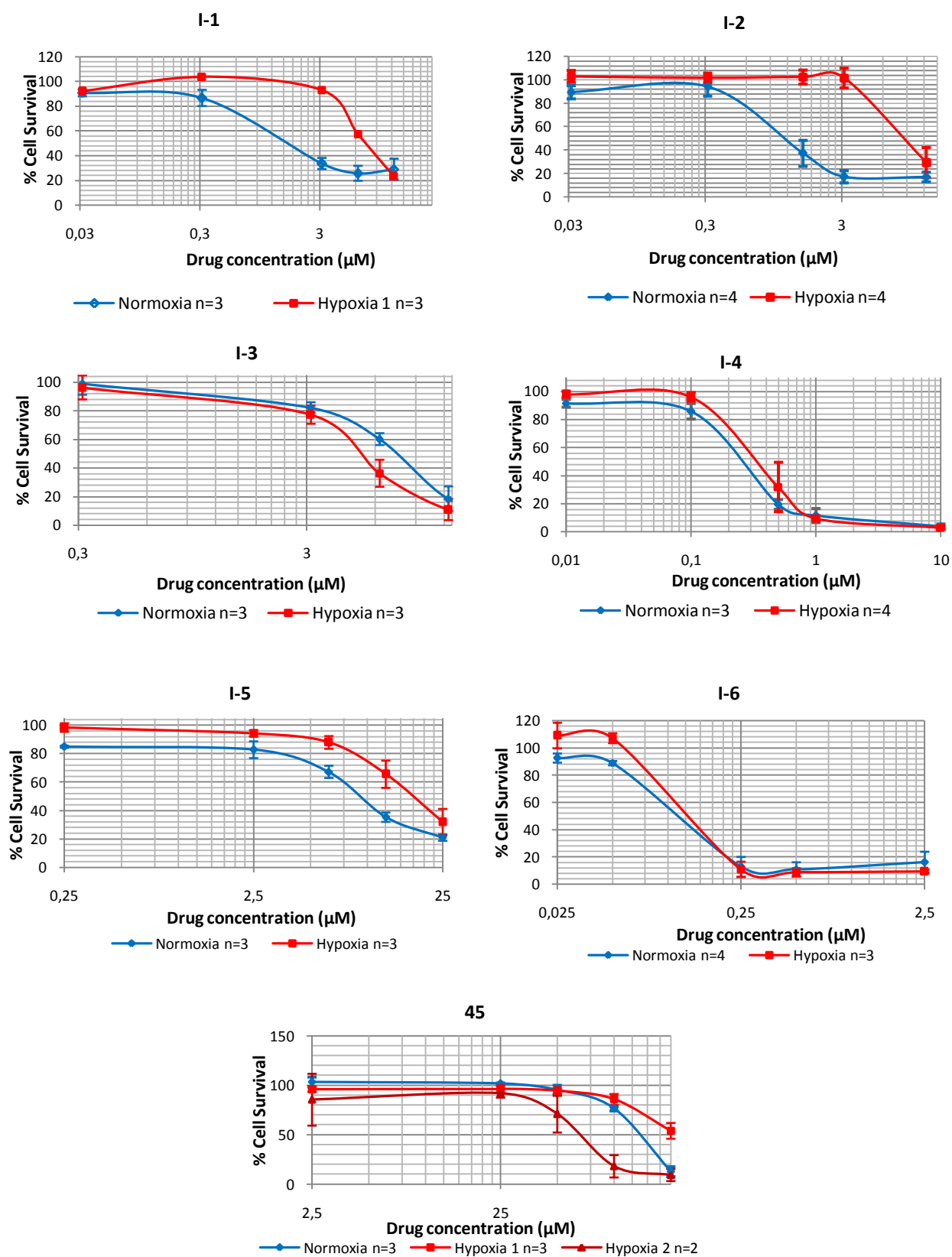


Figure 55: Antiproliferative activity of compounds I-1 to I-6 and 45 in monolayered HT29 cells using the MTT assay. Each graph in the average of independent experiments (n) with the error bar representing the standard deviation.

Compound **45** showed the lowest activity of all compounds. Although the mechanism of action is expected to be different so it cannot be directly compared with the rest. The low activity of **45** could be explained by over-expression of MRP-1 and MRP-3 transporters in HT29: it has been pointed out that HT29 shows resistance to *combretastatin A4* analogues with phenols in the **B**-ring partially due to MRP-1 transporter, which expels glucuronated phenols<sup>171</sup> as **45**.

#### Antiproliferative activity under hypoxic conditions

---

Two different patterns of chemosensitivity are observed among these compounds: resistance under hypoxic conditions (HCR<1) and equitoxic under hypoxic and normoxic conditions (HCR≈1); Compounds **I-1** (HCR = 0.24) and **I-2** (HCR = 0.15) show the highest resistance under hypoxic conditions, followed by **I-4** (HCR = 0.68) and **I-5** (HCR = 0.51). Chemoresistance of these compounds under hypoxia is expected as with general chemotherapeutic agents, since they are not hypoxia-activated compounds or have a specific target upregulated under such conditions.

When studying the antiproliferative activity under hypoxic conditions inconsistent data was obtained for compound **45** as showed in Figure 55. More variability in hypoxia is expected since humidity is much lower than in normoxia, generating evaporation of the medium with the drug in wells. Moreover, in this case heterogeneity of the results can also be related to the stock solution; solubility problems were observed in DMSO so sonication was needed when preparing the drug solutions. Therefore, more repetitions of the experiment are needed in order to elucidate the activity of the compound in hypoxia.

Unexpectedly, two of the compounds showed equitoxic activity under both conditions: **I-3** (HCR = 1.38) and **I-6** (HCR = 0.93) thus presenting an interesting profile as future chemotherapeutic agents.

#### Antiproliferative activity in spheroids

---

After the testing in monolayer cells, compounds **I-1**, **I-2**, **I-3**, **I-5**, **I-6** and **45** were tested in spheroids (Figure 56).

Compound **I-1** was selected as the  derivative to be tested since its solubility was better than the other oxygenated derivative **I-2**. **I-1** and single treatment with **I-2** showed no activity in spheroids.

Compound **I-3** was selected as the nitrogenated analogue due to its good cytotoxicity in both normoxic and hypoxic environments. Furthermore, drug solution is yellow at the highest concentration, turning the spheroids yellow too after 24 hours of treatment, making the study of the treatment easier and indicating that the compound has penetrated at least the outer layers.

Seeing that **I-3** shows cytotoxic activity it is reasonable to think that it can penetrate at least some of the layers of the spheroids. Therefore, good penetration would also be expected from **I-1** and **I-2** since their lipophilicity is higher. The lack of activity could then be explained by the instability of the lactone moiety, which would be metabolized by the enzymes of the cells through different layers or hydrolyzed in the spheroid environment.

---

<sup>171</sup> R. Schobert; K. Effenberger-Neidnicht; B. Biersack. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **2011**, *49*, 71-72.

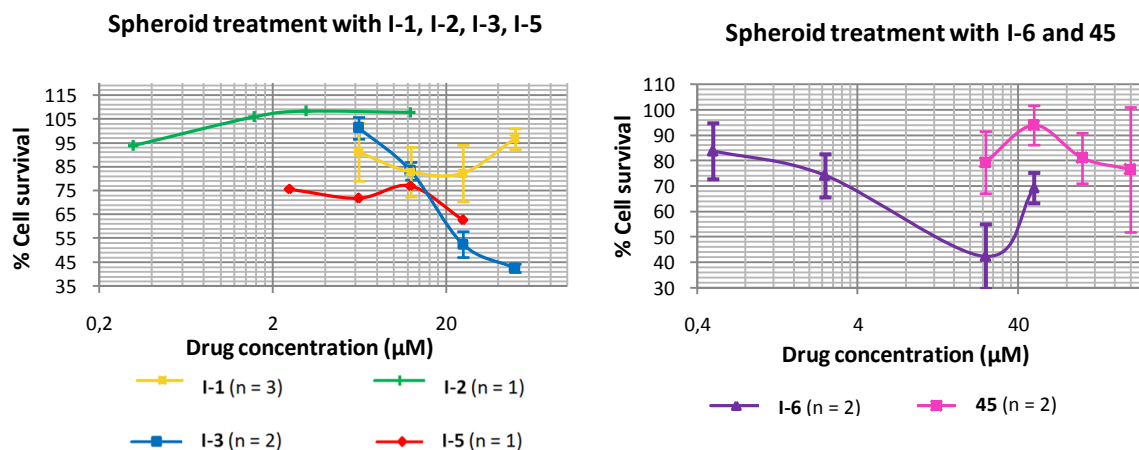


Figure 56: Antiproliferative activity of our group compounds in spheroids using the MTT assay.

Compounds **I-6** and **45** were selected to be tested in spheroids because they are the only compounds from their group. Their results showed that although the drug solution is deep orange, after 24 hours of treatment the spheroids remained white, indicating a penetration problem into the spheroid or a metabolism problem that would alter the conjugation thus decreasing the colour.

The 8-day old spheroids were resistant to most of the compounds tested since generally the lowest percentage of cell survival achieved was above 80% (Figure 56). Nevertheless, two of the drugs, **I-3** and **I-6**, showed good dose-response curves reaching 40% of cell survival, with  $IC_{50}$  values of  $29 \pm 5.77 \mu\text{M}$  for **I-3** and  $14.5 \pm 9.12 \mu\text{M}$  for **I-6**. **I-3** is expected to have more activity than the rest of the compounds in its group since it is equally active in normoxic and hypoxic cells, both present in the spheroids. Nevertheless, the fact that the rest of the compounds showed no activity (except for **I-5** that reached 20% cell killing) suggests that metabolism through different layers of cells inactivate the compounds, possibly in the lactone substructure.

Although the  $IC_{50}$  values are higher than in monolayer cells, this does not actually mean there is a resistance comparing the two situations since the number of cells treated is higher in the spheroid treatment than in the monolayer one. There is around 5 times less drug when treating spheroids than monolayer cells due to the experiment design and the technical possibilities. In order to have the same drug/cells ratio the final volume of drug solution should be increased to at least 5-6 mL, being this amount not suitable when doing a screening of a small library of compounds as this project aimed. Another option would be increasing the concentration of the drugs, but this is limited due to their solubility and the percentage of DMSO in the final solution. Finally, one last option to overcome this problem would be decreasing the number of spheroids treated in one vial, although this would increase the risk of variability in the results. First, because the population size would be too small and high variability in the size of the spheroids from the same batch could be found. Second, because little damage in the spheroids when treating them would make a big difference since the total number of cells is fewer. Thus, more repetitions would be needed.

As a result, monolayer and spheroid testing should not be compared directly. In the 3D experiments then it is understandable higher  $IC_{50}$  are obtained.

### 3.4.4.2. Metabolic activation of I-3 and 45 by CYP1A1

Compounds **I-3** and **45** were selected to undergo biotransformation studies involving cytochrome P450. Cytochrome P450 is a family of oxidizing enzymes, constitutive and inducible, responsible for the metabolism of endogenous compounds and xenobiotics, especially during phase I metabolism. Its action can activate or deactivate some drugs, thus modifying their activity. Since some isoforms like CYP1A1 are found to be overexpressed in some cancer types compared to normal tissue<sup>172</sup> they have been studied as tumour-selective targets capable of generating the activation of prodrugs into cytotoxic agents.<sup>172,173</sup>

Due to its capacity of oxidizing compounds such as polycyclic aromatic hydrocarbons<sup>173</sup> it was suggested that they might biotransform some of the compounds studied in this project, although the possible modification in its cytotoxic activity is not known.

In consequence, a study was carried out by Dr. Klaus Pors and Daniela Presa (ICT) with two of these compounds (**I-3** and **45**) in order to see if there is any modification in their cytotoxic activity when CYP1A1 is overexpressed. The selected cell line was Chinese hamster ovary (CHO) since wild type CHO cells do not express high levels of CYP activity, while transfected CYP1A1 CHO cells do have high expression of it. Compound **I-3** was selected for this assay since its activity profile was one of the most interesting ones, but especially because it contains two methyl groups as possible substrates of CYP as shown in Figure 57. Compound **45** is also included in the assay since its methoxy groups (Figure 57) are possible substrates for enzyme metabolism as well, generating a hydroxyl group.



Figure 57: **I-3** and **45** structures and their possible metabolic modifications by CYP1A1. Blue circles indicate possible oxidation of the methyl groups. Green circles indicate possible moieties to be demethylated into a phenol group. Pink circle indicates a possible oxidation to *O*-quinone in combination with demethylations. Yellow circle indicates the possible moieties to form *N*-oxides.

Cell Line	Compound	
	45	I-3
WT	62 ± 5 μM	2.7 ± 0.1 μM
CHO	50 ± 1 μM	2.4 ± 0.1 μM

Table 45: IC<sub>50</sub> values for **I-3** and **45** in CHO wt and CHO 1A1 cells using MTT assay. Each value represents the mean of at least two independent experiments.

<sup>172</sup> H. M. Sheldrake; S. Travica; I. Johansson; P. M. Loadman; M. Sutherland; L. Elsalem; N. Illingworth; A. J. Cresswell; T. Reuillon; S. D. Shnyder; S. Mkrтчian; M. Searcey; M. Ingelman-Sundberg; L. H. Patterson; K. Pors. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 6273-6277.

<sup>173</sup> M. Sutherland; J. H. Gill; P.M. Loadman; J. P.Laye; H.M. Sheldrake; N. A. Illingworth; M. N. Alandas; P. A. Cooper; M. Searcey; K. Pors; S. D. Shnyder; L.H. Patterson. *Mol. Cancer. Ther.* **2012**, *12*, 27-37.

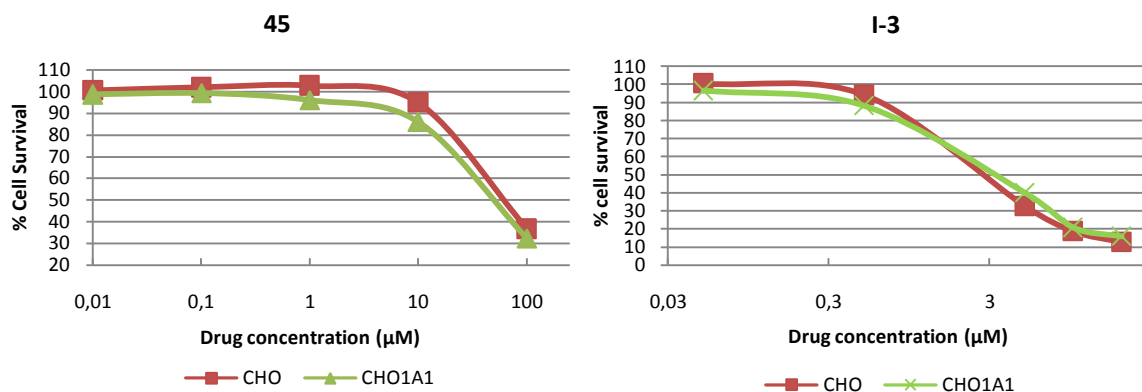


Figure 58: Antiproliferative activity of compounds **I-3** and **45** in monolayer CHO wt and 1A1 cells using the MTT assay. Each graph is the average of at least 2 independent experiments (n).

As observed in Figure 58, these two compounds have the same profile of antiproliferative activity in both cell lines.  $IC_{50}$  values are also similar (Table 45). Therefore, **I-3** and **45** are not bioactivated nor deactivated by CYP1A1.

## 4. PART EXPERIMENTAL

### Materials, mètodes i dades generals en el laboratori de química orgànica

Els espectres de ressonància magnètica nuclear de protó i carboni han estat realitzats amb espectròmetres Varian Gemini-300 (300 y 75,4 MHz, respectivament) i Mercury-400 (400 y 100,6 MHz, respectivament) utilitzant CDCl<sub>3</sub>, DMSO-d<sub>6</sub> o altres dissolvents deuterats amb TMS com a referència interna. Els desplaçaments químics són expressats en parts per milió (ppm).

Els espectres de masses de tipus electrospray ESI han estat realitzats amb un espectròmetre de masses Agilent LC/MSD-ToF. Els espectres de masses per impacte electrònic (EI) han estat realitzats amb un espectròmetre ThermoFinnigan TRACE DSQ (Facultad de Química, Universitat de Barcelona). Els espectres d'infraroig han estat realitzats amb espectrofotòmetres FT-IR Perkin Elmer model Spectrum RX I i Thermo Nicolet, model Avatar 320 FT-IR. Només s'han anotat les freqüències rellevants, expressades en cm<sup>-1</sup>.

Els espectres de raig X han estat realitzats amb un equip D8 Venture system amb monocromador multicapa i microfocus Mo ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ).

Els punts de fusió s'han determinat amb un aparell Gallenkamp model MFB.595.010M amb termòmetre intern i corregides les lectures amb un termòmetre extern.

Les cromatografies de columna han estat realitzades manualment amb gel de sílice Merck 60 (40-60 cm) o mitjançant el sistema automàtic de CombiFlash® Rf. Per les cromatografies de capa fina s'han utilitzat plaques cromatogràfiques de gel de sílice 60 F254 Merck.

Les microdestilacions s'han realitzat en un forn de boles giratori Büchi GKR-50.

Tots els reactius són de qualitat comercial per a síntesis o s'han purificat abans del seu ús. Els dissolvents orgànics són de grau analític o s'han purificat mitjançant procediments habituals. Els productes comercials s'han obtingut de Sigma-Aldrich.

### Materials, mètodes i dades generals en el laboratori de cultius cel·lulars a l'ICT

#### Cell culture

HT29 human colorectal adenocarcinoma (female, 44, caucasian) cells were routinely maintained from passage 2 to passage 12 as a monolayer cultures in 10 mL of RPMI 1640 medium supplemented with foetal bovine serum, L-Glutamine and sodium pyruvate using T75 flasks. Cells were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere of 95% air/5% CO<sub>2</sub>.

#### Antiproliferative studies

Cytotoxic drugs and cell culture reagents were obtained from Sigma Aldrich unless stated otherwise. Compounds **I-1** to **I-6** were prepared in our group and represent some of the most active compounds from our group to date. **45** was prepared during this thesis.

The 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay is a rapid test and one of the most used methods for cytotoxicity screening. In the MTT assay, a yellow tetrazolium salt, is reduced to a purple formazan in active mitochondria in metabolically active cells.<sup>46</sup>

For the chemosensitivity studies, cells were seeded into 96-well plates at a density of  $1.8 \times 10^3$  cells per well and they were incubated immediately under normoxic or hypoxic conditions at 37 °C in a humidified CO<sub>2</sub>-enriched atmosphere. Next day, drug solutions at different concentrations (4 wells per drug concentration in normoxic experiments and 8 in hypoxic experiments) were added up to a final volume of 200 µL and cells were incubated 24 hours with the drug. On the following day, media with drug was removed and cells were washed once with 100 µL of PBS and twice in case of drug precipitation in the wells (I-2). PBS was then removed and 200 µL of fresh medium was added. In case of the hypoxic assays PBS and medium were incubated at least 24 hours in the hypoxic environment to reduce the O<sub>2</sub> levels to the required testing conditions. After that, cells were incubated for three days. All cytotoxic drug stock solutions were prepared in dimethylsulphoxide (DMSO), aliquoted and stored at -20°C. Drug concentrations were prepared with complete RPMI immediately before using. Control solutions were prepared using medium with the same percentage of DMSO as in the highest drug concentration. The final concentration of DMSO in all chemosensitivity assays did not exceed 0.1% (v/v). Following these 5 days incubation, MTT (0.5 mg/mL) was added to the wells and plates were incubated for 4 hours. After this time the medium was removed and the formazan crystals were dissolved in 150 µL of DMSO per well. The absorbance of these solutions was then measured at 540 nm. Cell survival was defined as the absorbance of the treated wells divided by the controls and expressed as a percentage. Cytotoxic activity is expressed with the half maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>).

Normoxic conditions for cell culture were defined as 5% of CO<sub>2</sub>, 94.4% of N<sub>2</sub> and 60% humidity. Studies under hypoxia were performed in a Whitley H35 Hypoxystation (Don Whitley Scientific, Shipley, UK) during the 5 days of the experiment. Hypoxia was defined as 0.1% oxygen, level considered physiologically relevant associated with resistance to radiotherapy, the induction of HIF1 activation and unfolded protein response.

The hypoxic cytotoxicity ratio (HCR) is used to express the effect of hypoxia on the activity of the compound when compared to normoxia, and is defined as the ratio of IC<sub>50</sub> values under normoxic conditions to hypoxic conditions. Values less than 1 in the HCR indicates resistance to hypoxia compared to the activity in normoxia, if greater than 1 it indicates sensitivity to hypoxia, and values close to 1 indicate that the response under both conditions is equal.

### Spheroids assays

Multicellular HT29 spheroids were prepared by seeding  $4 \times 10^6$  into 200 mL of complete RPMI in a spinner flask (Techne). Medium was then stirred at 50-60 rpm (Techne biological stirrer) to keep the spheroids in suspension. Medium was renewed when dead cells were observed or medium colour changed indicating variations of the pH. Diameter of the spheroids was measured every two days and when it reached about 500-550 µm (approximately in day 8) spheroids were harvested for chemosensitivity studies.



Spheroids  $519 \pm 63 \mu\text{m}$  of diameter were exposed to a range of drug concentrations: approximately 20 spheroids were placed in a 1.5 mL eppendorf and 1 mL of each drug concentration was added. Following a 24 hours exposure with continuous agitation, spheroids were washed with PBS and disaggregated into a single-cell suspensions using trypsin-EDTA. Cells were then resuspended in fresh medium and used to seed 96-well plates. Cell survival was then determined using the MTT assay after a 5 days recovery (see full protocol in appendix).

Spheroids were fixed in Bouins solution (5% acetic acid, 9% formaldehyde, picric acid 0.9%) for 75 minutes, dehydrated in a graded ethanol series and embedded in paraffin wax.  $5 \mu\text{m}$  sections were then cut on a microtome and stained with hematoxylin and eosin (H&E staining).

## Preparació d'1

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat provist d'agitació magnètica, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix l' [redacted] (1,08 g, 3,672 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (1,795 g, 5,508 mmol, 1,5 eq), el pal·ladi i el ( $\pm$ )-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (30 mL) i finalment l'*N*-metilpiperazina (0,49 mL,  $d = 0,903 \text{ g/mL}$ , 4,406 mmol, 1,2 eq). El matràs és tanca i la mescla es deixa reaccionar amb agitació a  $160 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$  durant tres dies. Passat aquest temps s'observa en el control de reacció per cromatografia de capa fina la formació d'una taca nova.

### Final de reacció i purificació

En la primera repetició s'afegeix una solució aquosa d'NaOH 1N al cru de reacció i a continuació s'extreu amb acetat d'etil (3 X 15 mL). La fase orgànica s'asseca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El residu obtingut de l'extracció es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash®  $R_f$  emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat del 100% d'acetat d'etil i s'obté un sòlid gomós de color groc pàl·lid.

**Rendiment:** 47%

### Dades analítiques

**$R_f$ :** 0,064 (Acetat d'etil 100%) i 0,29 (Acetat d'etil/Metanol (8:2)) (compost **1**)

**$R_f$ :** 0,268 (Acetat d'etil/metanol (7:3)) (producte secundari obtingut)

**Punt de fusió** (compost **1**):  $105\text{-}108 \text{ }^\circ\text{C}$  (Acetat d'etil/Metanol)

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 2,37 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 2,60 (t,  $J = 5,0 \text{ Hz}$ , 4H,  $\text{H}_2\text{C-2}$ ,  $\text{H}_2\text{C-6}$ ); 3,22 (t,  $J = 5,0 \text{ Hz}$ , 4H,  $\text{H}_2\text{C-3}$ ,  $\text{H}_2\text{C-5}$ ); 6,95-7,01 (m, 6H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-6''); 8,17 (dd,  $J_1 = 1,8 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 9,2 \text{ Hz}$ , 2H, H-3'', H-5'').

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100,6 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 46,2 ( $\text{CH}_3$ , N- $\text{CH}_3$ ); 49,5 ( $\text{CH}_2$ , C-3, C-5); 55,2 ( $\text{CH}_2$ , C-2, C-6); 116,4 (CH, C-2', C-6'); 117,6 (CH, C-3', C-5'); 121,6 (CH, C-2'', C-6''); 126,0 (CH, C-3'', C-5''); 142,3 ( $\text{C}_q$ , C-4''); 147,3 ( $\text{C}_q$ , C-4'); 149,2 ( $\text{C}_q$ , C-1'); 164,4 ( $\text{C}_q$ , C-1'').

## Preparació de 2

### Procediment general

A un matràs de 10 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,063 g, 0,210 mmol, 1 eq) dissolt en 3 mL de THF. La mescla es refreda amb un bany de gel extern i a continuació s'hi afegeix el corresponent isocianat (0,035 g, 0,210 mmol, 1 eq). La reacció es deixa a temperatura ambient durant tres hores. Passat aquest temps s'observa la formació d'un precipitat groc corresponent al producte final.

### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent de reacció al rotavapor. El producte no requereix posterior purificació.

### Dades analítiques

**Rendiment:** 98%

**R<sub>f</sub>:** 0,275 (Hexà/Acetats d'etil (5:5))

**Punt de fusió:** 219-222 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> = 464,1570 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 464,1586 [M+H]<sup>+</sup>, 486,1401 [M+Na]<sup>+</sup>, 502,115 [M+K]<sup>+</sup>, 927,3066 [2M+H]<sup>+</sup>, 949,2878 [2M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (KBr) ν cm<sup>-1</sup>:** 3414 (NH); 3111 (Ar-H); 1675 (C=O); 1528 (O-NO); 1525 (O-NO); 1437 (C-N); 1229 (Ar-O).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,21 (ba, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 3,66 (ba, 4H, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 7,04-7,09 (m, 6H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-6''); 7,53 (t, J = 8,0 Hz, 1H, H-5'''); 7,79 (d, J = 7,7 Hz, 1H, H-6'''); 7,93 (d, J = 7,7 Hz, 1H, H-4'''); 8,22 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 8,51 (s, 1H, H-2'''); 9,13 (s, 1H, N-H).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 43,6 (CH<sub>2</sub>, C-2, C-6); 48,5 (CH<sub>2</sub>, C-3, C-5); 113,3 (CH, C-2'''); 116,1 (CH, C-4'''); 116,5 (CH, C-2', C-6'); 117,4 (CH, C-3', C-5'); 121,4 (CH, C-2'', C-6''); 125,2 (CH, C-6'''); 126,1 (CH, C-3'', C-5''); 129,7 (CH, C-5'''); 141,9 (C<sub>q</sub>, C-1'''); 146,5 (C<sub>q</sub>, C-4''); 147,9 (C<sub>q</sub>, C-4'); 148,7 (C<sub>q</sub>, C-1'); 154,5 (C<sub>q</sub>, C=O), 163,9 (C<sub>q</sub>, C-1'').

## Preparació de 3

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat acoblat a un refrigerant s'hi introdueix el producte de partida (0,059 g, 0,181 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL d'àcid clorhídric aquós (2N) i s'escalfa a reflux durant tres hores sota agitació constant.

### Final de reacció i purificació

El cru de reacció es basifica amb NaOH (5N) fins a pH = 12. Posteriorment s'extreu tres cops amb diclorometà (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i es renten amb NaOH (1N) i posteriorment s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El producte final és un sòlid marró que no es purifica sinó que és fa en l'etapa següent.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,205 (Hexà/Acetats d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 121-123 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,37 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>); 2,61 (t, J = 5,0 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 3,15 (t, J = 4,9 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 5,20 (ba, 2H, NH<sub>2</sub>); 6,64 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-2', H-6'); 6,82 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 6,88 (s, 4H, H-3', H-5', H-2'', H-6'').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 45,2 (CH<sub>3</sub>, N-CH<sub>3</sub>); 49,5 (CH<sub>2</sub>, C-3, C-5); 54,5 (CH<sub>2</sub>, C-2, C-6); 116,4 (CH, C-2', C-6'); 118,2 (CH, C-3', C-5'); 118,8 (CH, C-2'', C-6''); 120,2 (CH, C-3'', C-5''); 142,1 (C<sub>q</sub>, C-4''); 146,6 (C<sub>q</sub>, C-4'); 149,2 (C<sub>q</sub>, C-1''); 152,4 (C<sub>q</sub>, C-1').

## Preparació de 4

### Condicions a)

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un refrigerant s'hi introdueix el producte de partida (0,241 g, 0,769 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL d'àcid acètic i el ferro (0,215 g, 3,846 mmol, 5 eq). La mescla s'escalfa a reflux sota agitació constant durant una nit. Passat aquest temps el cru adquireix un aspecte vermellós i el control de reacció per cromatografia de capa fina mostra l'aparició d'una nova taca amb R<sub>f</sub>: 0,21 (Acetat d'etil/Metanol (7:3)).

#### Final de reacció i purificació

El cru de reacció es basifica amb NaOH (5N). Posteriorment s'extreu tres cops amb diclorometà. Les fases orgàniques s'ajunten i es renten amb NaOH (1N) i posteriorment s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. El producte final elueix amb una polaritat acetat d'etil/metanol (92:8) i s'obté un sòlid marró que correspon al producte *N*-acetilat 4.

#### Dades analítiques

**Rendiment:** 59%

**R<sub>f</sub>:** 0,14 (Acetat d'etil/Metanol (8:2)); 0,21 (Acetat d'etil/Metanol (7:3))

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> = 326,1869 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 326,1893 [M+H]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ (ppm):** 2,13 (s, 3H, -CO-CH<sub>3</sub>); 2,35 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>); 2,58 (t, J = 5,1, Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 3,16 (t, J = 4,9, 4H, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 6,89-6,92 (m, 6H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-6''); 7,39 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-3'', H-5'').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 29,5 (CH<sub>3</sub>, -CH<sub>3</sub>-CO); 46,0 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>-N); 49,6 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-N (X2)); 55,1 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-N (X2)); 118,5 (CH, C-2', C-6'); 119,1 (CH, C-2'', C-6''); 121,4 (CH, C-3', C-5'); 130,4 (CH, C-3'', C-5''); 134,4 (C<sub>q</sub>, C-4''); 149,0 (C<sub>q</sub>, C-1''); 149,2 (C<sub>q</sub>, C-4'); 154,1 (C<sub>q</sub>, C-1''); 159,6 (C<sub>q</sub>, C=O).

### Condicions b)

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,285 g, 0,910 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de THF i a continuació el LiAlH<sub>4</sub> (0,0345 g, 0,910 mmol, excés), mantenint el matràs en atmosfera inert (argó). En el primer cas la reacció es deixa a temperatura ambient durant 16 hores i en el segon a reflux durant 9 dies, sempre sota agitació constant.

#### Final de reacció i purificació

S'afegeixen gotes d'aigua lentament al cru de reacció i quan el LiAlH<sub>4</sub> està totalment desactivat s'hi afegeix Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre. La mescla es filtra per gravetat i el dissolvent s'evapora a sequedat al rotavapor amb l'ajuda del buit. La cromatografia de capa fina mostra la formació d'un producte majoritari amb R<sub>f</sub>: 0,02 (Acetat d'etil/Metanol (8:2)) i un amb R<sub>f</sub>: 0,14 (Acetat d'etil/Metanol (8:2)). El

producte final és forma en molt poca proporció, mentre que el majoritari, un sòlid marró, es tracta d'un intermedi de reacció on el grup nitro s'ha convertit en "NH-OH", pas intermedi a la formació del NH<sub>2</sub>.

#### Dades analítiques

R<sub>f</sub>: 0,21 (Acetat d'etil/Metanol (7:3))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,36 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>); 2,60 (t, J = 5,0 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 3,20 (t, J = 4,9, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 6,85 (d, J = 9,0 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,00-7,04 (m, 4H, H-3', H-5', H-2'', H-6''); 7,85 (d, J = 9,0 Hz, 2H, H-3'', H-5'').

### Preparació de 5

#### Procediment general

A un matràs de 25 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,069 g, 0,243 mmol, 1 eq) dissolt en THF. La mescla es refreda amb un bany de gel extern i a continuació s'hi afegeix el corresponent isocianat (0,04 g, 0,243 mmol, 1 eq). La reacció es deixa a temperatura ambient durant tres dies. Passat aquest temps es forma un precipitat en el cru de reacció.

#### Final de reacció

S'evapora el dissolvent de reacció al rotavapor i el residu obtingut es dissol en 15 mL d'aigua i s'extreu amb diclorometà (3 X 15 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

#### Purificació

El producte es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice manualment. El producte final elueix amb una polaritat d'acetat d'etil/metanol (80:20) i s'obté un sòlid groc.

**Rendiment:** 45%

#### Dades analítiques

R<sub>f</sub>: 0,133 (Acetat d'etil/Metanol (8:2))

**Punt de fusió:** 205-207 °C (Acetat d'etil/Metanol)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> = 448,1985 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 448,1979 [M+H]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub> + gotes CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ(ppm):** 2,27 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>); 2,54 (t, J = 5,0 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 3,07 (t, J = 5,0, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 6,80-6,82 (m, 6H, H-2', H-6', H-2'', H-3', H-5', H-6''); 7,23-7,24 (m, 2H, H-3'', H-5''); 7,32 (t, J = 8,2, 1H, H-5'''); 7,74 (td, J<sub>1</sub> = 2,2 Hz, J<sub>2</sub> = 8,2 Hz, 2H, H-4''', H-6'''); 8,18 (t, J = 1,9, 1H, H-2''').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub> + gotes CD<sub>3</sub>OD, 100,6 MHz) δ(ppm):** 45,7 (CH<sub>3</sub>, N-CH<sub>3</sub>); 49,7 (CH<sub>2</sub>, C-3, C-5); 54,9 (CH<sub>2</sub>, C-2, C-6); 113,2 (CH, C-2'''); 116,9 (CH, C-4'''); 118,0 (CH, C-2', C-6'); 118,7 (CH, C-6'', C-2''); 119,7 (CH, C-3', C-5'); 121,4 (CH, C-3'', C-5''); 124,5 (CH, C-6'''); 129,6 (CH, C-5'''); 133,3 (C<sub>q</sub>, C-4''); 140,6 (C<sub>q</sub>, C-1'''); 147,2 (C<sub>q</sub>, C-1'); 148,6 (C<sub>q</sub>, C-4'); 150,9 (C<sub>q</sub>, C-3'''); 153,3 (C<sub>q</sub>, C-1''); 153,9 (C<sub>q</sub>, C=O).

### Preparació de 6

#### Procediment general

Pas 1:

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueixen l'1-cloro-4-(4-nitrofenox)benzè (0,44 g, 1,496 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (0,731 g, 2,244 mmol, 1,5 eq), el

pal·ladi i el ( $\pm$ )-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè i finalment (0,23 mL, 1,795 mmol, 1,2 eq). El matràs es tanca i la mescla es deixa reaccionar mantenint l'agitació constant i a  $160 \pm 10$  °C durant 16 hores. Passat aquest temps s'observa per cromatografia de capa fina la formació d'una nova taca però encara queda producte de partida. S'hi afegeix de nou Pd(*o*-tolil)<sub>3</sub>PCl<sub>2</sub> i ( $\pm$ )-BINAP i es deixa reaccionar durant un dia. La capa fina no mostra que la reacció avanci i es procedeix a aturar-la. S'afegeix aigua destil·lada al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 15 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb aigua (3 X 15 mL) i posteriorment s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

L'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H del cru mostra el producte intermediari desitjat (**66**) amb un R<sub>f</sub>: 0,395 (Hexà/Acetat d'etil (7:3)). Degut a l'elevada inestabilitat química d'aquest producte no es purifica i es passa directament al pas següent.

Pas 2:

Es dissol el cru obtingut en el pas anterior amb una mescla d'etanol i aigua a parts iguals (20 mL) i s'hi afegeix 1,8 g de resina àcida. S'acobla un refrigerant al matras de reacció i s'escalfa a reflux durant 30 minuts. Passat aquest temps s'observa per cromatografia de capa fina que ja no queda el producte de la reacció del pas 1 i que es forma un nou producte.

#### Final de reacció

Es refreda la reacció i s'hi afegeix una solució aquosa bàsica d'NaOH (5N) fins a pH = 12. Es filtra la resina i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor. El residu obtingut es dissol en diclorometà i es renta amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N) (2 X 15 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

El producte final es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice manualment. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) obtenint-se un sòlid groc pàlid.

**Rendiment:** 55%

#### Dades analítiques

##### Producte 6

---

**R<sub>f</sub>:** 0,27 (Hexà/Acetat d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 131-133 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 2,58 (t, *J* = 6,2 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 3,59 (t, 4H, *J* = 6,2 Hz, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 6,97 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,01-7,03 (m, 4H, H-3', H-5', H-2'', H-6''); 8,16 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H, H-3'', H-5'').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 40,8 (CH<sub>2</sub>, C-3, C-5); 49,3 (CH<sub>2</sub>, C-2, C-6); 116,5 (CH, C-2', C-6'); 117,7 (CH, C-3', C-5'); 121,8 (CH, C-2'', C-6''); 126,0 (CH, C-3'', C-5''); 142,4 (C<sub>q</sub>, C-4''); 147,3 (C<sub>q</sub>, C-1'); 147,5 (C<sub>q</sub>, C-4'); 164,2 (C<sub>q</sub>, C-1''); 207,8 (C<sub>q</sub>, C=O).

##### Producte 6

---

**R<sub>f</sub>:** 0,395 (Hexà/Acetat d'etil (7:3))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 1,89 (t, *J* = 5,8 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 3,33 (t, 4H, *J* = 5,8 Hz, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 4,01 (s, 4H, CH<sub>2</sub>-O (X2)); 6,98-6,98 (m, 6H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-6''); 8,17 (d, *J* = 9,4 Hz, 2H, H-3'', H-5'').

## Preparació de 7

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi addicionen 0,1 g (0,320 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt en 10 mL de metanol i 0,2 g (5,283 mmol, 16,5 eq) de borohidrur sòdic. La mescla es deixa amb agitació a temperatura ambient durant una hora i mitja.

### Final de reacció

S'evapora el metanol a sequedat al rotavapor i al residu s'hi afegeix aigua (20 mL). A continuació, s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El producte final es purifica amb columna de gel de sílice manualment, eluint amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté en forma de sòlid groc.

**Rendiment:** 57%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,359 (Hexà/Acetat d'etil (6:4))

**Punt de fusió:** 144 - 146 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**IR (KBr)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>:** 3538 (-OH); 2924 (CH); 1495 (C=C); 1340 (NO<sub>2</sub>); 1257 (Ar-O); 1110 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  (ppm):** 1,71-1,73 (m, 2H, HC-3<sub>ax</sub>, HC-5<sub>ax</sub>); 2,02-2,04 (m, 2H, HC-3<sub>eq</sub>, HC-5<sub>eq</sub>); 2,92-2,97 (m, 2H, HC-2<sub>ax</sub>, HC-6<sub>ax</sub>); 3,52-3,55 (m, 2H, HC-2<sub>eq</sub>, HC-6<sub>eq</sub>); 3,83-3,89 (m, 1H, HC-4); 6,95-6,98 (m, 7H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-6'', C-OH); 8,16 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-3'', H-5'').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 29,8 (CH<sub>2</sub>, C-3, C-5); 47,7 (CH<sub>2</sub>, C-2, C-6); 67,7 (CH, C-4); 116,5 (CH, C-2', C-6'); 118,1 (CH, C-3', C-5'); 121,6 (CH, C-2'', C-6''); 126,0 (CH, C-3'', C-5''); 142,3 (C<sub>q</sub>, C-4''); 147,1 (C<sub>q</sub>, C-1'); 149,3 (C<sub>q</sub>, C-4'); 164,4 (C<sub>q</sub>, C-1'').

## Preparació de 8

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addicionen 0,050 g (0,159 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt en 10 mL de DMF i l'NaH (0,0076 g, 0,191 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeixen 0,026 g (0,159 mmol, 1 eq) del corresponent isocianat i es deixa reaccionar durant 5 dies a temperatura ambient.

### Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb èter etílic (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Per cromatografia de capa fina no s'observa producte final. En conseqüència la fase orgànica es basifica amb NaOH (2N) fins a pH = 12 i s'extreu dos cops amb acetat d'etil (20 mL) i un amb diclorometà (20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El producte final es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, eluint amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30). S'obté un sòlid groc.

**Rendiment:** 54%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>**: 0,184 (Hexà/Acetats d'etil (6:4))

**Punt de fusió**: 94 - 96 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (-) m/z**: Calculat per a C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> = 477,1410 [M-H]<sup>-</sup>. Obtingut: 477,1388 [M-H]<sup>-</sup>.

**EM, ESI (+) m/z**: Calculat per a C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> = 479,1567 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 479,1551 [M+H]<sup>+</sup>.

**IR (KBr) ν cm<sup>-1</sup>**: 3423 (NH); 2924 (CH); 1664 (C=O); 1488 (C=C); 1346 (NO<sub>2</sub>); 1260 (Ar-O); 1078 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 400 MHz) δ (ppm)**: 1,59-1,67 (m, 2H, HC-3<sub>ax.</sub>, HC-5<sub>ax.</sub>); 1,92-1,96 (m, 2H, HC-3<sub>eq.</sub>, HC-5<sub>eq.</sub>); 2,91-2,97 (m, 2H, HC-2<sub>ax.</sub>, HC-6<sub>ax.</sub>); 3,52-3,62 (m, 2H, HC-2<sub>eq.</sub>, HC-6<sub>eq.</sub>); 3,80-3,82 (m, 1H, HC-4); 7,04-7,10 (m, 6H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-6''); 7,55-7,62 (m, 1H, H-5'''); 7,86-7,93 (m, 2H, H-6''', H-4'''); 8,23 (d, J = 9,4 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 8,65 (d, J = 8,9 Hz, 1H, H-2'''); 9,18 (ba, 1H, NH).

**RMN <sup>13</sup>C ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100,6 MHz) δ(ppm)**: 35,1 (CH<sub>2</sub>, C-3, C-5); 48,2 (CH<sub>2</sub>, C-2, C-6); 67,7 (CH, C-4); 114,4 (CH, C-2', C-6'); 117,8 (CH, C-2'''); 118,3 (CH, C-3', C-5'); 119,0 (CH, C-4'''); 122,8 (CH, C-6'''); 126,0 (CH, C-2'', C-6''); 127,3 (CH, C-5'''); 131,3 (CH, C-3'', C-5''); 141,8 (C<sub>q</sub>, C-4'', C-1'''); 147,4 (C<sub>q</sub>, C-1'); 149,6 (C<sub>q</sub>, C-4'); 150,5 (C<sub>q</sub>, CO); 153,2 (C<sub>q</sub>, C-3'''); 165,4 (C<sub>q</sub>, C-1'').

## Preparació de 9

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addicionen 0,1 g (0,320 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt en 15 mL d'etanol, 0,0267 g (0,384 mmol, 1,2 eq) de hidroxilamina clorhidrat i 0,0525 g (0,64 mmol, 2 eq) d'acetat sòdic i es deixa sota agitació constant a temperatura ambient durant 3 dies.

### Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat al rotavapor i al residu s'hi afegeix aigua i s'equilibra el pH entorn a 7. A continuació, s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

Per tal d'obtenir un producte més pur es fa un rentat del sòlid amb 3 mL d'acetat d'etil. Finalment s'obté un sòlid groc.

**Rendiment**: 100%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>**: 0,27 (Hexà/Acetats d'etil (6:4))

**Punt de fusió**: 185 - 187 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ (ppm)**: 2,37 (t, J = 5,8 Hz, 2H, HC-3<sub>ax.</sub>, HC-5<sub>ax.</sub>); 2,59 (t, J = 5,9 Hz, 2H, HC-3<sub>eq.</sub>, HC-5<sub>eq.</sub>); 3,30 (t, 2H, J = 6,0 Hz, HC-2<sub>ax.</sub>, HC-6<sub>ax.</sub>); 3,34 (t, 2H, J = 6,0 Hz, HC-2<sub>eq.</sub>, HC-6<sub>eq.</sub>); 7,03-7,06 (m, 6H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-6''); 8,21 (d, J = 9,2 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 10,41 (s, 1H, OH).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm)**: 23,9 (CH<sub>2</sub>, C-3<sub>ax.</sub>, C-5<sub>ax.</sub>); 30,1 (CH<sub>2</sub>, C-3<sub>eq.</sub>, C-5<sub>eq.</sub>); 47,3 (CH<sub>2</sub>, C-2<sub>ax.</sub>, C-6<sub>ax.</sub>); 49,2 (CH<sub>2</sub>, C-2<sub>eq.</sub>, C-6<sub>eq.</sub>); 117,0 (CH, C-2', C-6'); 117,6 (CH, C-3', C-5'); 122,0 (CH, C-2'', C-6''); 126,7 (CH, C-3'', C-5''); 142,4 (C<sub>q</sub>, C-4''); 146,5 (C<sub>q</sub>, C-4'); 148,7 (C<sub>q</sub>, C-1'); 155,0 (C<sub>q</sub>, C=N); 164,8 (C<sub>q</sub>, C-1'').

## Preparació de 10

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addicionen 0,050 g (0,130 g, 0,613 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt

en 15 mL de THF i es deixa reaccionar a temperatura ambient fins a la total dissolució del producte. A continuació, s'hi afegeixen 0,100 g (0,609 mmol, 1 eq) del corresponent isocianat i es deixa reaccionar durant 48 hores a temperatura ambient.

#### Final de reacció

Es filtra el cru de reacció i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

#### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (5:95) i s'obté un sòlid groc.

**Rendiment:** 52%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,2 (Hexà/Acetat d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 104-106 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> = 397,3323 [M+Na]<sup>+</sup>. Obtingut: 397,3478 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>):** 1725 (C=O); 1596 (NO<sub>2</sub>); 1538 (C=C); 1356 (NO<sub>2</sub>); 1292 (Ar-O); 1242 (Ar-OAr); 1173 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm):** 6,73 (dd, J<sub>1</sub> = 3 Hz, J<sub>2</sub> = 9 Hz, 1H, H-4); 6,99 (d, J = 9 Hz, 2H, H-2'', H-6''); 7,14 (d, J = 9 Hz, 1H, H-6'); 7,25 (s, 1H, H-2'); 7,41 (t, J = 9 Hz, 1H, H-5'); 7,58 (d, J = 9 Hz, 2H, H-5'', H-3''); 7,82 (d, J = 9 Hz, 1H, H-6); 7,83 (ba, 2H, NH); 8,02 (s, 1H, H-2); 8,12-8,14 (m, 2H, H-4, H-5).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,4 MHz) δ(ppm):** 105,8 (C<sub>q</sub>, C-4); 111,4 (CH, C-2); 113,5 (CH, C-6); 114,7 (CH, C-4'); 115,7 (CH, C-2'); 117,3 (CH, C-2'', C-6''); 118,1 (CH, C-4'); 124,7 (CH, C-6'); 129,9 (CH, C-5); 130,5 (CH, C-5'); 134,2 (CH, C-3'', C-5''); 140,3 (C<sub>q</sub>, C-3'); 140,8 (C<sub>q</sub>, C-1''); 148,6 (C<sub>q</sub>, C-3); 155,4 (C<sub>q</sub>, C=O); 156,2 (C<sub>q</sub>, C-1'); 162,9 (C<sub>q</sub>, C-1).

## Preparació d'11

#### Procediment general

A un matràs de 10 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,026 g, 0,125 mmol, 1 eq) obtingut com a subproducte de la reacció de formació de **59** dissolt en 3 mL de THF. La mescla es refreda amb un bany de gel extern i a continuació s'hi afegeix el isocianat (0,0125 mL, 0,0864 mmol, 0,69 eq). La reacció es deixa a temperatura ambient durant 16 hores.

#### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent de reacció al rotavapor i el cru es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid groc.

**Rendiment:** 79%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,459 (Hexà/Acetat d'etil (6:4))

**Punt de fusió:** 186 - 188 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>F<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> = 413,1237 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 413,1225 [M+H]<sup>+</sup>.

**IR (KBr) ν cm<sup>-1</sup>:** 3472 (NH); 2924 (CH); 1685 (C=O); 1490 (C=C); 1343 (NO<sub>2</sub>); 1237 (Ar-O); 1115 (C-F).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,56-3,59 (t, J = 6 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 3,76-3,78 (t, J = 6 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 6,73 (d, J = 3,8 Hz, 1H, H-3''); 6,82 (d, J = 9,4 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,15 (s, 1H, OH



tautomeria); 7,17 (s, 1H, H-6''); 7,19 (s, 1H, NH tautomeria); 8,15 (d,  $J = 9,4$  Hz, 2H, H-3', H-5'); 8,49 (dd,  $J_1 = 2,2$  Hz,  $J_2 = 7,3$  Hz, 1H, H-4'').

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 43,3 (CH<sub>2</sub>, C-2, C-6); 46,5 (CH<sub>2</sub>, C-3, C-5); 112,8 (CH, C-2', C-6'); 115,1 (CH,  $J = 21$  Hz, C-6''); 118,9 (CH, C-4''); 120,4 (CH, C-3''); 126,2 (CH, C-3', C-5'); 127,4 (C<sub>q</sub>,  $J = 33$  Hz, C-5''); 127,9 (C<sub>q</sub>,  $J = 10$  Hz, C-1''); 131,5 (C<sub>q</sub>,  $J = 214$  Hz, CF<sub>3</sub>); 139,2 (C<sub>q</sub>, C-4'); 153,2 (C<sub>q</sub>,  $J = 243$  Hz, C-2''); 154,1 (C<sub>q</sub>, C-1'); 154,2 (C<sub>q</sub>, C=O).

## Preparació de 12

### Procediment general

A un matràs de hidrogenació de 100 mL de capacitat s'hi afegeixen 9 mg (0,022 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt en 5 mL de metanol i el Pd/C 10% (10% pes). S'hi afegeix, a continuació, l'hidrogen en columna a pressió atmosfèrica i es deixa reaccionar 16 hores sota agitació constant a temperatura ambient fins que s'han consumit 35 mL de hidrogen i a la cromatografia de capa fina s'observa la desaparició de la taca corresponent al producte de partida ( $R_f$ : 0,459 (Hexà/Acetats d'etil (6:4))) i l'aparició d'una nova taca corresponent al producte final ( $R_f$ : 0,15 (Hexà/Acetats d'etil (6:4))).

### Final de reacció

Es filtra el Pd/C i s'evapora el metanol a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit fins a obtenir un sòlid blanc. L'espectre d'RMN- $^1\text{H}$  mostra el producte final esperat però no es purifica ni caracteritza ja que hi ha poca quantitat i es procedeix a la següent reacció.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques

$R_f$ : 0,15 (Hexà/Acetats d'etil (6:4))

**RMN  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,09 (t,  $J = 5$  Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-N); 3,68 (t,  $J = 5$  Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-N); 6,67 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,73 (ba, NH<sub>2</sub>); 6,83 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-2', H-6'); 6,99 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-3''); 7,14 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-4''); 7,34 (s, 1H, H-6''); 8,52 (ba, 1H, NH).

## Preparació de 13a

### Procediment general

L'aldehid **76** (0,200 g, 1,45 mmol, 1,0 eq) i l'àcid **77** (0,284 g, 1,45 mmol, 1,0 eq) es dissolen en 2 mL d'anhídrid acètic i s'afegeixen a un matràs de 100 mL. A continuació s'hi afegeix la trietilamina (1,12 mL,  $d = 0,726$  g/mL, 0,813 g, 7,94 mmol,  $d = 0,726$  g/mL, 5,55 eq) i la mescla s'escalfa a reflux (150 °C) durant 16 hores.

### Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetats d'etil (60:40) i s'obté un sòlid marró.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques

$R_f$ : 0,49 (Hexà/Acetats d'etil (5:5))

**Punt de fusió:** 150-152 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**NMR  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,83 (s, 6H,  $\text{CH}_3\text{-O}$  (X2)); 6,52 (t,  $J = 2$  Hz, 1H, H-4'); 6,83 (d,  $J = 2$  Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,07 (dd,  $J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 8$  Hz, 1H, H-6); 7,15 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, H-8); 7,53 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, H-5); 7,79 (s, 1H, H-4).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 55,4 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{-O}$  (X2)); 101,3 (CH, C-4'); 107,0 (CH, C-2', C-6'); 110,2 (CH, C-8); 117,7 ( $\text{C}_q$ , C-4a); 118,8 (CH, C-6); 127,9 ( $\text{C}_q$ , C-3); 129,1 (CH, C-5); 136,7 ( $\text{C}_q$ , C-1'); 139,9 (CH, C-4); 153,5 ( $\text{C}_q$ , C-8a); 160,6 ( $\text{C}_q$ , C-7); 161,3 ( $\text{C}_q$ , C-3', C-5'); 169,4 ( $\text{C}_q$ , C=O).

## Preparació de 13b

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid de partida **76** (0,305 g, 2,21 mmol, 1 eq), dissolt en 3 mL d'anhidrid acètic. A continuació, s'hi addiciona l'àcid fenilacètic **78** (0,500 g, 2,21 mmol, 1 eq) i la trietilamina (1,7 mL, 12,1 mmol, 5,4 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar amb agitació constant a  $140 \pm 10$  °C durant 3 hores.

### Final de reacció

S'afegeix aigua destil·lada i gel al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat. A continuació el residu obtingut es microdestil·la a 150 °C.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice manualment emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid blanc.

**Rendiment:** 47%

### Dades analítiques:

**R<sub>f</sub>:** 0,8 (Hexà/Acetats d'etil (8:2))

**Punt de fusió:** 141-143 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**IE m/z (%):** Calculat per a  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6 = 328,0947$  [ $\text{M}^+$ ]. Obtingut: 327,0000 [ $\text{M}^+$ , 92]

**IR (ATR)  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ :** 3210 (Ar-OH); 2919 (CH); 2848 (=C-H); 1719 (C=O); 1225 (Ar-O); 1103 (C-O).

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,89 (s, 6H,  $\text{OCH}_3$  (X2)); 6,93 (s, 2H, H-2', H-5'); 7,06 (dd,  $J = 2$  Hz,  $J = 8$  Hz, 1H, H-6); 7,14 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, H-8); 7,54 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-5); 7,78 (s, 1H, H-4).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50,3 MHz)  $\delta$  (ppm):** 57,3 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$  (X2)); 61,5 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$ ); 103,8 (CH, C-2', C-6'); 107,5 (CH, C-8); 110,0 (CH, C-6); 126,1 (C, C-4a); 129,3 (CH, C-5); 130,94 (C, C-3); 139,1 (CH, C-4); 152,4 (C, C-4'); 153,0 (C, C-3', C-5'); 154,6 (C, C-7); 160,1 (C, C-8a); 169,3 (C, C-2).

## Preparació de 14

### Procediment general

#### Condicions a)

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un refrigerant s'hi introdueix el compost **13a** (0,260 g, 0,872 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL d'acetona anhidra. Tot seguit s'hi addiciona el  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhidre (0,145 g, 1,045 mmol,

1,2 eq) i (3 mL, d = 2,28 g/mL, 48,2 mmol) de CH<sub>3</sub>I es deixa reaccionar sota agitació constant a temperatura ambient durant 16 hores.

#### Condicions b)

---

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte **13a** (0,217 g, 0,727 mmol, 1 eq) en 10 mL d'acetona anhidra. Tot seguit s'hi addiciona el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidre (0,151 g, 1,09 mmol, 1,5 eq) i un gran excés (10 mL, d = 1,333 g/mL, 105,4 mmol) de sulfat de dimetil i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 3 dies.

#### Condicions c)

---

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un refrigerant s'hi introdueix el producte **13a** (0,188 g, 0,630 mmol, 1 eq) en 10 mL d'acetona anhidra. Tot seguit s'hi addiciona l'hidròxid de tetrabutilamoní (0,605 g, 0,776 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar durant 15 minuts. Finalment, s'hi addicionen 3 mL (48,2 mmol) (1 mL cada sis hores) de CH<sub>3</sub>I i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 24 hores.

#### Final de reacció

##### Condicions a)

---

S'evapora el dissolvent a sequedat, s'afegeixen 20 mL d'NaOH (1N) al residu obtingut i tot seguit s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. L'espectre d'RMN de protó mostra que no s'obté el producte final esperat sinó que es tracta del producte de partida.

##### Condicions b)

---

Es realitza el mateix final de reacció que en al cas anterior i a continuació és realitza una microdestil·lació per tal d'eliminar el sulfat de dimetil. L'espectre d'RMN de protó mostra que tampoc s'obté el producte final esperat.

##### Condicions c)

---

S'evapora el dissolvent a sequedat, s'afegeixen 20 mL d'NaOH (1N) al residu obtingut i a continuació s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (65:35) i s'obté un sòlid daurat.

**Rendiment:** 69% seguint les condicions c). En les condicions a) i b) no es va obtenir el producte esperat.

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,57 (Hexà/Acetats d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 147-149 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,83 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-O (X2)); 3,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-O); 6,46 (t, *J* = 2 Hz, 1H, H-4'); 6,83 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,84 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 6,85 (s, 1H, H-8); 7,39 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 7,73 (s, 1H, H-4).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 53,8 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>-O); 55,4 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>-O (X2)); 100,6 (CH, C-4'); 100,9 (CH, C-8); 106,6 (CH, C-2', C-6'); 113,1 (CH, C-6); 113,5 (C<sub>q</sub>, C-4a); 124,9 (C<sub>q</sub>, C-3); 129,5 (CH, C-5); 137,3 (C<sub>q</sub>, C-1'); 140,7 (CH, C-4); 155,9 (C<sub>q</sub>, C=O); 161,2 (C<sub>q</sub>, C-7); 163,3 (C<sub>q</sub>, C-8a, C-3', C-5').

## Preparació de 15

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat provist d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi introdueix la **14** (0,103 g, 0,330 mmol, 1 eq) en el si de toluè (10 mL) i la piperazina **61** (0,035 mL, *d* = 0,903 g/mL, 0,316 mmol, 1 eq). La mescla es deixa reaccionar amb agitació a 140 ± 10 °C durant 16 hores. Passat aquest temps s'hi afegeix 1 mL (9 mmol) de piperazina i es deixa reaccionar durant 48 hores més.

### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent a sequedat amb l'ajuda del buit directe. El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mescles d'hexà i acetat d'etil i posteriorment acetat d'etil i metanol com a eluents. No s'observa el producte esperat.

## Preparació de 16

### Procediment general

A un tub de microones prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i equipat d'una barra magnètica s'hi addiciona, sempre sota atmosfera inert d'argó, el producte **80** (0,1 g, 0,256 mmol, 1 eq), l'àcid 2-tolilborònic (0,036 g, 0,265 mmol, 1,05 eq), el carbonat de sodi (0,054 g, 0,512 mmol, 1 eq) i el pal·ladi de *tetrakis*(trifenilfosfina) (0) (quantitat catalítica) en DME desgasat i aigua destil·lada (6:1). La mescla es vol fer reaccionar sota irradiació de microones durant 1 hora a 140 ± 10 °C però després de pocs segons en el reactor la pressió interna es desestabilitza, incrementant descontroladament, de manera que la reacció s'atura i el contingut es transvasa a un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament. La mescla es deixa reaccionar en condicions de calefacció clàssiques al laboratori, a 140 ± 10 °C durant 24 hores.

### Final de reacció

S'evapora el dissolvent a sequedat i el residu obtingut s'extreu amb aigua destil·lada (15 mL) i diclorometà (3 X 15 mL).

### Purificació

El cru es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte esperat, un sòlid marró, elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (72:28).

**Rendiment:** 7%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,46 (Hexà/Acetat d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 98-100 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-); 3,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ar); 3,82 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-O (X2)); 6,50 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,50 (s, 1H, H-4'); 6,60 (d, J = 3 Hz, H-8); 6,88 (d, J = 8 Hz, 1H, H-6); 6,89 (m, 3H, H-2'' H-3'', H-4''); 7,28 (d, J = 8 Hz, 1H, H-6''); 7,42 (d, J = 8 Hz, 1H, H-5).

## Preparació de 17

### Procediment general

El compost **13a** (0,113 g, 0,38 mmol, 1,0 eq) es dissol en etanol en un matràs de 100 mL i s'hi addicionen 90 mL d'HCl 2N. La mescla es deixa reaccionar sota agitació constant a 120 °C durant 16 hores.

### Final de reacció

S'evapora el dissolvent al rotavapor, s'afegeix gel al residu abtingut i s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El producte obtingut és un sòlid morat.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,4 (Hexà/Acetats d'etil (5:5))

**Punt de fusió:** 163-164 °C (Acetat d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub> = 271,0970 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 271,0618 [M+H]<sup>+</sup>.

**NMR <sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 400 MHz) δ(ppm):** 3,82 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-O (X2)); 6,51 (t, J = 2 Hz, 1H, H-4'); 6,80 (d, J = 2 Hz, 1 H, H-7); 6,88 (dd, J<sub>1</sub> = 2 Hz, J<sub>2</sub> = 8 Hz, 1H, H-5); 6,93 (d, J = 2 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,57 (d, J = 8 Hz, 1H, H-4); 8,07 (s, 1H, H-3); 9,77 (ba, 1H, OH).

**NMR <sup>13</sup>C ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100,6 MHz) δ(ppm):** 55,8 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>-O (X2)); 101,2 (CH, C-4'); 103,2 (CH, C-7); 107,9 (CH, C-2', C-6'); 114,4 (CH, C-5); 124,7 (C<sub>q</sub>, C-1'); 131,3 (CH, C-4); 138,8 (C<sub>q</sub>, C-3a); 142,1 (CH, C-3); 157,0 (C<sub>q</sub>, C-6); 161,4 (C<sub>q</sub>, C-7a); 162,2 (C<sub>q</sub>, C-3' i C-5'); 162,6 (C<sub>q</sub>, C-2).

## Preparació de 18

### Procediment general

El compost **17** (0,081 g, 0,230 mmol, 1 eq) es dissol en 5 mL de diclorometà anhidre en un matràs de 50 mL de capacitat prèviament flamejat amb argó i es refreda externament a -20 °C. A continuació s'hi addiciona el BBr<sub>3</sub> (0,144 mL, 1,50 mmol, d = 2,60 g/mL, 5,0 eq) i la mescla s'agita a temperatura ambient mantenint l'agitació constant durant 16 hores.

S'assajen altres condicions de reacció tal i com es mostra a l'esquema de reacció per tal d'obtenir el producte final esperat però cap d'elles permet la seva obtenció.

### Final de reacció

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i a continuació s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de gel de sílice. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (54:46).

**Rendiment:** 41%

### Dades analítiques:

**R<sub>f</sub>:** 0,125 (Hexà/Acetats d'etil (5:5))

**Punt de fusió:** 43-45°C (Hexà/Acetat d'etil)

**NMR <sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 400 MHz) δ(ppm):** 6,51 (t, *J* = 2 Hz, 1H, H-4'); 6,73 (d, *J* = 2 Hz, 2H, H-2', H-6'); 6,76 (d, *J* = 2 Hz, 1H, H-7); 6,83 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-5); 7,56 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H-4); 7,94 (s, 1H, H-3).

**NMR <sup>13</sup>C ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100,6 MHz) δ(ppm):** 102,7 (CH, C-7); 103,3 (CH, C-4'); 107,8 (CH, C-2', C-6'); 114,1 (CH, C-3); 124,2 (C<sub>q</sub>, C-4a); 136,7 (CH, C-5); 138,2 (C<sub>q</sub>, C-1'); 141,0 (C<sub>q</sub>, C-4); 156,3 (C<sub>q</sub>, C-6); 159,1 (C<sub>q</sub>, C-3' i C-5'); 160,8 (C<sub>q</sub>, C-7a); 162,3 (C<sub>q</sub>, C-2).

## Preparació de 19

### Procediment general

La **13b** (0,660 g, 2,22 mmol, 1,0 eq) es dissol en 30 mL d'etanol en un matràs de 100 mL i s'hi addicionen 90 mL d'HCl 2N. La mescla es deixa sota agitació constant a 120 °C durant 16 hores.

### Final de reacció

S'evapora el dissolvent al rotavapor, s'hi afegeix gel i tot seguit s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació:

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de gel de sílice. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (2:1). El producte obtingut és un sòlid blanc.

**Rendiment:** 29%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,35 (Hexà/Acetat d'etil (2:1))

**Punt de fusió:** 230-232 °C (Acetat d'etil)

**EM, ESI (+) m/z (%):** Calculat per C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> = 300 [M]. Obtingut: 300 [M<sup>+</sup>, 3,12], 285 [M<sup>+</sup>-15, 21], 255 [M<sup>+</sup>-45, 11,73], 181 [M<sup>+</sup>-C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub>, 27,61].

**IR (ATR) ν cm<sup>-1</sup>:** 3208 (Ar-OH); 1607, 1510, 1446, 1415 (=C-H); 1218 (Ar-O); 1121 (C-O).

**NMR <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ(ppm):** 3,89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,92 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 6,85 (dd, *J* = 2 Hz, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 6,91 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,93 (d, *J* = 2 Hz, 1H, H-7); 7,42 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-4); 7,77 (s, 1H, H-3).

**NMR <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz) δ(ppm):** 56,4 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> (X2)); 61,2 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>); 103,1 (CH, C-3); 106,4 (CH, C-2', C-6'); 114,1 (C, C-4a); 129,4 (CH, C-7); 130,9 (CH, C-5); 138,8 (C, C-1'); 140,8 (CH, C-4); 153,4 (C, C-3', C-4', C-5'); 155,3 (C, C-6); 160,7 (C,C-2); 161,9 (C, C-7a).

## Preparació de 20

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un capçal de vidre amb clau s'hi introdueix el producte de partida **19** (0,065 g, 0,216 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de diclorometà. Es refreda a -78 ± 10 °C i a continuació s'hi afegeix el BBr<sub>3</sub> (0,04 mL, 0,412 mmol, 2 eq) i es manté a aquesta temperatura durant 40 minuts. A continuació, es deixa atemperar i és manté a temperatura ambient durant 16 hores.

### Final de reacció

S'afegeix aigua i gel al cru de reacció i es deixa amb agitació constant durant deu minuts. Passat aquest temps es basifica amb una solució aquosa d'NaOH 5N i es renta la fase aquosa amb

diclorometà (3 X 20 mL). Finalment s'acidifica la fase aquosa amb una solució aquosa de HCl 5N i a continuació s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL) i amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor.

#### Purificació

El producte s'obté amb suficient grau de puresa per passar a la següent etapa de síntesi.

**Rendiment:** 57%

**R<sub>f</sub>:** 0,073 (Hexà/Acetats d'etil (5:5))

**Punt de fusió:** 292-295 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (-) m/z:** Calculat per a C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> = 257,0528 [M-H]<sup>-</sup>. Obtingut: 257,0468 [M-H]<sup>-</sup>.

**IR (ATR) ν cm<sup>-1</sup>:** 3389, 3339, 3197 (Ar-OH); 2922 (Ar-H); 2852 (Ar-H); 1237 (Ar-O).

**RMN <sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 200 MHz) δ(ppm):** 6,72 (dd, J = 2 Hz, J = 8 Hz, 1H, H-5); 6,73 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,74 (d, J = 2 Hz, 1H, H-7); 7,43 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-4); 7,77 (s, 1H, H-3).

**RMN <sup>13</sup>C ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100 MHz) δ(ppm):** 102,8 (CH, C-3); 108,7 (CH, C-2', C-6'); 113,9 (CH, C-7), 124,4 (C, C-3a); 130,39 (CH, C-5); 134,3 (C, C-1'), 139,7 (CH, C-4); 146,3 (C, C-3', C-4', C-5'), 156,0 (C, C-6); 160,9 (C, C-2); 161,5 (C, C-7a).

### Preparació de 21

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL preescalfat a 150 °C s'hi introdueix l'anilina de partida (0,802 g, 5,2 mmol, 3 eq) i la   (0,4 g, 1,7 mmol, 1 eq) dissolts en 20 mL de DMA. La mescla es manté en agitació constant i s'escalfa a 165 °C durant una hora. Passat aquest temps s'atura la reacció.

En un segon intent la reacció és manté durant dues hores, però el rendiment no millora. S'intenta també en un reactor a microones durant 45 minuts a 150 °C però no s'observa el producte final esperat.

#### Final de reacció i purificació

S'afegeix 50 mL d'HCl (2N) al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

El producte final es purifica per cromatografia de columna de gel de sílice manualment. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (86:14) i s'obté un producte amb aspecte de goma vermella.

**Rendiment:** 5%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,194 (Hexà/Acetats d'etil (8:2))

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>17</sub>N<sub>17</sub>NO<sub>3</sub> = 284,1287 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 284,2859 [M+H]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OAr); 3,87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OAr); 3,89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OAr); 6,51 (s, 1H, H-3); 6,65 (d, J = 9 Hz, 1H, H-6); 6,93-6,98 (m, 3H, H-4, H-3', H-5'); 7,84 (d, J = 9 Hz, 2H, H-2', H-6'); 8,26 (ba, 1H, NH). (S'observen senyals corresponents als productes de partida ja que el producte final no s'ha pogut purificar completament mitjançant la tècnica utilitzada).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 55,5 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 55,6 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 55,9 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 98,9 (CH, C-6); 104,1 (CH, C-3); 111,2 (CH, C-4); 114,2 (CH, C-3', C-5'); 121,4 (C<sub>q</sub>, C-7a); 127,2 (C<sub>q</sub>, C-3a); 128,1 (C<sub>q</sub>, C-2); 129,28 (CH, C-2', C-6'); 150,0 (C<sub>q</sub>, C-7); 156,9 (C<sub>q</sub>, C-5); 162,9 (C<sub>q</sub>, C-4'). (S'observen senyals corresponents als productes de partida ja que el producte final no s'ha pogut purificar completament mitjançant la tècnica utilitzada).

## Preparació de 22

### Procediment general

A un matràs de 100 mL preescalfat a 150 °C s'hi introdueix l'anilina de partida (0,403 g, 3,3 mmol, 3 eq) i el compost **87** (0,25 g, 1,1 mmol, 1 eq) dissolts en 10 mL de DMA. La mescla s'escalfa a 165 °C durant una hora. Passat aquest temps s'atura la reacció.

En un segon intent la reacció és manté durant dues hores, però el rendiment disminueix d'un 21% a un 14%. S'intenta també en un reactor a microones durant 45 minuts a 150 °C però no s'observa el producte final esperat.

### Final de reacció i purificació

S'afegeix 50 mL d'HCl (2N) al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El producte final es purifica per cromatografia de columna de gel de sílice manualment tot i que no pot eliminar-se completament la cetona de partida, que es detecta minoritàriament en l'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (9,8:0,2) i s'obté un sòlid vermell.

**Rendiment:** 21%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,763 (Hexà/Acetats d'etil (8:2))

**Punt de fusió:** 88-90 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,39 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ar); 2,50 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ar); 3,87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,23 (s, 1H, H-3); 6,73 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H-6); 6,99 (d, J = 9,1 Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,04 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H-4); 7,13 (s, 1H, NH); 8,50 (d, J = 9,1 Hz, 2H, H-2', H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 15,7 (CH<sub>3</sub>, Ar-CH<sub>3</sub>); 17,7 (CH<sub>3</sub>, Ar-CH<sub>3</sub>); 55,4 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 114,2 (CH, C-3', C-5'); 117,0 (CH, C-3); 122,4 (C<sub>q</sub>, C-7); 124,1 (CH, C-4); 126,1 (C<sub>q</sub>, C-3a); 126,6 (C<sub>q</sub>, C-5); 127,5 (CH, C-6); 130,6 (C<sub>q</sub>, C-1'); 132,1 (CH, C-2', C-6'); 135,1 (C<sub>q</sub>, C-7a); 136,4 (C<sub>q</sub>, C-2); 162,3 (C<sub>q</sub>, C-4'). (S'observen senyals corresponents a la cetona de partida ja que el producte final no s'ha pogut purificar completament mitjançant la tècnica utilitzada).

## Preparació de 23

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix el *resveratrol* (0,1 g, 0,438 mmol, 1 eq) en 15 mL de diclorometà. Tot seguit s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,302 g, 2,190 mmol, 5 eq) i es refreda amb un bany extern d'aigua i gel. A continuació, s'hi afegeix el clorur de pivaloil (0,324 mL, d = 0,979 g/mL, 5,256 mmol, 12 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 16 hores. Passat aquest temps es realitza un control de reacció per cromatografia de capa fina i s'observa producte de partida però no producte el final. El cru de reacció



mostra un precipitat blanc corresponent al producte de partida sense reaccionar. Per tal de millorar la solubilitat del *resveratrol* s'hi afegeix acetona anhidra (15 mL) i trietilamina en excés (5 mL,  $d = 0,726 \text{ g/mL}$ , 35,87 mmol) i es deixa reaccionar 24 hores. L'endemà es repeteix el control de reacció i s'observa la formació d'un nou compost, però queda producte de partida. S'hi afegeixen 15 mL de DMF i 6 equivalents més de clorur de pivaloil i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant sis dies més fins que només s'observa una taca amb  $R_f: 0,55$  (Hexà/Acetats d'etil (9:1)). El canvi de trietilamina per piridina com a base i dissolvent no condueix al producte esperat.

#### Final de reacció

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit i el clorur de pivaloil al rotavapor i el residu restant s'extreu amb dietilèter (3 X 15 mL) i aigua destil·lada. Les fases orgàniques s'ajunten i es renten amb NaOH 2N (2 X 15 mL). La fase orgànica s'asseca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

El producte obtingut es purifica mitjançant una cromatografia columna de gel de sílice en el CombiFlash®  $R_f$  emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final, un sòlid blanc, elueix amb una polaritat del d'hexà/acetat d'etil (86:14).

**Rendiment:** 66%

#### Dades analítiques

$R_f: 0,55$  (Hexà/Acetats d'etil (9:1))

**Punt de fusió:** 141-144 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_6 = 481,2590$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Obtingut: 481,2601  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 503,2426  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 498,2869  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  (majoritari), 978,5389  $[\text{2M}+\text{NH}_4]^+$ , 983,4948  $[\text{2M}+\text{Na}]^+$ .

**IR (KBr)  $\nu \text{ cm}^{-1}$ :** 2963 (CH); 1757 (C=O); 1508 (C=C); 1166 (Ar-O); 1103 (C-O).

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 1,371-1,374 (ba, 27H,  $\text{CH}_3$  (X9)); 6,78 (t,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ , 1H, H-4); 6,98 (d,  $J = 16,4 \text{ Hz}$ , 1H, -HC=C); 7,07 (d,  $J = 8,6 \text{ Hz}$ , 2H, H-3', H-5'); 7,09 (d,  $J = 16,4 \text{ Hz}$ , 1H, HC=C); 7,09 (d,  $J = 2,1 \text{ Hz}$ , 2H, H-2, H-6); 7,49 (d,  $J = 8,6 \text{ Hz}$ , 2H, H-2', H-6').

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100,6 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 26,9 ( $\text{CH}_3$  (X9)); 39,0 ( $\text{C}_q$ , C- $\text{CH}_3$  (X3)); 114,6 (CH, C-4); 117,0 (CH, C-2, C-6); 122,2 (CH, C-3', C-5'); 127,5 (CH, CH=C); 127,9 (CH, C-2', C6'); 123,0 (CH, CH=C); 134,7 ( $\text{C}_q$ , C-1'); 139,9 ( $\text{C}_q$ , C-1); 151,4 ( $\text{C}_q$ , C-4'); 152,3 ( $\text{C}_q$ , C-3, C-5); 177,3 ( $\text{C}_q$ , C=O (X2)); 177,7 ( $\text{C}_q$ , C=O).

### Preparació de 24

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el *resveratrol* (0,1 g, 0,438 mmol, 1 eq) en 15 mL d'acetona. Tot seguit s'hi addiciona la trietilamina (0,3 mL,  $d = 0,726 \text{ g/mL}$ , 2,190 mmol, 5 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant deu minuts. A continuació, es refreda amb un bany extern d'aigua i gel i s'hi afegeix el clorur de dodecanoil (0,625 mL,  $d = 0,92 \text{ g/mL}$ , 2,628 mmol, 6 eq). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant quatre dies.

#### Final de reacció

Es filtra per gravetat el precipitat blanc format i s'evapora el dissolvent a sequedat fins a l'obtenció d'un oli groc. A l'espectre d'RMN- $^1\text{H}$  s'observa que el residu conté producte final però també clorur de dodecanoil. Per tal d'eliminar-lo es fa un rentat amb aigua i bicarbonat però no s'aconsegueix

purificar el producte totalment. El clorur d'àcid no pot es eliminar per hidròlisis ja que l'èster del producte final també és inestable sota aquestes condicions.

#### **Purificació**

El producte final es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice manualment emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (98:2) i s'obté en forma de goma blanca.

**Rendiment:** 52%

#### **Dades analítiques**

**R<sub>f</sub>:** 0,83 (Hexà/Acetat d'etil (9:1))

**Punt de fusió:** 43-45 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>50</sub>H<sub>78</sub>O<sub>6</sub> = 797,5696 [M+Na]<sup>+</sup>. Obtingut: 797,5731 [M+Na]<sup>+</sup>, 792,6151 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (majoritari), 1568,1999 [2M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 1573,1593 [2M+Na]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 0,88 (t, J = 6,7 Hz, 9H, CH<sub>3</sub> (X3)); 1,25-1,29 (m, 48H, CH<sub>2</sub> (X24)); 1,71-1,79 (m, 6H, CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 2,55 (t, J = 7,6 Hz, 6H, CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 6,80 (t, J = 2,0 Hz, 1H, H-4); 6,97 (d, J = 16,3 Hz, 1H, -HC=C); 7,06 (d, J = 16,3 Hz, 1H, -HC=C); 7,08 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,10 (d, J = 2,1 Hz, 2H, H-2, H-6); 7,48 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-2', H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 14,2 (CH<sub>3</sub> (x9)); 22,8 (CH<sub>2</sub> (X3), -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 25,0 (CH<sub>2</sub> (X3), -CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 29,3 (CH<sub>2</sub>); 29,4 (CH<sub>2</sub>); 29,5 (CH<sub>2</sub>); 29,6 (CH<sub>2</sub>); 29,8 (CH<sub>2</sub> (X2)); 32,1 (CH<sub>2</sub> (X3), -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 34,6 (CH<sub>2</sub> (X3), -CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 112,6 (CH, C-3', C-5'); 115,1 (CH, C-4); 117,5 (CH, C-2, C-6); 127,9 (CH, CH=C); 128,3 (CH, C-2', C6'); 130,3 (CH, CH=C); 135,1 (C<sub>q</sub>, C-1'); 140,3 (C<sub>q</sub>, C-1); 151,4 (C<sub>q</sub>, C-4'); 152,3 (C<sub>q</sub>, C-3, C-5); 172,8 (C<sub>q</sub>, C=O (X2)); 173,2 (C<sub>q</sub>, C=O).

### **Preparació de 25**

#### **Condicions a)**

#### **Procediment general**

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el *resveratrol* (0,1 g, 0,438 mmol, 1 eq) en 15 mL de DMF. Tot seguit s'addiciona el hidrur de sodi (0,087 g, 2,190 mmol, 5 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant deu minuts. A continuació, es refreda amb un bany extern d'aigua i gel i s'hi afegeix el clorometilpivalat (0,379 mL, d = 1,045 g/mL, 2,628 mmol, 6 eq). La mescla es deixa reaccionar a 60 ± 10 °C durant vint dies. El 8è dia s'hi afegeix una punta d'espàtula de KI per tal de substituir el clor pel iode i facilitar la reacció.

#### **Final de reacció**

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i es renten dues vegades amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N). Tot seguit la fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### **Purificació**

El producte final es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice manualment emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (95:5). No s'obté suficient quantitat de producte per caracteritzar-ne l'estructura. Es planteja unes altres condicions de reacció.

## Condicions b)

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat amb refrigerant de reflux i agitació magnètica s'hi introdueix el *resveratrol* (0,269 g, 1,178 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL d'isobutanol. Tot seguit s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,814 g, 5,892 mmol, 5 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant quinze minuts. A continuació, s'hi afegeix el clorometilpivalat (1,019 mL, 7,068 mmol, 6 eq). La mescla es deixa reaccionar a  $60 \pm 10$  °C durant dos mesos.

### Final de reacció

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor. El residu obtingut es dissol en diclorometà i es renta amb aigua. La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia en columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents.

El producte elueix amb una polaritat del 82/18 d'Hexà/Acetat d'etil i s'obté un sòlid blanc. Un cop caracteritzat per espectrometria d'RMN-<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C i masses s'observa que no es tracta del producte esperat sinó de la reacció d'addició nucleòfila del fenol en C-3 i C-4' sobre el grup carbonil del clorometilpivalat.

**Rendiment:** no s'obté el producte **25** inicialment esperat però sí el producte diacilat **92** amb un rendiment del 7%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,05 (Hexà/Acetat d'etil (9:1))

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> = 397,2015 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 397,2029 [M+H]<sup>+</sup>, 414,2295 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (majoritari), 810,4248 [2M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

**IE m/z (%):** Calculat per a C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> = 396,1937 [M<sup>+</sup>]. Obtingut: 396,0000.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 1,36 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-C); 1,37 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-C); 5,78 (s, 1H, OH); 6,44 (t, J = 2,1 Hz, 1H, H-4); 6,70 (d, J = 1,5 Hz, 1H, H-6); 6,74 (d, J = 1,3 Hz, 1H, H-2); 6,84 (d, J = 16,3 Hz, 1H, -HC=C); 6,95 (d, J = 16,3 Hz, 1H, -HC=C); 7,02 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,42 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H-2', H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 27,3 (CH<sub>3</sub> (X6)); 39,3 (C<sub>q</sub>, C-CH<sub>3</sub>); 108,5 (CH, C-4); 111,2 (CH, C-2 o C-6); 111,7 (CH, C-2 o C-6); 121,8 (CH, C-3', C-5'); 127,6 (CH, C-2', C6'); 127,9 (CH, CH=C); 128,9 (CH, CH=C); 134,7 (C<sub>q</sub>, C-1'); 139,6 (C<sub>q</sub>, C-1); 150,7 (C<sub>q</sub>, C-4'); 152,2 (C<sub>q</sub>, C-3); 157,0 (C<sub>q</sub>, C-5); 177,6 (C<sub>q</sub>, C=O); 177,7 (C<sub>q</sub>, C=O).

## Preparació de 26

### Procediment general

## Condicions a)

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi introdueix el *resveratrol* (0,2 g, 0,876 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL d'acetona. Tot seguit s'hi addiciona la trietilamina (0,610 mL, d = 0,726 g/mL, 4,381 mmol, 5 eq) i la mescla es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi afegeix l'anhidre diglicòlic (0,610 g,

5,255 mmol, 6 eq) el qual immediatament forma un gel. La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant sis dies.

#### Condicions b)

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó que conté 3,1 equivalents de metòxid sòdic (0,220 g, 4,074 mmol, 3,1 eq) generat *in situ* s'hi introdueix un equivalent de *resveratrol* (0,3 g, 1,314 mmol, 1 eq) dissolt en metanol. La mescla es deixa reaccionar durant 15 minuts per tal de formar l'anió corresponent. Passat aquest temps la dissolució adquireix un color verdós, moment en el qual s'evapora el dissolvent a sequedat. El residu obtingut es dissol de nou en DMF i la solució es refreda amb un bany de gel extern. Tot seguit s'hi afegeix l'anhidre diglicòlic (0,916 g, 7,892 mmol, 6 eq) i la mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant set dies, que ràpidament adquireix un color ataronjat.

#### Condicions c)

A un matràs de 250 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el *resveratrol* (1 g, 4,382 mmol, 1 eq) dissolt en 30 mL de DMF i l'hidrur sòdic (0,876 g, 21,912 mmol, 60% en oli mineral, 5 eq) prèviament rentat amb hexà. La mescla es manté a  $0 \pm 10$  °C amb un bany extern durant 30 minuts i passat aquest temps s'hi afegeix l'anhidre diglicòlic (2,54 g, 21,883 mmol, 5 eq) dissolt en 10 mL de DMF. La reacció adquireix un color marró clar on s'observa un precipitat. Es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 14 dies. L'aspecte lletós del cru de reacció indica que probablement hi ha un problema de solubilitat del producte de partida i els intermedis de reacció consistents en els productes de mono i diacilació. Per tal d'evitar aquests problemes s'afegeixen 20 mL de DMSO, 2,5 equivalents més d'NaH i la reacció s'escalfa a  $50 \pm 10$  °C durant 14 dies.

#### Final de reacció

#### Condicions a)

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit. El residu s'extreu amb 20 mL d'una solució aquosa d'àcid clorhídric 3N i 20 mL acetat d'etil per tal d'eliminar l'excés de trietilamina. Tot seguit la fase orgànica s'extreu amb una solució aquosa saturada de bicarbonat sòdic (3 X 15 mL). Les fases aquoses reunides s'acidifiquen i s'extreuen tres cops amb 20 mL de diclorometà. Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Condicions b)

Es filtra el precipitat format i s'extreu amb acetat d'etil/èter etílic (1/1) i aigua que conté àcid clorhídric 2N (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Condicions c)

Es microdestil·la el dissolvent i el residu obtingut es dissol en una dissolució aquosa àcida (HCl 2N) i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 15 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu obtingut es purifica en els tres casos per cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. Mentre que no s'observa el producte final esperat, sí que s'obté el producte de monoacilació (R<sub>f</sub>: 0,093 Acetat d'etil 100%) d'un dels alcohols, que elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (30:60).

**Rendiment:** 0% (de compost **26** derivat de l'acilació dels tres fenols). El producte de monoacilació **93** s'obté amb un 9% en les condicions a) i amb un 20% en les condicions b). En les condicions c) només es recupera el producte de partida.

### Dades analítiques del compost 93

**R<sub>f</sub>:** 0,13 (Acetat d'etil/Metanol (7:3))

**Punt de fusió:** 173-174 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (-) m/z:** Calculat per a C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub> = 343,0818 [M-H]<sup>-</sup>. Obtingut: 343,0803 [M-H]<sup>-</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 400 MHz) δ(ppm):** 4,33 (s, 2H, CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-COOH); 4,54 (s, 2H, CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-COOH); 6,56 (t, J = 2,1 Hz, 1H, H-4); 6,84 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,87 (t, J = 1,6 Hz, 1H, H-6)\*; 6,91 (t, J = 1,6 Hz, 1H, H-2)\*; 6,96 (d, J = 16,4 Hz, 1H, -HC=C); 7,12 (d, J = 16,4 Hz, 1H, -HC=C); 7,44 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H-2', H-6').

\*Intercanviables

**RMN <sup>13</sup>C ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100,6 MHz) δ(ppm):** 68,4 (CH<sub>2</sub>, CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-COOH); 68,7 (CH<sub>2</sub>, CO-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-COOH); 109,0 (CH, C-4); 111,6 (CH, C-6); 112,1 (CH, C-2); 116,9 (CH, C-3', C-5'); 126,2 (CH, CH=C); 129,5 (CH, C-2', C-6'); 130,2 (C<sub>q</sub>, C-1'); 131,0 (CH, CH=C); 141,8 (C<sub>q</sub>, C-1); 153,3 (C<sub>q</sub>, C-3); 159,1 (C<sub>q</sub>, C-4'); 160,0 (C<sub>q</sub>, C-5); 170,1 (C<sub>q</sub>, COO-R); 172,1 (C<sub>q</sub>, COOH).

## Preparació de 29

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el *resveratrol* (1 g, 4,381 mmol, 1 eq) dissolt en 30 mL acetona i el carbonat de potassi anhidre (3,6 g, 26,043 mmol, 12 eq). La mescla es refreda amb un bany de gel extern i a continuació s'hi afegeix el bromoetanol (3 mL, d = 1,763 g/mL, 42,274 mmol, excés). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 dies, afegint 0,3 mL (4,227 mmol) d'agent alquilant cada 3 dies.

La cromatografia per capa fina mostra que als tres dies de reacció encara queda majoritàriament producte de partida i que es forma producte de monoalquilació. S'hi afegeix més agent alquilant (0,3 mL, d = 1,763 g/mL, 4,227 mmol) els dies 3, 5 i 14 de reacció. El dia 14 de reacció s'hi afegeix també sis equivalents més de carbonat potàssic i 50 mL d'etanol per tal de millorar la solubilitat dels productes mono i dialquilat i així afavorir la seva reactivitat.

### Final de reacció

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit i el residu obtingut es dissol en acetat d'etil i es renta tres cops amb una dissolució aquosa àcida (HCl 1N). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia columna de gel de sílice manualment emprant mesclures d'hexà/acetat d'etil i acetat d'etil/metanol de polaritat creixent com a eluents.

S'obtenen els següents productes de reacció:

#### Dades del producte de monoalquilació 27

S'obté un sòlid gomós de color groc clar que elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (50:50). L'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H permet identificar el producte de monoalquilació **27**, essent aquest el que s'indica en l'esquema de reacció i que forma part del nucli aromàtic relacionat amb el resorcinol.

**Rendiment:** 17%

**R<sub>f</sub>:** 0,405 (Hexà/Acetats d'etil (3:7))

**Punt de fusió:** 166-168 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub> = 273,1127 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 273,1123 [M+H]<sup>+</sup>, 567,2006 [2M+Na]<sup>+</sup>.

**EM, ESI (-) m/z:** Calculat per a C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub> = 271,0970 [M-H]<sup>-</sup>. Obtingut: 271,0977 [M-H]<sup>-</sup>, 543,2021 [2M-H]<sup>-</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,87 (t, J = 4,8 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 4,06 (t, J = 4,7 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 4,08 (s, 1H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 6,33 (t, J = 2,2 Hz, 1H, H-4); 6,64 (dd, J<sub>1</sub> = 2,0 Hz, J<sub>2</sub> = 4,1 Hz, H-2, H-6); 6,84 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,92 (d, J = 16,3 Hz, 1H, -HC=C); 7,09 (d, J = 16,3 Hz, 1H, -HC=C); 7,42 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H-2', H-6'); 8,42 (ba, 1H, Ar-OH); 8,56 (ba, 1H, Ar-OH).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 61,6 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 70,7 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 102,4 (CH, C-4); 105,0 (CH, C-6); 107,3 (CH, C-2); 116,9 (CH, C-3', C-5'); 127,6 (CH, CH=C); 129,3 (CH, C-2', C-6'); 130,0 (CH, CH=C); 130,5 (C<sub>q</sub>, C-1'); 141,5 (C<sub>q</sub>, C-1); 159,0 (C<sub>q</sub>, C-3); 160,3 (C<sub>q</sub>, C-4'); 162,3 (C<sub>q</sub>, C-5).

#### Dades del producte de dialquilació 28

S'obté un sòlid gomós de color groc clar que elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (30:7).

**Rendiment:** 9%

**R<sub>f</sub>:** 0,19 (Hexà/Acetats d'etil (3:7))

**Punt de fusió:** 138-140 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, MaldiTOF sense matriu (-):** Calculat per a C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub> = 315,1232 [M-H]<sup>-</sup>. Obtingut: 315,1247 [M-H]<sup>-</sup>

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,92 (ba, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH (X2)); 3,85-3,89 (m, 4H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH (X2)); 4,04-4,10 (m, 4H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH (X2)); 6,34 (t, J = 2,2 Hz, 1H, H-4); 6,65 (dd, J<sub>1</sub> = 1,92 Hz, J<sub>2</sub> = 7,7 Hz, 2H, H-2, H-6); 6,94 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,97 (d, J = 16,0 Hz, 1H, -HC=C); 7,12 (d, J = 16,0 Hz, 1H, -HC=C); 7,50 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-2', H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 61,5 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 61,6 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 70,7 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 70,9 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 102,6 (CH, C-4); 105,1 (CH, C-6); 107,4 (CH, C-2); 116,1 (CH, C-3', C-5'); 128,0 (CH, CH=C); 129,2 (CH, C-2', C-6'); 131,6 (CH, CH=C); 131,6 (C<sub>q</sub>, C-1'); 141,4 (C<sub>q</sub>, C-1); 160,3 (C<sub>q</sub>, C-5); 160,7 (C<sub>q</sub>, C-3); 162,3 (C<sub>q</sub>, C-4').

#### Dades del producte de trialquilació 29

Elueix amb una polaritat del 100% acetat d'etil i s'obté un sòlid gomós de color blanc.

**Rendiment:** 0,7%

**R<sub>f</sub>:** 0,095 (Hexà/Acetats d'etil (3:7))

**Punt de fusió:** 100 - 102 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub> = 317,1389 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 361,1656 [M+H]<sup>+</sup>, 383,1430 [M+Na]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,96 (ba, 6H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH (X3)); 3,96 (s, 3H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 4,09 (t, *J* = 4,8 Hz, 6H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH (X3)); 6,42 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H, H-4); 6,75 (d, *J* = 2,2 Hz, 2H, H-2, H-6); 6,95 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,01 (d, *J* = 16,4 Hz, 1H, -HC=C); 7,20 (d, *J* = 16,4 Hz, 1H, -HC=C); 7,52 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-2', H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 61,6 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 70,9 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 101,9 (CH, C-4); 106,3 (CH, C-2, C-6); 116,1 (CH, C-3', C-5'); 127,9 (CH, CH=C); 129,3 (CH, C-2', C-6'); 130,1 (CH, CH=C); 131,6 (C<sub>q</sub>, C-1'); 141,4 (C<sub>q</sub>, C-1); 160,7 (C<sub>q</sub>, C-4'); 162,3 (C<sub>q</sub> (X2), C-3, C-5).

## Preparació de 30

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un refrigerant s'hi introdueix el producte de partida (0,1 g, 0,367 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF, el carbonat de potassi anhidre (0,203 g, 1,468 mmol, 4 eq) i 1 mL de iodur de metil (16,063 mmol, excés). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 16 hores.

### Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb una dissolució aquosa d'NaOH (2N) (3 X 20 mL) per tal d'eliminar el producte de partida i els possibles subproductes formats amb algun fenol lliure. La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor.

### Purificació

El producte es purifica amb una cromatografia de columna de gel de sílice manualment emprant mescles d'hexà i acetat d'etil polaritat creixent com a eluent. El producte final elueix amb una polaritat de 7/3 d'hexà/acetat d'etil.

**Rendiment:** 34%

**R<sub>f</sub>:** 0,162 (Hexà/Acetats d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 56-59 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, MALDI-TOF (+) amb matriu DHB<sub>sat</sub>. (CH<sub>3</sub>CN):** Calculat per a C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub> = 300,1362 [M]<sup>0+</sup>. Obtingut: 300,2 [M]<sup>0+</sup>, 301,2 [M+H]<sup>+</sup>, 323,2 [M+Na]<sup>+</sup>, 623,3 [2M+Na]<sup>+</sup>. DHB<sub>sat</sub>: Àcid dihidroxibenzoic saturat.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,64 (ba, 1H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 3,79 (s, 6H, -O-CH<sub>3</sub> (X2)); 3,90 (t, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 4,04-4,07 (m, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 6,34 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H, H-4); 6,61 (d, *J* = 2,2 Hz, 2H, H-2, H-6); 6,83-6,89 (m, 3H, H-3', H-5', -HC=C); 7,00 (d, *J* = 16,3 Hz, 1H, HC=C); 7,40 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H-2', H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 55,3 (CH<sub>3</sub> (X2), C-3-OCH<sub>3</sub>, C-5-OCH<sub>3</sub>); 61,0 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 69,3 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH); 99,8 (CH, C-4); 104,6 (CH, C-3', C-5'); 115,0 (CH, C-2', C-6'); 127,0 (CH, CH=C); 128,2 (CH, C-2, C-6); 129,0 (CH, CH=C); 130,6 (C<sub>q</sub>, C-1'); 140,0 (C<sub>q</sub>, C-1); 160,6 (C<sub>q</sub>, C-4'); 161,5 (C<sub>q</sub> (X2), C-3, C-5).

## Preparació de 31

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat d'un refrigerant s'hi introdueix el *resveratrol* (0,2 g, 0,876 mmol, 1 eq) dissolt en DMF, el carbonat de potassi anhidre (0,727 g, 5,258 mmol, 6 eq) i 1 mL (16,063 mmol,

excés) de iodur de metil. La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient i al cap de sis hores s'hi afegeixen 0,5 mL (8,032 mmol) més d'agent alquilant. L'endemà s'hi afegeixen 0,5 mL més de iodur de metil. La reacció s'atura al cap de tres dies ja que per capa fina s'observa que no queda producte de partida i s'ha format un nou producte amb  $R_f$ : 0,743 (Hexà/Acetat d'etil (5:5)).

#### Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb una dissolució aquosa d'NaOH (2N) (3 X 20 mL) per tal d'eliminar el producte de partida i els possibles subproductes formats derivats de la mono o dialquilació. La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor obtenint un sòlid blanc.

#### Purificació

El producte no requereix posterior purificació.

**Rendiment:** 100%

#### Dades analítiques

$R_f$ : 0,7463 (Hexà/Acetat d'etil (5:5))

**Punt de fusió:** 50-52 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a  $C_{17}H_{18}O_3 = 271,1334 [M+H]^+$ . Obtingut: 271,1323  $[M+H]^+$ .

**RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,827 (s, 3H, C-4'-O- $CH_3$ ); 3,833 (s, 6H, C-3-O- $CH_3$ , C-5-O- $CH_3$ ); 6,40 (t,  $J = 2,3$  Hz, 1H, H-4); 6,68 (d,  $J = 2,3$  Hz, 2H, H-2, H-6); 6,91 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,92 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H, -HC=C); 7,06 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H, -HC=C); 7,46 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H, H-2', H-6').

**RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 55,27 ( $CH_3$ , C-4-O $CH_3$ ); 55,31 ( $CH_3$  (X2), C-3-O $CH_3$ , C-5-O $CH_3$ ); 99,9 (CH, C-4); 104,6 (CH, C-2, C-6); 114,5 (CH, C-3', C-5'); 127,0 (CH, CH=C); 128,2 (CH, C-2', C-6'); 129,1 (CH, CH=C); 130,3 ( $C_q$ , C-1'); 140,2 ( $C_q$ , C-1); 160,0 ( $C_q$ , C-4'); 161,6 ( $C_q$ (X2), C-3, C-5).

## Preparació de 32

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el *resveratrol* (0,4 g, 1,752 mmol, 1 eq) dissolt en acetona i la trietilamina (1,22 mL,  $d = 0,726$  g/mL, 8,761 mmol, 5 eq). La mescla es refreda a  $-78 \pm 10$  °C i a continuació s'hi afegeix l'anhidrid triflic (0,888 g, 5,256 mmol, 3 eq). La mescla és manté a  $-78 \pm 10$  °C durant 3 hores i després es guarda a la nevera fins a l'endemà.

#### Final de reacció

S'evapora l'acetona i al residu obtingut s'hi afegeix aigua amb gel i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques es renten amb una solució aquosa de carbonat sòdic (20 mL) i s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor. En posar el matràs al buit el contingut solidifica instantàneament.

#### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash®  $R_f$  emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluent. El producte final elueix amb una polaritat del 100% d'hexà.

$R_f$ : 0,45 (Hexà/Acetat d'etil (9,5:0,5))

**Rendiment:** 32%

**Punt de fusió:** 100-102 °C (Hexà/Acetat d'etil)



**EM, ESI (-) m/z:** Calculat per a  $C_{17}H_9F_9O_9S_3 = 622,9192 [M-H]^-$ . Obtingut: 622,9187  $[M-H]^-$ .

**RMN  $^1H$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,05 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H, -HC=C); 7,14 (t,  $J = 2,2$  Hz, 1H, H-4); 7,32 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H, -HC=C); 7,32 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,61 (d,  $J = 2,2$  Hz, 2H, H-2, H-6); 7,61 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-2', H-6').

**RMN  $^{13}C$  (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 114,4 (CH, C-4); 117,5 (C<sub>q</sub> (X2), CF<sub>3</sub>); 119,6 (CH, C-2, C-6); 120,7 (C<sub>q</sub>, CF<sub>3</sub>); 122,4 (CH, C-3', C-5'); 127,2 (CH, CH=C); 129,1 (CH, C-2', C-6'); 132,0 (CH, CH=C); 136,4 (C<sub>q</sub>, C-1'); 141,8 (C<sub>q</sub>, C-1); 150,1 (C<sub>q</sub>, C-4'); 150,4 (C<sub>q</sub>, C-3, C-5).

### Preparació de 33

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida **32** (0,1 g, 0,160 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de toluè, el carbonat de cesi (0,254 g, 0,72 mmol, 4,5 eq), el pal·ladi (q.c.) i el ( $\pm$ )-BINAP (q.c.) i finalment la morfolina (0,005 mL, 0,576 mmol, 3,6 eq). La mescla s'escalfa a  $130 \pm 10$  °C durant dos dies sota agitació constant. Passat aquest temps no s'observa la presència del producte esperat en l'espectre d'RMN- $^1H$  sinó derivats de la degradació del producte de partida.

En un segon intent la mescla de reacció es refreda a  $-20 \pm 10$  °C abans de l'addició de la morfolina i es manté a aquesta temperatura un cop afegida durant 6 hores. Posteriorment es deixa a temperatura ambient durant 2 dies. Passat aquest temps s'afegeix 1 mL més de morfolina, quantitat catalítica de ( $\pm$ )-BINAP i pal·ladi i 3 mL d'acetona per tal de millorar la solubilitat dels productes de mono i disubstitució. S'escalfa la reacció a  $50 \pm 10$  °C durant 7 dies.

#### Final de reacció

S'afegeixen 20 mL d'una solució aquosa d'NaOH (2N) al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit.

#### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna manualment de gel de sílice, emprant mescles d'hexà i acetat d'etil i posteriorment acetat d'etil i metanol com a eluent. No s'observa el producte final esperat **33** però s'obté el producte de la substitució de dos dels fenols per morfolina (**96**), que elueix amb metanol 100%.

**Rendiment:** 8% del producte **96**

**R<sub>f</sub>:** 0,734 (Acetat d'etil/Metanol (8:2))

**Punt de fusió:** 126-128 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a  $C_{22}H_{26}N_2O_3 = 367,2022 [M+H]^+$ . Obtingut: 367,1943  $[M+H]^+$

**RMN  $^1H$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,42 (t,  $J = 5$  Hz, 6H, CH<sub>2</sub>-N); 3,43 (t,  $J = 5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>-N); 3,86 (t,  $J = 5$  Hz, 6H, CH<sub>2</sub>-O); 3,64 (t,  $J = 5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>-O); 6,76 (dd,  $J_1 = 8,2$  Hz,  $J_2 = 16,3$  Hz, 2H, -HC=CH); 7,13 (ba, 1H, OH); 7,28-7,30 (m, 1H, H-4); 7,31 (d,  $J = 8$  Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,37 (dd,  $J_1 = 8,5$  Hz,  $J_2 = 12$  Hz, 1H, H-2); 7,61 (dd,  $J_1 = 7$  Hz,  $J_2 = 12$  Hz, 1H, H-6); 7,74 (d,  $J = 8$  Hz, 2H, H-2', H-6')

**RMN  $^{13}C$  (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 41,9 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-N); 45,8 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-N); 66,6 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O); 66,9 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O); 121,0 (C<sub>q</sub>, C-1'); 126,2 (CH, C-4); 127,1 (CH, C-2); 127,9 (CH, C-3', C-5'); 128,2 (CH, C-6); 131,0 (CH, CH=C); 131,0 (CH, CH=C); 131,8 (CH, C-2', C-6'); 133,2 (C<sub>q</sub>, C-1); 142,5 (C<sub>q</sub>, C-4'); 152,4 (C<sub>q</sub>, C-5); 154,2 (C<sub>q</sub>, C-3).

## Preparació de 34

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat amb un refrigerant de reflux s'hi introdueix l'àcid carboxílic de partida (0,150 g, 0,416 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el bicarbonat (0,035 g, 0,416 mmol, 1 eq) i 1 mL ( $d = 2,28 \text{ g/mL}$ , 16,063 mmol, excés) de iodur de metil. La mescla resultant s'agita a temperatura ambient i al cap de 6 hores s'hi afegeix 1 mL més de iodur de metil. La mescla es deixa reaccionar sota agitació constant i a temperatura ambient un total de 7 dies.

### Final de reacció

S'afegeixen 20 mL d'aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Tot seguit la fase orgànica es renta amb una solució aquosa saturada de bicarbonat de sodi i s'asseca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El producte final, un sòlid blanc, s'obté amb la puresa suficient per seguir amb la seqüència sintètica.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,54 (Hexà/Acetats d'etil (1:1))

**Punt de fusió:** 134 - 135 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_7$   $[\text{M}+\text{H}]^+ = 375,1444$ . Obtingut: 375,1459  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 397,1280  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 392,1726  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ .

**IR (KBr)  $\nu \text{ cm}^{-1}$ :** 3398 (OH); 2926 (CH); 1709 (C=O); 1508 (C=C); 1247 (Ar-O); 1127 (C-O).

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 3,76 (s, 6H,  $\text{OCH}_3$  (X2)); 3,78 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,83 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 5,52 (s, 1H, Ar-OH); 6,43 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,62-6,66 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 7,70 (s, 1H, C=C-H).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100,6 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 52,3 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{COOCH}_3$ ); 55,8 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_4'\text{-OCH}_3$ ); 56,1 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_3'\text{-OCH}_3$ ,  $\text{C}_5'\text{-OCH}_3$ ); 107,0 (CH, C-2', C-6'); 110,5 (CH, C-5''); 117,0 (CH, C-2''); 124,1 (CH, C-6''); 128,2 (C, C-1'); 130,6 (CH, C-1''); 131,8 ( $\text{C}_q$ , C2-COOMe); 138,2 ( $\text{C}_q$ , C-4'); 140,8 (CH, C=C3-H); 145,6 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_3''$ ); 148,1 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_4''$ ); 154,1 ( $\text{C}_q$ , C-3', C-5'); 169,1 ( $\text{C}_q$ , CO).

## Preparació de 35

### Partint del producte 34

### Procediment general

A un matràs de 20 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi introdueix el producte de partida (0,06 g, 0,160 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL DMF. A continuació, s'hi afegeixen el carbonat de potassi anhidre (0,044 g, 0,320 mmol, 2 eq) i la mescla es refreda amb un bany extern de gel i aigua. Tot seguit s'hi afegeix el clorur de 4-cianobenzensulfonil (0,032 g, 0,160 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar amb agitació constant durant cinc dies a temperatura ambient. El segon dia s'hi afegeix un equivalent més de clorur de cianobenzensulfonil (**108**) ja que per cromatografia de capa fina s'observa encara producte de partida sense reaccionar.

### Final de reacció

S'afegeixen 20 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i aquest s'extreu amb dietilèter (3 X 15 mL). La fase aquosa es basifica i s'extreu de nou tres cops amb 15 mL de dietilèter. Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre sulfat sòdic i s'evapora el dissolvent a sequedat.

## Purificació

El producte obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice manualment. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil/NH<sub>4</sub>OH (49:49:2) i s'obté com a sòlid blanc.

## Partint del producte 110

---

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat i equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'àcid de partida (0,122 g, 0,232 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,064 g, 0,464 mmol, 2 eq) i 1 mL (d = 2,28 g/mL, 16,063 mmol) de iodur de metil. La mescla resultant s'agita a temperatura ambient i al cap de 6 hores s'hi afegeixen 0,7 mL més de iodur de metil. La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient un total de 16 hores mantenint l'agitació constant.

### Final de reacció

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i es renten dues vegades amb una dissolució aquosa d'NaHCO<sub>3</sub>. Tot seguit la fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El sòlid obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (60:40). A continuació, es realitza una cromatografia preparativa de gel de sílice usant com a fase mòbil una mescla d'hexà i acetat d'etil (50:50) més un 0,09% d'hidròxid d'amoni. Finalment s'obté el producte en forma de goma de color groc crema.

**Rendiment:** 25% partint del compost **34** i 16% partint del compost **110**.

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,442 (Hexà/Acetats d'etil/NH<sub>4</sub>OH (49:49:2))

**Punt de fusió:** 160-162 °C

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>S = 540,1328 [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 540,1363 [M+H]<sup>+</sup>, 557,1623 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>, 562,1178 [M+Na]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,57 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>); 3,79 (s, 6H, C-3'-OCH<sub>3</sub>, C-5'-OCH<sub>3</sub>); 3,81 (s, 3H, C-4'-OCH<sub>3</sub>); 3,92 (s, 3H, C-4''-OCH<sub>3</sub>); 6,41 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,72 (d, J = 8,7 Hz, 1H, H-5''); 6,91 (s, 1H, H-2''); 7,05 (d, J = 8,4 Hz, 1H, H-6''); 7,69 (s, 1H, C=CH); 7,82 (d, J = 7,7 Hz, 2H, H-3''', H-5'''); 7,91 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-2''', H-6''').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 52,5 (CH<sub>3</sub>, COOCH<sub>3</sub>); 55,7 (CH<sub>3</sub>, C-4''-OCH<sub>3</sub>); 56,2 (CH<sub>3</sub>, C-3'-OCH<sub>3</sub>, C-5'-OCH<sub>3</sub>); 61,0 (CH<sub>3</sub>, C-3'-OCH<sub>3</sub>); 106,8 (CH, C-2', C-6''); 112,6 (CH, C-5''); 115,0 (CH, C-2''); 117,4 (C<sub>q</sub>, C-4'''); 118,0 (C<sub>q</sub>, CN); 126,2 (CH, C-6''); 128,2 (C<sub>q</sub>, C-1'); 129,4 (CH, C-2''', C-6'''); 131,1 (C<sub>q</sub>, C-3'''); 132,3 (C<sub>q</sub>, C-1''); 133,1 (CH, C-3''', C-5'''); 138,0 (C<sub>q</sub>, C-2); 138,5 (C<sub>q</sub>, C-4'); 138,9 (CH, C-3); 141,1 (C<sub>q</sub>, C-1'''); 152,6 (C, C-4''); 154,5 (C, C-3', C-5'); 168,7 (C, C=O).

**Partint del producte 119****Procediment general**

A un matràs de 100 mL de capacitat i equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'àcid de partida (**199**) (0,548 g, 1,104 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,305 g, 2,207 mmol, 2 eq) i 1 mL (2,28 g/mL, 16,063 mmol) de iodur de metil. La mescla resultant s'agita constantment a temperatura ambient i al cap de 6 hores s'hi afegeixen 0,7 mL més de iodur de metil. La mescla es deixa reaccionar mantenint l'agitació constant i a temperatura ambient un total de 16 hores.

**Final de reacció**

S'afegeix al cru de reacció 20 mL de solució aquosa saturada de bicarbonat sòdic i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i es renten dues vegades amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N). Tot seguit la fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

**Rendiment:** 0% del producte **36**, 25% del producte **120**.

**Purificació**

El cru es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents però no s'obté el producte final esperat sinó que s'obté l'àcid fosfòric (**120**) corresponent en forma de goma groga.

**Dades analítiques**

**R<sub>f</sub>:** 0,46 (Hexà/Acetats d'etil (1:1))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm):** 3,77 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X<sub>2</sub>)); 3,79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,92 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,42 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,64 (s, 1H, OH); 6,69 (d, *J* = 2 Hz, 1H, H-2''); 6,77 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-5''); 6,87 (s, 1H, OH); 6,96 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2 Hz *J*<sub>2</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-6''); 7,70 (s, 1H, H-3).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz) δ(ppm):** 52,5 (CH<sub>3</sub>, COOCH<sub>3</sub>); 56,0 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 56,3 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub> (X<sub>2</sub>)); 61,1 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 104,3 (CH, C-2', C-6' (minoritari)); 106,6 (CH, C-2', C-6' (majoritari)); 111,9 (CH, C-2'' (majoritari)); 112,3 (CH, C-2'' (minoritari)); 122,9 (CH, C-5'' (minoritari)); 127,1 (CH, C-5'' (majoritari)); 127,3 (C<sub>q</sub>, C-1'' (minoritari)); 127,4 (C<sub>q</sub>, C-1'' (majoritari)); 130,2 (CH, C-6''); 130,4 (C<sub>q</sub>, C-1' (majoritari)); 130,7 (C<sub>q</sub>, C-1' (minoritari)); 130,8 (C<sub>q</sub>, C-2); 137,9 (C<sub>q</sub>, C-3''); 139,3 (CH, C-3 (majoritari)); 139,6 (CH, C-3 (minoritari)); 152,1 (C<sub>q</sub>, C-4''); 153,4 (C<sub>q</sub>, C-4'); 153,8 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 168,3 (C<sub>q</sub>, C=O (majoritari)); 168,8 (C<sub>q</sub>, C=O (minoritari)).

En l'espectre d'RMN-<sup>13</sup>C s'observen les senyals duplicades. Això es deu a que hi ha dos rotàmers, un de minoritari i un de majoritari.

**Partint del producte 34****Procediment general**

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix l'èster de partida (0,085 g, 0,227 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'acetat d'etil i es refreda a -78 ± 10 °C. A continuació, s'hi addiciona el POCl<sub>3</sub> (0,021 mL, d = 1,645 g/mL, 0,227 mmol, 1 eq). Passats deu minuts s'hi addiciona la trietilamina (0,032 mL, d = 0,726 g/mL, 0,227 mmol, 1 eq) i la mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient. Al dia següent s'observa per cromatografia de capa fina que queda producte de partida i s'hi afegeix POCl<sub>3</sub> (0,021 mL) i Et<sub>3</sub>N

en excés (10 mL). Al cap de dues hores s'atura la reacció: es filtra el cru i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajuda del buit. A continuació, s'hi afegeixen 20 mL d'etanol mentre es manté el matràs en un bany a  $0 \pm 5$  °C i posteriorment es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 16 hores sota agitació constant.

#### **Final de reacció**

S'evapora el dissolvent a sequedat. El cru s'extreu amb 15 mL de dietilèter i 15 mL d'una solució aquosa d'NaOH 1N. Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### **Purificació**

El producte obtingut es purifica mitjançant una cromatografia columna de gel de sílice manualment emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (40:60).

**Rendiment:** 18%

#### **Dades analítiques**

**R<sub>f</sub>:** 0,20 (6 mL diclorometà i 5 gotes de MeOH)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 1,31 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H, POOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (X2)); 3,75 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 3,77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,0-4,10 (m, 4H, POOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (X2)); 6,40 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,58-6,67 (m, 3H, H-2'', H-3'', H-5''); 7,68 (s, 1H, C=CH).

### **Preparació de 37**

#### **Procediment general**

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix l'èster de partida (0,103 g, 0,274 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'acetat d'etil. A continuació, s'hi addiciona el POCl<sub>3</sub> (0,025 mL, *d* = 1,645 g/mL, 0,274 mmol, 1 eq) i la reacció es refreda a  $-78 \pm 10$  °C. Tot seguit s'hi addiciona la trietilamina (0,038 mL, *d* = 0,726 g/mL, 0,274 mmol, 1 eq) i la mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient. S'observa la formació d'un precipitat blanc format per hidrocloreur de trietilamina.

Al cap de 2 hores es realitza un control de reacció per cromatografia de capa fina i s'observa que no queda producte de partida, de manera que es filtra el precipitat blanc i s'evapora el dissolvent a sequedat. A continuació, s'hi afegeix etanol mentre es manté el matràs en un bany a  $-78 \pm 10$  °C i posteriorment es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 16 hores sota agitació constant.

#### **Final de reacció**

S'evapora el dissolvent a sequedat i el residu s'extreu tres cops amb 15 mL de dietilèter i 15 mL d'una solució aquosa d'NaOH 1N. Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### **Purificació**

El producte obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (20:80) i s'obté un producte groc amb textura gomosa.

**Rendiment:** 18%

#### **Dades analítiques**

**R<sub>f</sub>:** 0,12 (Hexà/Acetats d'etil (1:1))

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a  $C_{24}H_{33}O_{10}P = 513,1890$ . Obtingut: 513,1914  $[M+H]^+$ , 530,2183  $[M+NH_4]^+$ , 535,1734  $[M+Na]^+$ , 1047,3564  $[2M+Na]^+$ .

**RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 1,34 (qt,  $J_1 = 1,08$  Hz,  $J_2 = 7,04$  Hz, 6H,  $POOCH_2CH_3$  (X2)); 2,92 (dd,  $J_1 = 6,52$  Hz,  $J_2 = 6,48$  Hz, 1H, H-3); 3,29 (dd,  $J_1 = 9,0$  Hz,  $J_2 = 9,08$  Hz, 1H, H-3); 3,62 (s, 3H,  $COOCH_3$ ); 3,82 (s, 6H,  $OCH_3$  (X2)); 3,72 (dd,  $J_1 = 6,52$  Hz,  $J_2 = 6,44$  Hz, 1H, H-2); 3,84 (s, 6H,  $OCH_3$  (X2)); 4,17-4,27 (m, 4H,  $POOCH_2CH_3$  (X2)); 6,50 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,79 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-5''); 6,85 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-6''); 7,11 (s, 1H, H-2'').

**RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 15,78 ( $CH_3$ ,  $POOCH_2CH_3$ ); 15,84 ( $CH_3$ ,  $POOCH_2CH_3$ ); 38,9 ( $CH_2$ , C-3); 52,0 ( $CH$ , C-2); 53,6 ( $CH_3$ ,  $COOCH_3$ ); 56,0 ( $CH_3$ , Ar- $OCH_3$ ); 56,1 ( $CH_3$ , Ar- $OCH_3$  (X2)); 60,8 ( $CH_3$ , Ar- $OCH_3$ ); 64,6 ( $CH_2$ ,  $POOCH_2CH_3$ ); 64,6 ( $CH_2$ ,  $POOCH_2CH_3$ ); 105,2 ( $CH$ , C-2', C-6'); 112,8 ( $CH$ , C-5''); 122,2 ( $CH$ , C-2''); 126,5 ( $CH$ , C-6''); 132,0 (C, C-1'); 134,5 (C, C-1''); 137,7 (C, C-3''); 140,2 (C, C-4'); 149,8 (C, C-4''); 153,8 (C, C-3', C-5'); 174,4 (C, C=O).

## Preparació de 38

### Procediment experimental

A un matràs de 100 mL flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addiciona (0,353 g, 0,941 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de metanol i 2 mL de trifluoro de boro eterat (16,2 mmol, 16,2 eq). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 6 dies amb agitació constant.

### Final de reacció

S'evapora el dissolvent al rotavapor, s'afegeix aigua destil·lada (15 mL) al residu obtingut i s'extreu amb dietilèter/acetat d'etil 1/1 (3 X 15 mL). La fase orgànica es renta amb una solució aquosa de bicarbonat (3 X 15 mL), s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (85:15) i finalment s'obté en forma de sòlid taronja.

En l'espectre d'RMN- $^1H$  s'observen les senyals duplicades. Això es deu a que hi ha dos rotàmers, un de minoritari i un de majoritari. Es realitza un protó a elevada temperatura (22 °C - 55 °C) i 80 °C però no s'observen canvis significatius en els desplaçaments.

**Rendiment:** 41% (minoritari + majoritari)

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,063 i 0,075 (Diclorometà 100%) (2 rotàmers)

**IR (ATR)  $\nu$   $cm^{-1}$ :** 2919 (Ar-H); 1702 (C=O); 1581 (C=C); 1232 (Ar-O); 1121 (C-O).

**RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,77 (s, 6H,  $OCH_3$  (X2)); 6,35 (s, 2H, H-2', H-6' (majoritari)); 6,58 (s, 2H, H-2', H-6' (minoritari)); 6,83 (s, H-3 (minoritari)); 6,92 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, H-5'' (majoritari)); 7,80 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, H-5' (minoritari)); 7,10 (dd,  $J_1 = 2$ ,  $J_2 = 8$  Hz, 1H, H-6' (majoritari)); 7,58 (dd,  $J_1 = 2$ ,  $J_2 = 8$  Hz, 1H, H-6'' (minoritari)); 7,72 (s, 1H, H-3 (majoritari)); 7,85 (d,  $J = 2$  Hz, H-2'' (majoritari)); 8,15 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, H-2'' (minoritari)).

**RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 52,6 ( $CH_3$ ,  $COOCH_3$ ); 56,2 ( $CH_3$ , Ar- $OCH_3$  (X2)); 61,1 ( $CH_3$ , Ar- $OCH_3$ ); 103,9 ( $CH$ , C-2', CH-6' (minoritari)); 106,4 ( $CH$ , C-2', C-6' (majoritari)); 119,9 ( $CH$ , C-5'' (majoritari)); 120,2 ( $CH$ , C-5'' (minoritari)); 124,3 ( $CH$ , C-2''); 127,2 ( $CH$ , C-6'' (majoritari)); 130,3 (C<sub>q</sub>, C-

1''); 132,3 (C<sub>q</sub>, C-1'); 133,2 (C<sub>q</sub>, C-2); 136,9 (C<sub>q</sub>, C-3''); 137,2 (CH, C-3 (majoritari)); 138,8 (CH, C-3 (minoritari)); 138,5 (C<sub>q</sub>, C-4'); 153,4 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5' (minoritari)); 153,9 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5' (majoritari)); 155,1 (C<sub>q</sub>, C-4'' (minoritari)); 155,2 (C<sub>q</sub>, C-4'' (majoritari)); 167,7 (C<sub>q</sub>, CO (majoritari)); 168,1 (C<sub>q</sub>, CO (minoritari)).

En els espectres d'RMN s'observen les senyals duplicades corresponents a dos rotàmers del producte final, un de minoritari i un de majoritari.

## Preparació de 39

### Procediment experimental

A un matràs de 100 mL flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addiciona l'àcid **122** (0,251 g, 0,669 mmol, 1 eq), el carbonat potàssic (0,184 g, 1,337 mmol, 2 eq) i 1 mL de iodur de metil (d = 2,28 g/mL, 16 mmol). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 4 dies sota agitació constant, durant els quals s'hi afegeix 1 mL més de iodur de metil els dos primers dies.

### Final de reacció

S'afegeix aigua (15 mL) al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 15 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb aigua destil·lada (3 X 15 mL). A continuació, s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El producte obtingut, un sòlid gomós groc, s'obté amb un grau de puresa suficient com per passar a la següent etapa sintètica. En l'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H s'observa un rotàmer majoritari i un de minoritari.

**Rendiment:** 91%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,46 (Hexà/Acetats d'etil (1:1))

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>8</sub> = 404,1127 [M+H]<sup>+</sup>, 421,1471 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 426,1025 [M+Na]<sup>+</sup>, 344,0994 [M-COOMe]<sup>+</sup>, 372,0943 [M-OMe]<sup>+</sup>. Obtingut: 404,1350 [M+H]<sup>+</sup>, 421,1614 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 426,1174 [M+Na]<sup>+</sup>, 344,1135 [M-COOMe]<sup>+</sup>, 372,1087 [M-OMe]<sup>+</sup>.

**Punt de fusió:** 104 - 106 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**IR (ATR) v cm<sup>-1</sup>:** 2930 (Ar-H); 1705 (C=O); 1578 (C=C); 1238 (Ar-O); 1121 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,78 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,90 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,92 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,41 (s, 2H, H-2, H-6); 6,87 (d, J = 8,9 Hz, 1H, H-5'); 7,18 (d, J = 8,9 Hz, 1H, H-6'); 7,61 (s, 1H, C=C-H); 7,71 (s, 1H, H-2').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 52,7 (CH<sub>3</sub>, COOCH<sub>3</sub>); 56,3 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub> (X2)); 56,7 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 61,2 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 104,0 (CH, C-2', C-6' (minoritari)); 106,5 (CH, C-2', C-6'); 113,3 (CH, C-5''); 125,5 (C<sub>q</sub>, C-1'); 127,1 (CH, C-2'' (majoritari)); 128,5 (CH, C-2'' (minoritari)); 130,5 (C<sub>q</sub>, C-1''); 132,1 (C<sub>q</sub>, C=C-H (majoritari)); 132,9 (C<sub>q</sub>, C=C-H (minoritari)); 133,9 (CH, CH=C); 136,0 (C<sub>q</sub>, C-4'); 137,5 (C<sub>q</sub>, C-3''); 153,5 (C<sub>q</sub>, C-4''); 154,0 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 167,8 (C<sub>q</sub>, CO (majoritari)); 168,0 (C<sub>q</sub>, CO (minoritari)).

En els espectres d'RMN s'observen les senyals duplicades corresponents a dos rotàmers del producte final, un de minoritari i un de majoritari.

## Preparació de 40a

Aquesta reacció s'ha dut a terme en diferents condicions per tal d'optimitzar els resultats, tal i com es mostra a continuació:

## Condicions a)

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat amb un refrigerant de reflux i agitació magnètica, s'hi introdueix l'èster de partida (0,602 g, 1,296 mmol, 1 eq) dissolt en 30 mL de metanol. A continuació, s'hi afegeix la solució aquosa d'hidrazina (1 mL, d = 1,011 g/mL, 35% en aigua, 11 mmol) i es deixa reaccionar amb agitació constant i temperatura de reflux durant 7 dies fins que per cromatografia de capa fina s'observa la desaparició de la taca corresponent al producte de partida. Es va afegint hidrazina periòdicament (1 mL, 2 cops al dia).

S'han dut a terme varies repeticions de la reacció en aquestes condicions i s'ha observat que quan la quantitat de producte de partida excedeix els 0,25 grams el rendiment de la reacció disminueix. Aquest també és veu afectat negativament quan la hidrazina s'afegeix de cop en lloc de periòdicament.

### Final de reacció

S'evapora el metanol i es dilueix el residu amb aigua (20 mL). A continuació, s'extreu tres cops amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

Es purifica el cru de reacció per cromatografia de columna de gel de sílice emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat, un sòlid marró, elueix amb una polaritat del 100% acetat d'etil i s'obté un sòlid marró. Cal destacar que el procés de purificació mitjançant cromatografia de columna disminueix considerablement el rendiment ja que el producte queda parcialment retingut a la sílice.

**Rendiment:** 53%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,55 (Acetat d'etil 100%)

**Punt de fusió:** 48-52 °C (Hexà/Acetats d'etil).

**IE m/z (%):** Calculat per C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> = 464,19 [M<sup>+</sup>]. Obtingut: 464,20 [M<sup>+</sup>, 5], 463,00 [M<sup>+</sup>-1, 25], 462,00 [M<sup>+</sup>-2, 87].

**IR (ATR) ν cm<sup>-1</sup>:** 3218 (NH); 2921, 2850 (C-H); 1660 (C=O); 1588, 1509, 1454, 1422 (Ar-H); 1256 (Ar-O); 1235 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm):** 2,85 (d, J = 8 Hz, 1H, H-2 (minoritari)); 2,89 (d, J = 8 Hz, 1H, H-2 (majoritari)); 3,22-3,30 (m, 1H, H-3); 3,70 (ba, 1H, NH); 3,81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,82 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5,07 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-OBn); 6,46 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,54 (ba, 1H, H-2''); 6,66 (dd, J<sub>1</sub> = 2 Hz, J<sub>2</sub> = 8 Hz, 2H, H-6'', NH superposat); 6,75 (d, J = 8 Hz, 1H, H-5''); 7,29-7,43 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz) δ(ppm):** 49,1 (CH, C-2); 54,0 (CH, C-3); 56,1 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub> (X2)); 56,2 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 60,8 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 71,1 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 105,3 (CH, C-2')\*; 105,9 (CH, C-6')\*; 112,1 (CH, C-2''); 115,6 (CH, C-5''); 122,1 (CH, C-6''); 127,8 (CH, C-2''', C-6'''); 128,2 (CH, C-4'''); 128,9 (CH, C-3''', C-5'''); 132,8 (C<sub>q</sub>, C-1'); 135,7 (C<sub>q</sub>, C-1'''); 137,7 (C<sub>q</sub>, C-1''); 146,0 (C<sub>q</sub>, C-4'); 148,3 (C<sub>q</sub>, C-4''); 153,5 (C<sub>q</sub>, C-3''); 156,9 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 175,0 (C, CONH).

\*Intercanviables



## Condicions b)

Per tal d'optimitzar la reacció es proven diferents condicions tal i com s'indica a la Taula 13 i Taula 14 de la discussió teòrica, incloent probes amb microones, tot i que cap d'elles millora els resultats obtinguts amb el mètode anterior.

**Rendiment:** 0-23%

## Preparació de 40b

### A partir de 40a

#### Procediment general

A un matràs de coll llarg emprat per a les reaccions d'hidrogenació s'hi introdueix el producte de partida (0,520 g, 1,119 mmol, 1 eq) dissolt en 30 mL de metanol. A continuació, s'hi addiciona una suspensió de pal·ladi carbó al 10% (p/p) (0,052 g) en el mateix dissolvent i el matràs és col·loca en un sistema d'hidrogenació proveït amb una columna d'1L d'hidrogen. Es deixa reaccionar sota agitació constant i a temperatura ambient fins que s'observa que no queda producte de partida en la cromatografia de capa fina.

Inicialment la reacció es va realitzar en el sí d'acetat d'etil en lloc de metanol, procediment que no va permetre obtenir el producte final desitjat.

#### Final de reacció

Es filtra el pal·ladi a pressió atmosfèrica amb doble paper de filtre i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

Es purifica el cru de reacció mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (16:84) i s'obté un sòlid marró clar. Cal destacar que el procés de purificació per cromatografia de columna disminueix considerablement el rendiment ja que aquest queda parcialment retingut a la sílice.

### A partir de 34

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'èster de partida (0,068 g, 0,182 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de metanol. A continuació, s'hi afegeix la solució aquosa d'hidrazina (1 mL,  $d = 1,011$  g/mL, 35% en aigua, 11 mmol) i es deixa reaccionar amb agitació i a reflux durant 5 dies fins que per cromatografia de capa fina s'observa la desaparició de la taca corresponent al producte de partida. Durant el curs de la reacció es va afegint hidrazina periòdicament (1 mL, 2 cops al dia).

#### Final de reacció

S'evapora el metanol al rotavapor amb l'ajuda del buit, s'hi addiciona aigua (20 mL) i s'ajusta el pH a 7. A continuació, s'extreu tres vegades amb acetat d'etil. Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

**Rendiment:** 51% partint del compost **40a** i 62% partint del compost **34**.

#### Dades analítiques

$R_f$ : 0,38 (100% Acetat d'etil)

**Punt de fusió:** 65-70 °C (Metanol)

**IE m/z (%):** Calculat per  $C_{19}H_{22}N_2O_6 = 360,1 [M^+-CH_3]$ . Obtingut: 359,2 [ $M^+-CH_3$ , 3,4], 344,2 [ $M^+-C_2H_6$ , 9,8], 317,2 [ $M^+-C_3H_9$ , 21,5].

**IR (ATR)  $\nu$   $cm^{-1}$ :** 3243 (NH, OH); 2921, 2850 (C-H); 1739 (C=O); 1589, 1508, 1458 (Ar-H); 1238, 1123 (C-O).

**RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 2,90 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, H-2 (A)); 2,93 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, H-2 (B)); 3,35-3,38 (m, 1H, H-3 (A)); 3,40-3,43 (m, 1H, H-3 (B)); 3,81 (s, 3H,  $OCH_3$ ); 3,82 (s, 9H,  $OCH_3$  (X3)); 4,68-4,73 (m, 1H, NH); 6,53 (d,  $J = 1$  Hz, 1H, H-2''); 6,62 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,63 (dd,  $J_1 = 2,6$  Hz,  $J_2 = 9,8$  Hz, 1H, H-6''); 6,68 (dd,  $J_1 = 2,6$  Hz,  $J_2 = 9,8$  Hz, 1H, H-5''); 6,80 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, NH); 8,23 (s, 1H, OH).

**RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 75,5 MHz)  $\delta$ (ppm):** 38,8 (CH-CO); 49,4 (CH, CH-NH); 56,4 ( $CH_3$ ,  $O-CH_3$  (X3)); 61,1 ( $CH_3$ ,  $O-CH_3$ ); 105,9 (CH, C-2', C-6'); 110,8 (CH, C-2''); 115,5 (CH, C-5''); 120,9 (CH, C-6''); 133,4 ( $C_q$ , C-1'); 135,6 ( $C_q$ , C-1''); 145,7 ( $C_q$ , C-4'); 145,9 ( $C_q$ , C-3''); 153,7 ( $C_q$ , C-4''); 155,9 ( $C_q$ , C-3', C-5'); 174,7 ( $C_q$ , CONH).

A: rotàmer A; B: rotàmer B. (Els dos rotàmers s'observen en iguals proporcions en l'espectre d'RMN de protó).

## A partir de 105

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat amb agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'àcid de partida (0,068 g, 0,189 mmol, 1 eq) dissolt en el si de toluè (15 mL). A continuació, s'hi afegeix el carbonat de potassi anhidre (0,078 g, 0,566 mmol, 1 eq) i es purga l'atmosfera passant corrent d'argó. Tot seguit s'hi afegeix l'*N,N'*-carbonildiimidazole (CDI) (0,031 g, 0,189 mmol, 1 eq) i la hidrazina hidrat (1 mL,  $d = 1,011$  g/mL, 35% en aigua, 11 mmol). La mescla es deixa reaccionar a reflux durant quatre dies, afegint 1 mL d'hidrazina diàriament.

### Final de reacció

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i s'extreu tres cops amb 15 mL d'acetat d'etil. Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre  $Na_2SO_4$  anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa producte final en l'espectre d'RMN- $^1H$  sinó un possible derivat de la hidrazina amb CDI i per tant s'abandona aquest mètode ja que no presenta millora respecte al mètode anterior.

## Preparació de 41

### Procediment experimental

A un matràs de 100 mL flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addiciona el producte de partida (0,201 g, 0,498 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de metanol i la hidrazina hidrat (1 mL,  $d = 1,011$  g/mL, 35% en aigua, 11 mmol). La mescla es deixa reaccionar sota agitació constant a temperatura de reflux (80 °C) durant 16 hores.

### Final de reacció

S'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajut del buit, s'afegeix aigua (15 mL) al residu obtingut i s'extreu amb dietilèter/acetat d'etil 1/1 (3 X 15 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

## Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (1:9).

**Rendiment:** 12%

## Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,07 (Hexà/Acetats d'etil (1:1))

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> = 402,1223 [M+H]<sup>+</sup>, 424,1121 [M+Na]<sup>+</sup>. Obtingut: 402,1329 [M+H]<sup>+</sup>, 424,1125 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>8</sub> = 404,1127 [M+H]<sup>+</sup>, 421,1471 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 426,1025 [M+Na]<sup>+</sup>, 344,0994 [M-COOMe]<sup>+</sup>, 372,0943 [M-OMe]<sup>+</sup>. Obtingut: 404,1350 [M+H]<sup>+</sup>, 421,1614 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 426,1174 [M+Na]<sup>+</sup>, 344,1135 [M-COOMe]<sup>+</sup>, 372,1087 [M-OMe]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ(ppm):** 3,67 (s, 3H, 6H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 3,71 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,58 (ba, 1H, NH); 6,65 (s, 2H, H-2', H-6' (minoritari)); 6,69 (s, 2H, H-2', H-6' (majoritari)); 7,30 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H-5''); 7,63 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H-6''); 7,88 (s, 1H, H-2'').

**RMN <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD, 100,6 MHz) δ(ppm):** 54,7 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>); 54,9 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> (X2) (majoritari)); 55,1 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> (X2) (minoritari)); 59,7 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>) (majoritari); 59,8 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>) (minoritari); 106,7 (CH, C-2', C-6' (majoritari)); 107,8 (CH, C-2', C-6' (minoritari)); 114,3 (CH, C-5'' (minoritari)); 114,5 (CH, C-5'' (majoritari)); 117,1 (C<sub>q</sub>, C-2) 125,7 (C<sub>q</sub>, C-1'); 125,9 (CH, C-2''); 130,1 (C<sub>q</sub>, C-1'' (minoritari)); 132,1 (C<sub>q</sub>, C-1'' (majoritari)); 135,1 (C<sub>q</sub>, C-6''); 137,7 (C<sub>q</sub>, C-4'); 138,7 (C<sub>q</sub>, C-3''); 149,2 (C<sub>q</sub>, C-3 (minoritari)); 150,1 (C<sub>q</sub>, C-3 (majoritari)); 154,7 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 154,8 (C<sub>q</sub>, C-4''); 164,1 (C<sub>q</sub>, CO).

En els espectres d'RMN s'observen les senyals duplicades corresponents a dos rotàmers del producte final, un de minoritari i un de majoritari.

## Preparació de 42a i 42b

### Condicions a)

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,101 g, 0,270 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de diclorometà. S'hi addiciona la trietilamina (0,045 mL, d = 0,726 g/mL, 0,324 mmol, 1,2 eq) i la mescla es refreda a 0 ± 5 °C. A continuació, s'hi afegeix l'anhidrid acètic (0,028 mL, 0,297 mmol, 1,1 eq) i la mescla es deixa reaccionar sota agitació constant a temperatura ambient durant 16 hores.

#### Final de reacció

S'afegeixen 50 mL d'aigua al cru de reacció i s'extreu tres cops amb 15 mL de diclorometà. Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

Es purifica el cru de reacció mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. No s'observa producte **42b** sinó el producte de doble acilació del fenol i el nitrogen **42a**.

### Condicions b)

#### Procediment general (Reacció de Schotten-Baumann)

A un matràs de dues boques flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,122 g, 0,326 mmol, 1 eq) dissolt en 35 mL de cloroform. A continuació, s'hi addiciona l'NaOH (0,130 g, 3,286 mmol, 30 eq) en 10 mL d'aigua i la mescla es refreda a  $0 \pm 5$  °C. Tot seguit s'hi afegeix el clorur d'acetil (0,082 mL,  $d = 1,104$  g/mL, 1,086 mmol, 10 eq) i la mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient sota agitació constant durant dues hores.

#### Final de reacció

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i s'extreu tres cops amb 15 mL de cloroform. Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

Es purifica el cru de reacció per cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat del 100% d'acetat d'etil. Finalment s'obté un sòlid marró que correspon a l'acilació del nitrogen i el fenol **42a**. En l'espectre de ressonància s'observa també la presència del derivat de l'acilació selectiva del nitrogen respecte del l'oxigen **42b**, però no pot aïllar-se amb la tècnica utilitzada.

**Rendiment:** Condicions a) 0% del compost **42b** i 6,5% del diacilat **42a**. Condicions b) 8,7% del compost monoacilat **42b** i 8,8% del diacilat **42a**.

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,22 (Acetat d'etil 100%) (Compost **42a**)

**Punt de fusió:** Punt de fusió: 78-80 °C (Acetat d'etil) (Compost **42a**)

#### EM, ESI:

- **Producte amb el nitrogen acilat, fenol lliure** (Compost **42b**):  
**EM, ESI (-) m/z:** Calculat per a  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_7 = 415,1505$  [M-H]. Obtingut: 417,1587 [M-H].
- **Producte amb el nitrogen i el fenol acilat** (Compost **42a**):  
**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_8 = 459,1767$  [M+H]<sup>+</sup>. Obtingut: 461,1960 [M+H]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 1,93 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CON); 2,27 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO); 2,96 (m, 1H, H-2); 3,38 (m, 1H, H-3); 3,75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 6,53 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,67 (dd,  $J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 8$  Hz, 1H, H-6''); 6,80 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, H-2''); 6,92 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, H-5''); 8,61 (ba, 1H, NH (majoritari)); 8,88 (ba, 1H, NH (minoritari)).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 20,7 (CH<sub>3</sub>, NH-CO-CH<sub>3</sub>); 20,7 (CH<sub>3</sub>, O-CO-CH<sub>3</sub>); 39,0 (CH, C-2 (minoritari)); 39,2 (CH, C-2 (majoritari)); 53,0 (CH, C-3 (minoritari)); 53,1 (CH, C-3 (majoritari)); 56,0 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 56,2 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub> (X2)); 60,9 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 105,2 (CH, C-2', C-6'); 110,8 (CH, C-2'' (minoritari)); 112,4 (CH, C-2'' (majoritari)); 115,2 (CH, C-5'' (majoritari)); 120,6 (CH, C-5'' (minoritari)); 123,7 (CH, C-6'' (majoritari)); 127,3 (CH, C-6'' (minoritari)); 131,6 (C, C-1' (majoritari)); 132,1 (C, C-1' (minoritari)); 134,0 (C, C-1'' (majoritari)); 134,4 (C, C-1'' (minoritari)); 137,5 (C, C-4' (majoritari)); 139,5 (C, C-4' (minoritari)); 145,5 (C, C-3'' (minoritari)); 145,6 (C, C-3'' (majoritari)); 149,8 (C, C-4''); 153,4 (C, C-3', C-5'); 167,1 (C, C=O- (minoritari)); 167,8 (C, C=O- (majoritari)); 169,6 (C, NH-NCOCH<sub>3</sub>); 170,0 (C, C-1 (minoritari)); 170,3 (C, C-1 (majoritari)).

En l'espectre d'RMN-<sup>13</sup>C s'observen les senyals duplicades. Això es deu a que hi ha dos rotàmers, un de minoritari i un de majoritari.

**Procediment general**

En un matràs de 50 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,074 g, 0,198 mmol, 1 eq) dissolt en 5 mL de diclorometà i el carbonat de potassi anhidre (0,033 g, 0,239 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts amb agitació constant per tal de formar l'anió fenòlic. Passat aquest temps es refreda la reacció amb un bany extern de gel i aigua i s'hi afegeix el cloroformiat d'etil (0,021 mL,  $d = 1,14$  g/mL, 0,218 mmol, 1,1 eq) i tot seguit es deixa reaccionar sota agitació constant a temperatura ambient durant dos dies.

**Final de reacció**

El cru de reacció es renta tres vegades amb 15 mL d'aigua i la fase orgànica s'asseca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

**Purificació**

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash®  $R_f$  emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (30:70) i s'obté un sòlid blanc. Per cromatografia de capa fina s'observa que el producte final apareix com a dues taques, que se separen posteriorment per cromatografia de columna de gel de sílice manualment, obtenint els dos possibles isòmers en els quals el grup acilat és el nitrogen (**43a**) i el fenol (**43b**) respectivament.

D'entre els dos productes, el producte amb el nitrogen acilat és el majoritari i correspon a la taca superior en la cromatografia de capa fina. També es forma el producte derivat de l'acilació del fenol i del nitrogen alhora (**130**) tot i que molt minoritàriament, i no detectable a l'espectre d'RMN- $^1\text{H}$  però sí en l'espectre de masses.

**Rendiment:** 17% (**43a**, *N*-acilat), 6% (**43b**, *O*-acilat)

**R<sub>f</sub>:** 0,514 (Acetat d'etil 100%) (**43a**, *N*-acilat); 0,343 (Acetat d'etil 100%) (**43b**, *O*-acilat)

**Punt de fusió:** 70-74 °C (**43a**, *N*-acilat) (Metanol); 60-64 °C (**43b**, *O*-acilat) (Metanol)

**EM, ESI (+) m/z** (Compost **42a** i **42b**): Calculat per  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_8 = 447,1767$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Obtingut: 449,1913  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 520,1944  $[\text{M}^++\text{Na}]^+$ , 897,3701  $[2\text{M}+\text{H}]^+$ , 914,4000  $[2\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 919,3575  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**EM, ESI (+) m/z** (Compost **130**): Calculat per  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_{10} = 519,1979$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Obtingut: 521,2136  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 538,2388  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 543,1944  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 1063,4038  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**Producte N-acilat (43a):**

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 1,22 (ba, 3H,  $\text{COO-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 2,88-2,93 (m, 1H, H-2); 3,34-3,41 (m, 1H, H-3); 3,80 (s, 6H,  $\text{OCH}_3$  (X2)); 3,81 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,82 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 4,11-4,18 (m, 2H,  $\text{NH-CO-O-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 5,67 (ba,  $J = 7,4$  Hz, OH); 6,49 (s, 2H, H-2', H-6''); 6,55 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, H-6''); 6,68 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, H-5''); 6,71 (s, 1H, H-2''); 7,17 (ba, 1H, CO-N5H).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 14,1 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{COO-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 38,7 (CH, C-2); 53,1 (CH, C-3); 55,9 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{O-CH}_3$ ); 56,2 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{O-CH}_3$  (X2)); 60,9 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{O-CH}_3$ ); 62,3 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{NCOO-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 105,5 (CH, C-2', C-6''); 110,9 (CH, C-2''); 115,4 (CH, C-5''); 121,0 (CH, C-6''); 132,6 (C, C-1''); 134,5 (C, C-1''); 137,8 (C, C-3''); 145,8 (C, C-4''); 146,0 (C, C-4''); 153,9 (C, C-3', C-5''); 156,9 (C,  $\text{NCOOCH}_2\text{CH}_3$ ); 173,3 (C,  $\text{CONH}$ ).

**Producte O-acilat (43b):**

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 1,35-1,42 (m, 3H,  $\text{COO-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 2,90-2,98 (m, 1H, H-2); 3,37-3,44 (m, 1H, H-3); 3,82-3,80 (m, 12H,  $\text{OCH}_3$  (X4)); 4,35-4,27 (m, 2H,  $\text{O-COO-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 4,65-4,73 (m, 1H, CO-

NH-N4H-); 6,62 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,69 (dd,  $J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 8$  Hz, 1H, H-6''); 6,81 (dd,  $J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 8$  Hz, 1H, H-5''); 6,97 (s, 1H, H-2''); 8,15 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, CO-N5H-NH-).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 14,0 (CH<sub>3</sub>, COO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 29,6 (CH, C-2); 49,1 (CH, C-3); 56,0 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 56,1 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 56,2 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 60,8 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 64,9 (CH<sub>2</sub>, O-COO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 105,8 (CH, C-2', C-6'); 110,7 (CH, C-2''); 115,5 (CH, C-5''); 121,1 (CH, C-6''); 132,9 (C<sub>q</sub>, C-1''); 133,6 (C<sub>q</sub>, C-1'); 135,7 (C<sub>q</sub>, C-3''); 145,8 (C<sub>q</sub>, C-4'); 149,1 (C<sub>q</sub>, C-4''); 153,6 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 156,9 (C<sub>q</sub>, OCOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 175,0 (C<sub>q</sub>, CONH).

## Preparació de 44

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,076 g, 0,203 mmol, 1 eq) dissolt 10 mL DMF i el carbonat de potassi anhidre (0,028 g, 0,203 mmol, 1 eq). Passats 30 minuts es refreda a  $0 \pm 5$  °C i s'hi addiciona el clorosulfat de clorometil (0,02 mL,  $d = 1,631$  g/mL, 0,203 mmol, 1 eq). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient sota agitació constant durant 16 hores.

### Final de reacció

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i s'extreu tres cops amb 15 mL d'èter dietílic/acetat d'etil 1/1. La fase aquosa es basifica amb una solució aquosa d'NaOH (2N) i es torna a extreure amb dietilèter dietílic/acetat d'etil 1/1. Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

Es purifica el residu mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final desitjat no s'observa, però en canvi el producte amb el doble enllaç sí, i elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (64:36).

**Rendiment:** El producte **131** no s'observa, mentre que el seu derivat oxidat amb el doble enllaç **44** s'obté amb un 18% de rendiment.

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,84 (Acetat d'etil 100%)

**RMN  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,92 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X<sub>2</sub>)); 5,30 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 5,60 (ba, 1H, OH); 6,38 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,81 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, H-2''); 6,83 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, H-5''); 6,97 (dd,  $J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 8,3$  Hz, 1H, H-6''); 7,39 (ba, 1H, NHCO). En l'espectre d'RMN- $^1\text{H}$  s'observa que queda el producte de partida **40b** que no s'ha pogut separar amb la tècnica utilitzada en proporció 2:1 (producte final: producte de partida). Degut a això no es realitza RMN de carboni.

## Preparació de 45

### Procediment general

A un matràs de coll llarg emprat per a les reaccions d'hidrogenació s'hi introdueix el producte de partida (0,200 g, 0,432 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL d'acetat d'etil i 1 mL de metanol. A continuació, s'hi addiciona una suspensió de pal·ladi carbó al 5% (p/p) (0,020 g) en el mateix dissolvent i el matràs és col·loca en un sistema d'hidrogenació proveït amb una columna d'1L d'hidrogen. Es deixa reaccionar sota agitació constant i a temperatura ambient durant 7 dies.

### Final de reacció

Es filtra el pal·ladi a pressió atmosfèrica amb doble paper de filtre i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

Es purifica el residu obtingut mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (40:60) i s'obté un sòlid blanc.

**Rendiment:** 62%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,4 (100% Acetat d'etil)

**Punt de fusió:** 68-71 °C (Metanol)

**IR (ATR) v cm<sup>-1</sup>:** 3277 (OH); 2922 (NH); 1651 (CO); 1506 (C=C); 1214 (Ar-O); 1110 (C-O-).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,79-2,84 (q, 1H, CH); 2,91-2,98 (m, 1H, CH); 3,73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,15-4,16 (m, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O); 4,20-4,21 (m, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O); 5,12 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>-Bn); 6,23 (s, 1H, H-6); 6,31 (s, 1H, H-8); 6,71 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, H-6'); 6,75 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, H-5'); 6,88 (s, 1H, H-2').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 50,9 (CH, CH-CO); 52,8 (CH, CH-NH); 55,8 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 55,9 (CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>3</sub>); 64,1 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 64,3 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 105,1 (CH, C-6); 110,0 (CH, C-8); 110,9 (CH, C-6'); 114,4 (CH, C-5'); 119,2 (CH, C-2'); 131,4 (C<sub>q</sub>, C-1'); 131,6 (C<sub>q</sub>, C-4a); 132,2 (C<sub>q</sub>, C-1); 143,6 (C<sub>q</sub>, C-4'); 145,7 (C<sub>q</sub>, C-3'); 146,0 (C<sub>q</sub>, C-5); 148,4 (C<sub>q</sub>, C-8a); 172,5 (C<sub>q</sub>, CO).

## Preparació de 46

### Procediment general:

A un matràs de 100 mL de capacitat i acoblat a un sistema *Dean-Stark* i a un refrigerant s'hi afegeix el compost **143** (0,227 g, 0,53 mmol, 1,0 eq) dissolt en 7 mL de xilè i s'hi afegeix l'acetat amoni (0,215 g, 2,79 mmol, 5,25 eq). La mescla resultant s'agita a temperatura de reflux (160 °C) durant 24 hores sota agitació constant.

### Final de reacció:

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

El producte s'obté en forma de sòlid groc i amb un grau de puresa suficient de manera que no requereix purificació posterior.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques:

**R<sub>f</sub>:** 0,09 (Hexà/Acetats d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 222-224 °C (Acetat d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> = 449,1325 [M+Na]<sup>+</sup>. Obtingut: 450,1162 [M+Na]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO); 3,65 (s, 6H, CH<sub>3</sub>O (X2)); 3,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O); 3,87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O); 6,45 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H-5''); 6,80 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,86 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H-2''); 7,25 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8,3 Hz, 1H, H-6''); 8,52 (ba, 1H, NH).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 22,4 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CO); 55,9 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O); 56,0 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O (X2)); 60,9 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O); 107,5 (CH, C-2', C-6'); 110,3 (CH, C-5'); 120,3 (C<sub>q</sub>, C-2)\*; 121,7 (C<sub>q</sub>, C-3)\*; 122,7 (CH,

C-2''); 126,5 (CH, C-6''); 128,1 (C<sub>q</sub>, C-1''); 136,7 (C<sub>q</sub>, C-1'); 137,5 (C<sub>q</sub>, C-3''); 140,8 (C<sub>q</sub>, C-4'); 150,5 (C<sub>q</sub>, C-4''); 153,7 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 165,5 (C<sub>q</sub>, CO); 165,7 (C<sub>q</sub>, CO); 169,3 (C<sub>q</sub>, CO amida).

\* Intercanviables

## Preparació de 47

### Procediment general:

L'anhídrid de partida (0,105 g, 0,246 mmol, 1,0 eq) es dissol en 15 mL de toluè en un matràs de 100 mL de capacitat i tot seguit s'hi afegeix l'*N,N*-dimetil hidrazina (0,019 mL, 0,246 mmol, 1,0 eq). La mescla s'escalfa a temperatura de reflux (140 °C) acoblada a un sistema *Dean Stark* i a un refrigerant durant 24 hores, sota agitació constant

### Final de reacció:

S'evapora el dissolvent al rotavapor coevaporant amb l'ajut de toluè i del buit.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluent. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (27:73). Finalment s'obté un sòlid groc.

**Rendiment:** 50%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,20 (Hexà/Acetats d'etil (2:8))

**Punt de fusió:** 174-176 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO); 2,97 (s, 6H, CH<sub>3</sub>N (X<sub>2</sub>)); 3,67 (s, 6H, CH<sub>3</sub>O (X<sub>2</sub>)); 3,84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O); 3,87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O); 6,76 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,83 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, H-5''); 7,14 (dd, *J*<sub>1</sub> = 1 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-6''); 7,68 (s, 1H, H-2''); 8,50 (ba, 1H, NH-);

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 24,6 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CO); 44,8 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>N (X<sub>2</sub>)); 55,8 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O); 56,0 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O (X<sub>2</sub>)); 60,9 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O); 107,7 (C<sub>q</sub>, C-2', C-6'); 110,1 (CH, C-5''); 121,7 (C<sub>q</sub>, C-2)\*; 121,9 (C<sub>q</sub>, C-3)\*; 124,1 (CH, C-2''); 126,2 (CH, C-6''); 128,2 (C<sub>q</sub>, C-1''); 133,4 (C<sub>q</sub>, C-1'); 133,9 (C-3''); 140,0 (C<sub>q</sub>, C-4'); 149,4 (C<sub>q</sub>, C-4''); 153,6 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 168,7 (C<sub>q</sub>, CO amida); 169,8 (C, CO); 170,0 (C, CO).

\*Intercanviables

## Preparació de 48

### Procediment general:

#### Condicions a)

El compost **149** (0,296 g, 0,90 mmol, 1,0 eq) es dissol en 5 mL de xilè en un matràs de 100 mL de capacitat i tot seguit s'hi afegeix l'acetat d'amoni (0,366 g, 4,75 mmol, 5,27 eq). La mescla s'acobra a un sistema *Dean Stark* i s'escalfa a 160 °C durant 16 hores sota agitació constant.

#### Condicions b)

A un matràs de 50 mL de capacitat acoblat a un refrigerant s'hi introdueix el compost **149** (0,116 g, 0,35 mmol, 1,0 eq) i s'hi afegeixen 15 mL d'hidròxid amònic al 25%. La mescla s'escalfa a reflux durant 24 hores sota agitació constant.



**Final de reacció:**

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

**Purificació:**

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice manualment emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte esperat elueix amb una polaritat de metanol 100%.

**Rendiment:** 28% (condicions a)) i 26% (condicions b)).

**Dades analítiques:**

**R<sub>f</sub>:** 0,10 (Hexà/Acetats d'etil (5:5))

**Punt de fusió:** 221-223 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**EM, ESI-TOF m/z:** Calculat per C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub> [M]<sup>+</sup> = 327,1008. Obtingut: 327,0818 [M]<sup>+</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 400 MHz) δ(ppm):** 7,02 (dt, J<sub>1</sub> = 1 Hz, J<sub>2</sub> = 7 Hz, 2H, H-6'); 7,10 (dt, J<sub>1</sub> = 1 Hz, J<sub>2</sub> = 7 Hz, 2H, H-5'); 7,29 (d, J = 2 Hz, 2H, H-2'); 7,39 (dd, J<sub>1</sub> = 1 Hz, J<sub>2</sub> = 7 Hz, 2H, H-7'); 7,60 (d, J = 7 Hz, 2H, H-4'); 8,03 (ba, 1H, NH); 8,04 (ba, 1H, NH).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 111,4 (CH, C-7'); 115,9 (CH, C-5'); 118,3 (C<sub>q</sub>, C-3'); 119,4 (CH, C-6'); 121,0 (C<sub>q</sub>, C-2)\*; 122,8 (C<sub>q</sub>, C-3)\*; 123,7 (CH, C-4'); 128,3 (C<sub>q</sub>, C-3a); 136,0 (C<sub>q</sub>, C-7a); 136,6 (CH, C-2'); 170, (C<sub>q</sub>, CO).

\*Intercanviables

**Preparació de 49****Condicions a)****Procediment general**

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueixen el nitrofenol (0,3 g, 2,157 mmol, 1 eq), el bromoclorobenzè (0,413 g, 2,157 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (1,054 g, 3,235 mmol, 1,5 eq), el pal·ladi i el (±)-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (20 mL). El matràs es tanca i la mescla es deixa reaccionar amb agitació a 140 ± 10 °C durant 4 dies. Passat aquest temps s'observa en el control de reacció per cromatografia de capa fina que no es forma cap taca nova.

**Final de reacció**

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 15 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb NaOH 1N, i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El sòlid obtingut tant per CCF com per espectre d'RMN de protó es veu que correspon al bromoclorobenzè de partida.

**Condicions b):****Procediment general**

A un tub de microones prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i equipat amb una barra magnètica s'hi afegeixen el nitrofenol (0,1 g, 0,719 mmol, 1 eq), el bromoclorobenzè (0,115 g, 0,719 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi anhidre (0,2334 g, 0,863 mmol, 1,2 eq), l'ACHN i el CuBr (quantitat catalítica) dissolts en 5 mL DMF. La mescla és fa reaccionar en un forn de microones durant 30

minuts a  $100 \pm 10$  °C. En el control de reacció per cromatografia de capa fina s'observa que no es forma cap taca nova.

### Preparació de 50

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat acoblat a un refrigerant i provist d'agitació magnètica s'hi introdueix el fenol de partida (0,771 g, 3,713 mmol, 1 eq) dissolt en DMF i el carbonat de potassi anhidre (0,770 g, 5,569 mmol, 1,5 eq). La mescla es deixa amb agitació constant a temperatura ambient durant 30 minuts i posteriorment s'hi afegeix el bromo-4-nitrobenzè (0,750 g, 3,713 mmol, 1 eq). La mescla s'escalfa a  $110 \pm 10$  °C durant dos dies.

#### Final de reacció

S'afegeix NaOH 1N al cru de reacció i a continuació s'extreu amb dietilèter (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i es renten amb aigua destil·lada (3 X 15 mL). La fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant de columna de gel de sílice manualment emprant hexà 100% com a eluent i s'obté un sòlid groc cristal·lí.

**Rendiment:** 100%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,628 (Hexà/Acetats d'etil (9:1))

**Punt fusió:**  $47-51 \pm 10$  °C (Hexà/Acetats d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 6,98 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H, H-3, H-5); 7,02 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,55 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H, H-2, H-6); 9,36 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H, H-3', H-5').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 117,4 (CH, C-2', C-6'); 118,3 (C<sub>q</sub>, C-1); 122,3 (CH, C-3, C-5); 126,1 (CH, C-3', C-5'); 133,5 (CH, C-2, C-6); 143,1 (C<sub>q</sub>, C-4'); 154,0 (C<sub>q</sub>, C-4); 162,9 (C<sub>q</sub>, C-1').

### Preparació de 56

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix la nitroanilina (0,1 g, 0,724 mmol, 1 eq), el bromoclorobenzè (0,139 g, 0,724 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (0,354 g, 1,086 mmol, 1,5 eq), el pal·ladi i el (±)-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè. El matràs és tanca i la mescla es deixa reaccionar sota agitació constant a  $140 \pm 10$  °C durant 16 hores. Passat aquest temps s'observa en el control de reacció per cromatografia de capa fina que es forma una nova taca amb R<sub>f</sub>: 0,65 (Hexà/Acetats d'etil (7:3)) però encara queden productes de partida. Per tant s'afegeix (±)-BINAP i pal·ladi de nou (quantitat catalítica) i es deixa reaccionar durant sis dies més. Passat aquest temps no s'observen productes de partida en el cru de reacció.

#### Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

El producte final es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (18:82) i un cop sec s'obté en forma de sòlid groc.

**Rendiment:** 43%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,65 (Hexà/Acetat d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 175-177°C (Hexà/Acetat d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 6,25 (s, 1H, -NH); 6,92 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,15 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H-3, H-5); 7,35 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H-2, H-6); 8,13 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H, H-3', H-5').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 114,03 (C<sub>q</sub>, C-1); 114,2 (CH, C-2', C-6'); 122,33 (C<sub>q</sub>, C-4'); 123,5 (CH, C-3', C-5'); 125,1 (C<sub>q</sub>, C-4); 126,7 (CH, C-3, C-5); 130,3 (CH, C-2, C-6); 150,3 (C<sub>q</sub>, C-1').

### Preparació de 58

#### Condicions a)

##### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el bromonitrobenzè (0,2 g, 0,990 mmol, 1 eq) i la bromoanilina (0,204 g, 1,186 mmol, 1,2 eq), el carbonat de cesi (0,524 g, 1,485 mmol, 1,5 eq), el pal·ladi i el (±)-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (15 mL). El matràs és tanca i la mescla es deixa reaccionar amb agitació a 140 ± 10 °C durant 3 dies.

##### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent a sequedat i el residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (75:25) i s'obté un sòlid groc. Per RMN es comprova que el producte obtingut conté 1/3 part del producte final **58** i 2/3 parts de bromoanilina de partida **57** ja que elueixen amb la mateixa polaritat.

**Rendiment:** 36%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,18 (Hexà/Acetat d'etil (8,5:1,5))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 6,93 (d, *J* = 9,2, 2H, H-2', H-6'); 7,09 (d, *J* = 8,7, 2H, H-3, H-5); 7,49 (d, *J* = 8,7, 2H, H-2, H-6); 8,13 (d, *J* = 9,2, 2H, H-3', H-5'). (Producte de partida **57**: producte final **58** 2:1)

#### Condicions b)

##### Procediment general

En un tub de vidre de microones s'hi introdueix el bromonitrobenzè (0,1 g, 0,495 mmol, 1 eq), la bromoanilina (0,085 g, 0,495 mmol, 1 eq) i el terbutòxid potàssic (0,072 g, 0,644 mmol, 1,3 eq) en 2,5 mL d'acetonitril. La mescla de reacció s'introdueix al forn de microones durant 30 minuts a 100 ± 10 °C sota agitació constant.

##### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent a sequedat i el residu obtingut s'extreu tres vegades amb aigua i acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques es reuneixen i es renten dues vegades amb una solució aquosa de

bicarbonat 0,5 N. La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, a continuació es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Per espectre d'RMN-<sup>1</sup>H es comprova que el residu obtingut conté semblants proporcions de producte final esperat i de bromoanilina de partida, tal i com passava en les condicions de reacció 1.

## Preparació de 59

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueixen el compost **50**, el carbonat de cesi (0,332 g, 1,020 mmol, 1,5 eq), el pal·ladi i el ( $\pm$ )-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (20 mL) i finalment la piperazina (0,586 g, 6,8 mmol, 10 eq). El matràs és tanca i la mescla es deixa reaccionar sota agitació constant a  $160 \pm 10$  °C durant 16 hores. Passat aquest temps s'observa en el control de reacció per cromatografia de capa fina la formació d'una taca nova.

### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor i el residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. El compost **59** elueix amb una polaritat d'acetat d'etil/metanol (68:32) obtenint un sòlid groc. S'obtenen també els dos productes secundaris indicats com a sòlids grocs.

**Rendiment:** 30% del producte **59**, 58% del producte **73** i traces del producte **74**.

### Dades analítiques de 59

R<sub>f</sub>: 0,175 (Metanol 100%)

Punt de fusió: 93-94 °C (Hexà/Acetat d'etil)

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm): 3,03 (t, J = 4,2 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 3,13 (t, J = 5,2 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 6,93-6,99 (m, 6H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-6''); 8,14 (d, J = 9,1 Hz, 2H, H-3'', H-5'').

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm): 46,2 (CH<sub>2</sub>, C-2, C-6); 50,7 (CH<sub>2</sub>, C-3, C-5); 116,4 (CH, C-2', C-6'); 117,6 (CH, C-2'', C-6''); 121,5 (CH, C-3', C-5'); 125,9 (CH, C-3'', C-5''); 142,2 (C<sub>q</sub>, C-4''); 147,2 (C<sub>q</sub>, C-4'); 149,7 (C<sub>q</sub>, C-1''); 164,3 (C<sub>q</sub>, C-1').

\*Intercanviables

### Dades analítiques del producte secundari 73

R<sub>f</sub>: 0,175 (Metanol 100%)

Punt de fusió: 98-100 °C (Hexà/Acetat d'etil)

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 2,41 (ba, 1H, NH); 3,04 (t, J = 5,0 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-2, H<sub>2</sub>C-6); 3,40 (t, J = 5,0 Hz, 4H, H<sub>2</sub>C-3, H<sub>2</sub>C-5); 6,82 (d, J = 9,5 Hz, 2H, H-2', H-6'); 8,12 (d, J = 9,4 Hz, 2H, H-3', H-5').

### Dades analítiques del producte secundari 74

R<sub>f</sub>: 0,3 (Hexà/Acetat d'etil (9:1))

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm): 6,68 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-2'', H-6''); 6,20 (d, J = 9,0 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 6,85 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,36 (d, J = 9,0 Hz, 2H, H-3', H-5').

## Preparació de 64

### Procediment general

A un matràs de 25 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix el producte de partida (0,046 g, 0,162 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de THF i a continuació el corresponent isocianat (0,023 mL, 0,162 mmol, 1 eq). La reacció es deixa reaccionar sota agitació constant a temperatura ambient durant una nit. El segon dia s'hi afegeix un equivalent més d'isocianat ja que sembla que encara queda producte de partida i es deixa reaccionar durant una setmana a  $50 \pm 10$  °C.

### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent de reacció al rotavapor i el residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> però no s'observa el producte esperat. Es recupera producte de partida (molt poca quantitat).

## Preparació de 67

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addicionen 0,062 g (0,189 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt en 2 mL d'àcid trifluoroacètic i 0,0538 g (0,379 mmol, 2 eq) de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i es deixa reaccionar a  $80 \pm 10$  °C durant 8 hores.

### Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu resultant es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment. No s'observa el producte final esperat **67** sinó que s'obté el producte **6**.

## Preparació de 68

### Procediment general

En un matràs de 50 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un refrigerant s'hi introdueix el producte de partida (0,400 g, 1,936 mmol, 1 eq) dissolt en 5 mL d'àcid acètic i el ferro (0,465 g, 8,326 mmol, 4,3 mmol). La mescla s'escalfa a reflux amb agitació constant durant 48 hores.

### Final de reacció i purificació

Es filtra el cru de reacció i es renta amb aigua per eliminar l'excés de ferro. Seguidament es basifica amb NaOH (2N). Posteriorment s'extreu amb acetat d'etil (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El producte final es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (25:75) i s'obté en forma de sòlid marró.

### Dades analítiques

**Rendiment:** 56%

**R<sub>f</sub>:** 0,73 (Hexà/Acetat d'etil (5:5))

**Punt de fusió:** 211 - 213 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**EM, ESI (+) m/z:** Calculat per a  $C_{13}N_{10}N_2O = 233,2211 [M+Na]^+$ . Obtingut: 233,2387  $[M-Na]^+$ .

**RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 6,79 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, H-4'); 7,01 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, H-2, H-6); 7,24 (d,  $J = 9$  Hz, 1H, H-2'); 7,31 (t,  $J = 9$  Hz, 1H, H-5'), 7,45 (t,  $J = 3$  Hz, 1H, H-6'); 7,59 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, H-3, H-5).

**RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 75,4 MHz)  $\delta$ (ppm):** 106,7 ( $C_q$ , C-1); 109,8 (CH, C-2'); 113,5 (CN); 120,2 (CH, C-4'); 125,8 (CH, C-6'); 129,1 (CH, C-2, C-6); 131,5 (CH, C-3, C-5); 149,5 (CH, C-5'); 152,1 ( $C_q$ , C-3); 157,1 ( $C_q$ , C-1); 159,9 ( $C_q$ , C-4).

## Preparació de 69

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi afegeix el bromobenzonitril (0,3 g, 1,6 mmol, 1 eq) dissolt en 25 mL de toluè, el carbonat de cesi (0,522 g, 1,6 mmol, 1 eq), el bromur de coure, l'ACHN, ambdós últims en quantitats catalítiques, i finalment el nitrofenol (0,344 g, 2,47 mmol, 1,5 eq). La mescla s'escalfa a 150 °C i es deixa reaccionar sota agitació constant durant 16 hores.

### Final de reacció

S'afegeixen 30 mL d'aigua al cru de reacció i s'extreu amb una mescla 5/5 d'acetat d'etil i dietilèter (3 X 30 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb 30 mL d'NaOH (2N). A continuació, la fase orgànica resultant s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El producte final es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash®  $R_f$ , eluint amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (8:2). S'obté un sòlid marró clar.

**Rendiment:** 59%

### Dades analítiques

**$R_f$ :** 0,37 (Acetat d'etil 100%)

**RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,19 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-2, H-6); 7,54 (ddd,  $J_1 = 1$  Hz,  $J_2 = 2,5$  Hz,  $J_3 = 8,3$  Hz, 1H, H-6'); 7,74 (t,  $J = 8,3$  Hz, 1H, H-5'); 7,85 (t,  $J = 2,5$  Hz, 1H, H-2'); 8,06 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-3, H-5); 8,07 (dd,  $J_1 = 1$  Hz,  $J_2 = 2,5$  Hz, 1H, H-4').

**RMN  $^{13}C$  ( $(CD_3)_2CO$ , 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 114,8 (CH, C-2'); 118,7 ( $C_q$ , CN); 120,0 (CH, C-3, C-5); 126,7 (CH, C-6'); 131,4 (CH, C-2, C-6); 132,0 ( $C_q$ , C-4); 132,7 (CH, C-5'); 132,0 ( $C_q$ , C-1); 159,1 ( $C_q$ , C-3'); 160,3 ( $C_q$ , C-1'); 168,9 ( $C_q$ , C-1).

## Preparació de 75

### Partint del compost 56

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el compost **56** (0,149 g, 0,599 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (0,317 g, 0,899 mmol, 1,5 eq), el pal·ladi i el ( $\pm$ )-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (25 mL) i finalment l'*N*-metilpiperazina (0,080 mL,  $d = 0,903$  g/mL, 0,719 mmol, 1,2 eq). El matràs és tanca i la mescla es deixa reaccionar amb agitació a  $160 \pm 10$  °C durant 9 dies.

### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit i el residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. No s'obté el producte final esperat i es recupera el producte de partida.

### Partint del compost 58

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueixen **58** (0,308 g, 1,051 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (0,667 g, 1,891 mmol, 1,9 eq), el pal·ladi i el (±)-BINAP (quantitat catal·lítica) en el si de toluè (20 mL) i finalment [redacted] (0,14 mL, d = 0,903 g/mL, 1,261 mmol, 1,2 eq). El matràs és tanca i la mescla es deixa reaccionar amb agitació a 160 ± 10 °C durant tres dies.

#### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor i el residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> igual que en el primer cas. No s'obté el producte final esperat sinó que majoritàriament es recupera el producte de partida sense reaccionar.

### Preparació de 79

#### Procediment general

##### Opció a)

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix el producte **14** (0,05 g, 0,16 mmol, 1 eq) en 5 mL de diclorometà. Tot seguit s'hi addiciona l'NIS (0,038 g, 0,169 mmol, 1,05 eq) i es deixa reaccionar sota agitació constant a temperatura ambient durant 16 hores. Passat aquest temps la CCF no mostra l'aparició del producte final i per tant s'hi afegeix I<sub>2</sub> en quantitat catal·lítica i es deixa reaccionar en les mateixes condicions durant 16 hores més.

##### Opció b)

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix el producte **14** (0,1 g, 0,32 mmol, 1 eq) en 5 mL de diclorometà anhidre. Tot seguit s'hi addicionen 0,05 g de Celite® i l'ICI (0,050 g, 0,32 mmol, 1 eq) i es deixa reaccionar sota agitació constant a temperatura ambient durant 4 hores.

#### Final de reacció

##### Opció a)

S'afegeix gel al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 X 15 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb una solució saturada de tiosulfat sòdic (3 X 15 mL) i posteriorment s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre. El cru de reacció es filtra i dissolvent s'evapora al rotavapor. L'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H no mostra el producte final esperat sinó que es recupera una mescla de producte de partida i un derivat procedent de l'obertura de la lactona, present en el medi de cumarina.

## Opció b)

El cru de reacció es filtra amb l'ajut del buit i s'evapora el dissolvent a sequedat. L'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H mostra que tampoc s'obté el producte final esperat.

### Preparació de 80

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix el producte **14** (0,1 g, 0,32 mmol, 1 eq) en 5 mL de diclorometà anhidre i es refreda amb l'ajut d'un bany de gel i aigua extern. Tot seguit s'hi addiciona l'NBS (0,08 g, 0,449 mmol, 1,4 eq) i el Br<sub>2</sub> (0,016 mL, 0,32 mmol, 1 eq) i la mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 16 hores.

#### Final de reacció

El cru de reacció es renta amb 20 mL d'aigua destil·lada i 20 mL d'una solució aquosa d'NaOH 1N. La fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

El residu obtingut format per un sòlid groc no és purificat ja que els derivats halogenats són força làbils i poden deshalogenar fàcilment, per tant es prossegueix directament amb el següent pas sintètic.

**Rendiment:** 100%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,43 (Hexà/Acetats d'etil (7:3))

**Punt de fusió:** 225-227 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-O); 3,92 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-O (X2)); 6,58 (s, 1H, H-4'); 6,88 (s, 2H, H-2', H-6'); 7,43 (d, J = 8 Hz, 1H, H-6); 7,50 (s, 1H, H-8); 7,55 (d, J = 8 Hz, 1H, H-5).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 55,9 (CH<sub>3</sub>-O); 56,7 (CH<sub>3</sub>-O (X2)); 97,6 (CH, C-4'); 101,0 (CH, C-2', C-6'); 105,5 (C<sub>q</sub>, C-8); 112,8 (C<sub>q</sub>, C-4a); 113,2 (CH, C-6); 126,2 (C<sub>q</sub>, C-3); 129,7 (CH, C-5); 138,5 (C<sub>q</sub>, C-1'); 143,8 (CH, C-4); 156,5 (C<sub>q</sub>, C-8a); 156,9 (C<sub>q</sub>, C=O); 159,7 (C<sub>q</sub>, C-7); 163,7 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'). (Mentre que en l'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H s'observa la presència del brom amb els desplaçaments corresponents, en el de carboni sembla que el producte hagi patit una deshalogenació degut al caràcter àcid del cloroform deuterat i l'elevat temps de duració de la tècnica).

### Preparació de 81

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix el producte **14** (0,120 g, 0,384 mmol, 1 eq) i l'NBS (0,096 g, 0,539 mmol, 1,4 eq) en 5 mL de diclorometà anhidre i es refreda amb l'ajut d'un bany de gel i aigua extern. Tot seguit s'hi addiciona un excés de Br<sub>2</sub> (20 mL, 390 mmol, gran excés) i la mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 16 hores.

#### Final de reacció

El cru de reacció es renta amb 20 mL d'aigua destil·lada i 20 mL d'una solució aquosa d'NaOH 1N. La fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El residu obtingut format per un oli marró no és purificat.

**Rendiment:** 100%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,848 (Hexà/Acetats d'etil (7:3))



**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,99 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-O (X2)); 4,07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-O); 7,60 (s, 1H, H-5); 7,79 (s, 1H, H-4).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 60,9 (CH<sub>3</sub>-O (X2)); 56,7 (CH<sub>3</sub>-O); 109,2 (CH, C-4'); 114,1 (CH, C-2', C-6'); 117,2 (C<sub>q</sub>, C-6); 118,1 (C<sub>q</sub>, C-8); 122,4 (C<sub>q</sub>, C-4a); 123,1 (C<sub>q</sub>, C-3); 130,7 (CH, C-5); 131,4 (C<sub>q</sub>, C-1'); 142,3 (CH, C-4); 152,2 (C<sub>q</sub>, C-8a); 156,3 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 158,0 (C<sub>q</sub>, C-7); 159,7 (C<sub>q</sub>, CO).

## Preparació de 85

### Procediment general

A un matràs de tres boques de 50 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi introdueix el zinc (0,8 g, 12 mmol, 5 eq) amb 30 mL de THF anhidre sota atmosfera inert d'argó. La mescla es refreda a 0 °C i s'hi afegeix lentament el TiCl<sub>4</sub> (0,65 mL, 6 mmol, 2,5 eq) i es deixa sota agitació constant durant 2,5 hores. A continuació es torna a refredar la mescla a 0 °C i s'hi afegeix l'aldehid **83** (471 mg, 2,4 mmol, 1 eq) i l'aldehid **84** (400 mg, 2,4 mmol, 1 eq) dissolts en 30 mL de THF. La mescla s'escalfa a reflux i agitació constant durant 3 dies.

### Final de reacció

S'afegeixen 25 mL d'una solució aquosa de bicarbonat al 10% i s'extreu amb diclorometà (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice manualment emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté un sòlid blanc.

**Rendiment:** 38%

### Dades analítiques:

**R<sub>f</sub>:** 0,75 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

**Punt de fusió:** 115-117 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**IR (ATR) ν cm<sup>-1</sup>:** 2933 (Ar-H); 2836 (=C-H); 1205 (Ar-O); 1128 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm):** 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,91 (s, 6H, CH, OCH<sub>3</sub> (X2)); 6,49 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-3); 6,51 (dd, *J* = 2,4 Hz, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-5); 6,73 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,94 (d, *J* = 16,4 Hz, 1H, Ar-CH=CH-Ar); 7,28 (d, *J* = 16,4 Hz, 1H, Ar-CH=CH-Ar); 7,49 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-6).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz) δ (ppm):** 55,8 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> (X2)); 56,4 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> (X2)); 61,2 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>); 98,8 (CH, C-3); 103,7 (CH, C-2', C-6'); 105,3 (CH, C-5); 119,7 (C<sub>q</sub>, C-1); 123,2 (CH, Ar-CH=CH-Ar); 127,3 (CH, Ar-CH=CH-Ar); 127,6 (CH, C-6); 134,5 (C, C-1'); 137,8 (C, C-4'); 153,6 (C, C-3', C-5'); 158,3 (C<sub>q</sub>, C-2); 160,9 (C<sub>q</sub>, C-4).

## Preparació de 86

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un capçal de vidre amb clau s'hi introdueix el producte de partida (0,200 g, 0,6 mmol, 1 eq) dissolt en 5 mL de diclorometà. Es refreda la mescla a -30 ± 10 °C i a continuació s'hi afegeix el BBr<sub>3</sub> (0,70 mL, 7,5 mmol, 12,5 eq) i es manté a aquesta temperatura durant 10 minuts. A continuació, es deixa atemperar i és manté a temperatura ambient durant 50 minuts.

### Final de reacció

S'afegeix 30 mL d'aigua i gel al cru de reacció i es basifica fins a  $pH = 12$ . El residu es renta amb diclorometà (3 X 20 mL) i la fase aquosa s'acidifica fins a  $pH = 1$  i a continuació s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor. El producte obtingut, en forma de sòlid blanc, s'obté amb puresa suficient per procedir amb la seqüència sintètica.

**Rendiment:** 98%.

### Dades analítiques:

**R<sub>f</sub>:** 0,25 (Hexà/Acetats d'etil (1:1))

**EM, ESI (-) m/z:** Calculat per a  $C_{14}H_{12}O_5 = 259,0685$  [M-H]<sup>-</sup>. Obtingut: 259,0663 [M-H]<sup>-</sup>.

**IR (ATR)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>:** 2933 (Ar-H); 2836 (=C-H); 1205 (Ar-O); 1128 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 6,40-6,70 (m, 2H, H-5', H-3'); 6,73 (s, 2H, H-2, H-6); 7,62 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, Ar-CH=CH-Ar); 7,78 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, Ar-CH=CH-Ar); 8,37 (s, 1H, H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz)  $\delta$ (ppm):** 101,7 (CH, C-3'); 106,4 (CH, C-5'); 118,2 (CH, Ar-CH=CH-Ar), 123,4 (CH, Ar-CH=CH-Ar); 125,6 (CH, C-2, C-6); 126,8 (CH, C-6'); 128,7 (C<sub>q</sub>, C-OH); 134,0 (C<sub>q</sub>, C-1); 137,7 (C<sub>q</sub>, C-OH); 139,3 (C<sub>q</sub>, C-1'); 146,5 (C<sub>q</sub>, C-OH (X2)); 152,1 (C<sub>q</sub>, C-OH).

## Preparació de 94

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un refrigerant s'hi introdueixen 50 mg (0,158 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt en 10 mL de DMF, el carbonat de potassi anhidre (43,7 mg, 0,316 mmol, 2 eq) i 1 mL de iodur de metil. La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 20 dies, afegint cada dia 1 mL més de iodur de metil. S'hi afegeix també 1 equivalent de carbonat de cesi i d'hidròxid de tetrabutilamoni per tal que la reacció avanci.

### Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb una dissolució aquosa d'NaOH (2N) (3 X 20 mL) per tal d'eliminar el producte de partida i els possibles subproductes formats amb algun fenol lliure. La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor.

### Purificació

El producte es purifica per cromatografia de columna de gel de sílice manualment emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluent però no s'observa el producte final esperat sinó que es recupera producte de partida.

## Preparació de 95

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el *resveratrol* (0,3 g, 1,314 mmol, 1 eq) dissolt en 5 mL d'acetona i el carbonat de potassi anhidre (0,908 g, 6,571 mmol, 5 eq). La mescla es refreda amb un bany de gel extern i a continuació s'hi afegeix el clorometil metil èter (1,49 mL, 19,71 mmol, 10-15 eq). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 11 dies. Després de sis dies s'hi afegeixen 10 equivalents més d'agent alquilant.

### Final de reacció

S'evapora l'excés de reactiu al rotavapor i el residu s'extreu amb aigua (20 mL) i diclorometà (15 X 3). Es genera un residu sòlid que no és soluble en cap de les dues fases. Les fases orgàniques reunides es renten amb una solució aquosa d'NaOH (1N) i a continuació s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre. S'elimina el dissolvent al rotavapor però no s'obté el producte final esperat. La fase aquosa provinent del rentat amb base s'acidifica i es torna a extreure amb diclorometà, però tampoc s'obté el producte esperat sinó que es recupera el producte de partida.

## Preparació de 97

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb tap de rosca especial per a les reaccions d'acoblament i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,1 g, 0,160 mmol, 1 eq) en el si de toluè, el carbonat de cesi (0,254 g, 0,720 mmol, 4,5 eq), el pal·ladi i el ( $\pm$ )-BINAP i finalment la metilpiperazina (0,064 mL,  $d = 0,903 \text{ g/mL}$ , 0,576 mmol, 3,6 eq). La mescla de reacció s'escalfa a  $130 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$  durant dos dies sota agitació constant.

### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit i el cru es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash<sup>®</sup> R<sub>f</sub> emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil i posteriorment acetat d'etil i metanol amb amoníac com a eluent. No s'observa producte final però tampoc producte de partida, només derivats del ( $\pm$ )-BINAP i altres estructures que no corresponen amb l'esperat. S'abandona la reacció.

## Preparació de 98

### Procediment general

#### Condicions a)

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el *resveratrol* (0,5 g, 2,190 mmol, 1 eq) en 20 mL d'acetona. Tot seguit s'hi addiciona la trietilamina (1,82 mL,  $d = 0,734 \text{ g/mL}$ , 13,14 mmol, 6 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant deu minuts. A continuació, es refreda amb un bany extern d'aigua i gel i s'hi afegeix el clorofosfat de dietil (3 mL, 20,759 mmol, excés). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant onze dies.

#### Condicions b)

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el *resveratrol* (1 g, 4,383 mmol, 1 eq) en 20 mL d'acetona. Tot seguit s'hi addiciona la resina bàsica (3 g) i la mescla es refreda amb un bany extern de gel durant 20 minuts. A continuació, s'hi afegeix el clorofosfat (1 mL, 6,920 mmol, excés). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant trenta dies, afegint 1 mL de clorofosfat de dietil cada 2 dies.

### Final de reacció

### Condicions a)

S'evapora l'acetona al rotavapor i el residu obtingut es dissol en 15 mL de diclorometà, que es renta tres cops amb aigua. Les fases orgàniques és renten dos cops amb una solució aquosa de bicarbonat sòdic (0,5 N), s'assequen sobre sulfat sòdic i s'evapora el dissolvent a sequedat. És forma un residu líquid on s'observa dues fases (es creu que podria ser excés de clorofosfat de dietil que no s'ha hidrolitzat). Per tal d'eliminar-lo es microdestil·la una alíquota. El residu obtingut es purifica per cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> però no s'observa el producte final **98** ni tampoc els possibles subproductes de reacció **99** i **100**.

### Condicions b)

Es filtra la resina i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit. Al residu s'hi afegeix aigua i s'extreu tres cops amb acetat d'etil, però l'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H mostra producte de partida. S'abandona la reacció.

## Preparació de 102

### Procediment general

A un matràs de 250 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el benzaldehyd (1 g, 6,572 mmol, 1 eq), dissolt en 20 mL de DMF. A continuació, s'hi afegeixen el carbonat de potassi anhidre (1,27 g, 1,190 mmol, 1,4 eq) i el bromur de benzil (1,2 mL, d = 1,438 g/mL, 10,103 mmol, 1,4 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar a 80 ± 10 °C durant 16 hores sota agitació constant.

### Final de reacció

El cru de reacció és dilueix amb 15 mL de dietilèter i es renta amb una dissolució d'NaOH 2N (3 X 20 mL). A continuació, es renta la fase orgànica amb aigua destil·lada (2 x 20 mL) i posteriorment s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. Finalment s'obté un sòlid blanc-groguenc.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,55 (Hexà/Acetats d'etil (7:3))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm):** 3,96 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5,19 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 6,99 (d, J = 9 Hz, 1H, H-5); 7,36-7,38 (m, 2H, H-2, H-6); 7,45-7,48 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 9,82 (s, 1H, CHO).

## Preparació de 103

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehyd de partida (0,5 g, 2,064 mmol, 1 eq), dissolt en 10 mL d'anhidrid acètic. A continuació, s'hi addiciona l'àcid **101** (0,467 g, 2,064 mmol, 1 eq) i la trietilamina (1,5 mL, d = 0,726 g/mL, 10,876 mmol, 5,2 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar amb agitació constant a 140 ± 10 °C durant 6 hores.

### Final de reacció

El cru de reacció es microdestil·la a 150 ± 10 °C. El residu obtingut es dissol en dietilèter i s'extreu amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N) (3 X 20 mL). Les fases aquoses es reuneixen i s'acidifiquen amb una dissolució aquosa d'àcid clorhídric (5N) mantenint la temperatura a 0 ± 10 °C amb un bany

extern fins que s'observa la formació d'un precipitat marró clar. A continuació, la fase aquosa s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat. El producte obtingut s'obté amb puresa suficient per procedir amb la seqüència sintètica.

**Rendiment:** 70%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,24 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

**Punt de fusió:** 192-195 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**IE m/z (%):** Calculat per C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>O<sub>7</sub> = 450,17 [M<sup>+</sup>]. Obtingut: 450,00 [M<sup>+</sup>, 62]

**IR (ATR) ν cm<sup>-1</sup>:** 3200-2500 (OH); 2990-2910 (C-H); 1662 (C=O); 1597, 1581, 1505 (Ar-H); 1259, 1241 (Ar-O); 1122 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300 MHz) δ(ppm):** 3,78 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 3,86 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 4,75 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 6,46 (s, 2H, H-2', H-6''); 6,62 (d, J = 1,7 Hz, 1H, H-2''); 6,76 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H-5''); 6,85 (dd, J<sub>1</sub> = 1,7 Hz, J<sub>2</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-6''); 7,28-7,35 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,81 (s, 1H, H-3); 9,82 (s, 1H, COOH).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 75,5 MHz) δ(ppm):** 55,6 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>); 56,1 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> (X2)); 60,2 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>); 69,5 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 107,1 (CH, C-2', C-6''); 112,0 (CH, C-2''); 114,5 (CH, C-5''); 126,0 (CH, C-6''); 127,3 (C<sub>q</sub>, C-1''); 128,1 (CH, C-2''', C-6'''); 128,5 (CH, C-4'''); 129,0 (CH, C-3''', C-5'''); 131,1 (C<sub>q</sub>, C-1''); 133,0 (C<sub>q</sub>, C=CH); 137,0 (C<sub>q</sub>, C-1'''); 137,5 (C<sub>q</sub>, C-4''); 139,5 (CH, C=C<sub>H</sub>); 147,5 (C<sub>q</sub>, C-4''); 150,8 (C<sub>q</sub>, C-3''); 154,1 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 169,2 (C, C=O).

### Preparació de 105

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, proveït d'un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid de partida (0,166 g, 1,092 mmol, 1 eq), dissolt en 10 mL d'anhidrid acètic. A continuació, s'hi addiciona l'àcid **101** (0,247 g, 1,092 mmol, 1 eq) i la trietilamina (2 mL, d = 0,726 g/mL, 3,878 mmol, 3,5 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar sota agitació constant a 140 ± 10 °C durant 6 hores.

#### Procediments alternatius assajats:

Per intentar optimitzar el rendiment i el temps de reacció s'intenta dur a terme la reacció en diferents condicions.

En primer lloc s'empra trietilamina en el sí d'àcid trifluoroacètic a temperatura de reflux. En segon lloc la reacció es realitza amb assistència de microones, usant iguals proporcions de trietilamina en el sí d'anhidrid acètic durant 45 minuts a 140 ± 10 °C. En cap dels dos casos observa producte final.

#### Final de reacció

El cru de reacció es microdestil·la amb l'ajut del buit (7,5 mmHg) a 150 ± 10 °C. El residu obtingut es dissol en dietilèter i s'extreu amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N) (3 X 20 mL). Les fases aquoses es reuneixen i s'acidifiquen amb una dissolució aquosa d'HCl (5N) mantenint la temperatura a 0 ± 10 °C fins que s'observa la formació d'un precipitat marró clar. A continuació, la fase aquosa s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

Es purifica el cru de reacció mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat elueix amb una polaritat

d'hexà/acetat d'etil (35:65) i s'obté un sòlid taronja. Es recuperen també els productes de partida (70:30) que no han reaccionat. En una de les repeticions es purifica el cru de reacció mitjançant recristal·lització amb acetat d'etil en calent i hexà però el rendiment que s'obté és inferior.

**Rendiment:** quan la purificació del producte es fa mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice es rendiment és del 37%, mentre que quan es fa mitjançant recristal·lització és del 7%.

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,13 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

**Punt de fusió:** 135 - 136 °C (Acetat d'etil)

**IR (KBr)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>:** 3399 (OH); 2940 (Ar-H); 1670 (C=O); 1585 (C=C); 1265 (Ar-O); 1127 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,87 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X<sub>2</sub>)); 3,88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,70 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,81 (d,  $J = 8,36$  Hz, 1H, H-5''); 6,86 (s, 1H, H-2''); 6,98 (d,  $J = 8,36$  Hz, 1H, H-6''); 7,09 (s, 1H, Ar-OH); 7,82 (s, 1H, C=C-H).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 56,3 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>(X<sub>3</sub>)); 61,0 (CH<sub>3</sub>, C-4'-O-CH<sub>3</sub>); 104,3 (CH, C-2', C-6'); 110,7 (CH, C-5''); 114,5 (CH, C-2''); 121,4 (CH, C-6''); 128,6 (C<sub>q</sub>, C-1'); 132,2 (C<sub>q</sub>, C-2); 133,1 (CH, C-1''); 138,4 (C<sub>q</sub>, C-4'); 145,6 (C<sub>q</sub>, C-3''); 147,2 (C<sub>q</sub>, C-4''); 153,4 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 168,9 (C<sub>q</sub>, C=O).

### Preparació de 106

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'àcid carboxílic de partida (0,884 g, 1,962 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,542 g, 3,925 mmol, 2 eq) i 1 mL ( $d = 2,28$  g/mL, 16,063 mmol) de iodur de metil. La mescla resultant s'agita a temperatura ambient i al cap de 6 hores s'hi afegeix 1 mL més de iodur de metil. La mescla es deixa reaccionar sota agitació i a temperatura ambient un total de 16 hores.

#### Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i es renten dues vegades amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N). Tot seguit la fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat fins a l'obtenció d'un sòlid blanc.

#### Purificació:

El producte obtingut s'obté amb una puresa suficient per procedir amb la seqüència sintètica.

**Rendiment:** 92%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,69 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

**Punt de fusió:** 90-92 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**IE m/z (%):** Calculat per C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>O<sub>7</sub> = 464,18 [M<sup>+</sup>]. Obtingut: 464,00 [M<sup>+</sup>, 91]

**IR (ATR)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>:** 3000 (C=CH); 2953, 2829 (C-H); 1708 (C=O); 1582, 1508, 1467 (Ar-H); 1241 (Ar-O); 1122, 1009 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,78 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X<sub>2</sub>)); 3,79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,74 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 6,45 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,61 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H, H-2''); 6,75 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-5''); 6,84 (dd,  $J_1 = 2,1$  Hz  $J_2 = 8,7$  Hz, 1H, H-6''); 7,24-7,34 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,71 (s, 1H, C=CH).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz)  $\delta$ (ppm):** 52,2 (CH<sub>3</sub>, COO-CH<sub>3</sub>); 55,8 (CH<sub>3</sub>, Ar-O-CH<sub>3</sub>); 56,1 (CH<sub>3</sub>, Ar-O-CH<sub>3</sub> (X<sub>2</sub>)); 60,9 (CH<sub>3</sub>, Ar-O-CH<sub>3</sub>); 70,2 (CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 107,1 (CH, C-2', C-6'); 111,2 (CH, C-2''); 115,0 (CH,

C-5''); 126,1 (CH, C-6''); 127,3 (CH, C-2''', C-6'''); 127,4 (C<sub>q</sub>, C-1''); 128,0 (CH, C-4'''); 128,1 (CH, C-3''', C-5'''); 128,8 (C<sub>q</sub>, C-1'); 130,0 (C<sub>q</sub>, C-1'''); 132,0 (C<sub>q</sub>, C-2); 136,9 (C<sub>q</sub>, C-3''); 140,7 (CH, C-3); 147,9 (C<sub>q</sub>, C-4''); 151,2 (C<sub>q</sub>, C-4'); 154,1 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 168,9 (C<sub>q</sub>, C=O).

## Preparació de 107

### Procediment general

En un matràs de coll llarg emprat per a les reaccions d'hidrogenació s'hi introdueix l'èster de partida (0,17 g, 0,366 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de metanol. A continuació, s'hi addiciona el pal·ladi carbó (0,017 g, 10% p/p producte partida) i és col·loca en un sistema d'hidrogenació proveït amb una columna d'1L d'hidrogen. Es deixa reaccionar sota agitació constant i a temperatura ambient durant 16 hores fins que s'observa que no queda producte de partida en la capa fina.

### Final de reacció

Es filtra el pal·ladi a pressió atmosfèrica amb doble paper de filtre i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit fins que s'obté un residu amb aspecte de goma blanca.

### Purificació

No es realitza cap procediment per tal de purificar el compost ja que en l'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H s'observa un compost de puresa acceptable per continuar amb la ruta sintètica.

**Rendiment:** 100% del producte **107**. No s'obté el producte **34**.

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,58 (Hexà/Acetats d'etil (1:1))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 2,90 (dd,  $J_1 = 6,32$  Hz,  $J_2 = 6,36$  Hz, 1H, H-3); 3,26 (dd,  $J_1 = 9$  Hz,  $J_2 = 9$  Hz, 1H, H-3); 3,62 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>); 3,72 (dd,  $J_1 = 6,32$  Hz,  $J_2 = 6,36$  Hz, 1H, H-2); 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,84 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>(X2)); 3,85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,51 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,59 (dd,  $J_1 = 2,12$  Hz,  $J_2 = 8,2$  Hz, 1H, H-6''); 6,72 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, H-5''); 6,74 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H, H-2'').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 39,0 (CH<sub>2</sub>, C-3); 51,8 (CH, C-2); 53,6 (CH<sub>3</sub>, COOCH<sub>3</sub>); 55,7 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 55,9 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>(X2)); 50,6 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 105,1 (CH, C-2', C-6'); 110,8 (CH, C-5''); 115,3 (CH, C-2''); 120,6 (CH, C-6''); 132,4 (C, C-1''); 134,6 (C, C-1'); 137,6 (C, C-3''); 145,7 (C, C-4''); 145,9 (C, C-4'); 153,8 (C, C-3', C-5'); 174,4 (C, C=O).

## Preparació de 109

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat prèviament flamejat i sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el benzaldehyd (0,230 g, 1,512 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF. A continuació, s'hi afegeix el carbonat de potassi anhidre (0,315 g, 3,023 mmol, 2 eq) i la mescla es refreda amb un bany extern de gel i aigua. Tot seguit s'hi afegeix el clorur de sulfonil (0,174 g, 1,512 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa atemperar i es fa reaccionar durant 4 dies a temperatura ambient amb agitació constant.

### Final de reacció

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i aquest s'extreu amb dietilèter (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

No es purifica el cru de reacció ja que el producte final és podria degradar fàcilment. Per tant es segueix amb la següent reacció.

**Rendiment:** 41% (sense purificar)

### Dades analítiques

R<sub>f</sub>: 0,57 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm): 3,69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 7,01 (d, J = 8,5, 1H, H-5); 7,42-7,44 (m, 2H, H-2, H-6); 7,85 (d, J = 9,4, 2H, H-3', H-5'); 8,03 (d, J = 8,8, 2H, H-2', H-6'); 9,87 (s, 1H, CHO).

### Preparació de 110

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat flamejat i equipat amb un refrigerant de reflux i sota atmosfera d'argó, s'hi introdueix l'aldehid de partida (0,122 g, 0,384 mmol, 1 eq), dissolt en 10 mL d'anhidrid acètic. A continuació, s'hi addiciona l'àcid **101** (0,087 g, 0,384 mmol, 1 eq) i la trietilamina (0,28 mL, d = 0,726 g/mL, 0,543 mmol, 1,4 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar sota agitació constant a 140 ± 10 °C durant 6 hores.

#### Final de reacció

El cru de reacció es microdestil·la a 140 ± 10 °C. El residu obtingut es dissol en dietilèter i s'extreu amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N) (3 X 20 mL). Les fases aquoses es reuneixen i s'acidifiquen amb HCl (5N) mantenint la temperatura a 0 ± 5 °C amb un bany extern de gel i aigua fins que s'observa la formació d'un precipitat marró clar. A continuació, la fase aquosa s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

No es purifica el brut de reacció ja que aquesta operació és més fàcil amb el producte final de l'etapa següent i s'evita la degradació del producte de final.

Rendiment: 76%

#### Dades analítiques

R<sub>f</sub>: 0,10 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm): 3,79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,99 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X<sub>2</sub>)); 6,45 (s, 2H, H-2', H-6''); 6,67 (dd, J<sub>1</sub> = 2 Hz, J<sub>2</sub> = 8 Hz, 1H, H-6'''); 6,97 (d, J = 8 Hz, 1H, H-5''); 7,43 (d, J = 2 Hz, 1H, H-2''); 7,44 (s, 1H, H-3); 7,80 (d, J = 9 Hz, 2H, H-3''', H-5'''); 7,91 (d, J = 9 Hz, 2H, H-2''', H-6'''). (S'observen senyals corresponent a l'àcid de partida **101** ja que no es purifica el producte final).

### Preparació de 111

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix l'aldehid **104** (0,5 g, 3,286 mmol, 1 eq) en 15 mL d'acetat d'etil. A continuació, el cru de reacció es refreda a -78 ± 10 °C i s'hi addiciona el POCl<sub>3</sub> (0,307 mL, d = 1,645 g/mL, 3,286 mmol, 1 eq) i la trietilamina (0,458 mL, d = 0,726 g/mL, 3,286 mmol, 1 eq). La mescla es deixa reaccionar 16 hores a temperatura ambient, mantenint l'agitació constant. Passat aquest temps es filtra el precipitat format i s'evapora el dissolvent a sequedat. A continuació, s'hi afegeixen 20 mL d'etanol i dues gotes de trietilamina i posteriorment es deixa reaccionar a temperatura ambient durant cinc dies sota agitació constant.

#### Final de reacció

S'evapora el dissolvent a sequedat i es realitza un control per espectre d'RMN-<sup>1</sup>H, però s'observen bandes molt amples, característiques dels fosfats. Es segueix amb la següent reacció sense purificar.



## Dades analítiques

R<sub>f</sub>: 0,63 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 1,32 (s, 3H, POOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,42 (s, 3H, POOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,15 (m, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,97 (ba, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,08 (ba, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6,97 (ba, 1H, H-5); 7,44 (s, 1H, H-2); 4,45 (ba, 1H, H-6); 9,82 (s, 1H, COH).

## Preparació de 114

### Condicions a)

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix l'aldehid de partida (0,250 g, 1,645 mmol, 1 eq) dissolt en el si de toluè (15 mL) i s'hi afegeix la piridina (0,1 mL, d = 0,978 g/mL, 1,236 mmol, 0,76 eq) i el POCl<sub>3</sub> (1,536 mL, d = 1,645 g/mL, 16,431 mmol, 10 eq). La mescla s'agita durant 4 hores a temperatura ambient. Passat aquest temps s'observa per cromatografia de capa fina que no es forma cap producte nou. S'hi afegeix més de POCl<sub>3</sub> (1,2 mL, 12,853 mmol) i trietilamina (2 mL, d = 0,726 g/mL, 14,349 mmol, 8,72 eq) i es deixa a temperatura ambient durant 16 hores, mantenint l'agitació constant.

#### Final de reacció

S'evapora el dissolvent al rotavapor coevaporant amb l'ajut de toluè fins que es forma un precipitat groc. Es recupera el sobrenedant que conté el producte final i també el producte de partida com mostra l'espectre d'RMN de protó. L'endemà el producte assoleix una coloració violeta corresponent a la hidròlisi del clorur a àcid fosfòric (R<sub>f</sub>: 0 Hexà/Acetats d'etil (5:5)). El producte es dissol en etanol amb quantitats catalítiques d'àcid trifluoroacètic per tal d'esterificar-lo però després de 20 dies no s'observa cap canvi en la cromatografia de capa fina i finalment es decideix abandonar la reacció.

### Condicions b)

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix l'aldehid de partida (0,259 g, 1,702 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL d'acetona i s'hi afegeix POCl<sub>3</sub> destil·lat sobre oli de llinasa purificat (0,159 mL, d = 1,645 g/mL, 1,702 mmol, 1 eq). Tot seguit es refreda la reacció a -78 ± 10 °C amb un bany extern i s'hi afegeix la trietilamina (0,237 mL, d = 0,726 g/mL, 1,702 mmol, 1 eq). Passat 15 minuts s'observa la formació d'un precipitat rosat i es deixa a temperatura ambient durant 16 hores.

Passat aquest temps la CCF mostra la formació d'un producte amb R<sub>f</sub>: 0 (Hexà/Acetats d'etil 5/5). Creiem que enlloc de formar-se l'intermedi amb el clorur de fosfat s'ha hidrolitzat a àcid fosfòric tal i com passa en les condicions a) (podria ser degut a l'aigua de l'acetona). Per tal de formar l'èster de fosfat s'hi afegeix 15 mL d'etanol i quantitat catalítica d'àcid trifluoroacètic. La mescla es deixa reaccionar a temperatura de reflux d'etanol sota agitació constant durant 16 hores i a continuació 20 dies a temperatura ambient.

#### Final de reacció

S'evapora el dissolvent al rotavapor, s'afegeix aigua (15 mL) al residu obtingut i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre i el dissolvent s'evapora a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit, obtenint-se un oli marró.

#### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. No s'obté el producte final esperat **111** sinó que sembla que s'ha format el fosfat però també s'ha addicionat l'etanol sobre el carbonil donant lloc a l'acetal corresponent (compost **114**).

**Rendiment:** 0% del producte esperat **111** i 25% del producte obtingut **114**.

#### Dades analítiques

R<sub>f</sub>: 0,649 (Hexà/Acetat d'etil 1/1)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 1,18-1,25 (m, 6H, CH<sub>3</sub> acetal (X2)); 1,30-1,32 (m, 6H, CH<sub>3</sub> fosfat (X2)); 3,80-3,82 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-O (X2)); 3,90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-O); 4,10-4,33 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-O-P); 6,06 (s, 1H, CH acetal); 6,72-6,88 (m, 1H, H-5); 6,91-7,00 (m, 1H, H-6); 7,47 (s, 1H, H-2).

### Preparació de 117

#### Procediment general

A un matràs de 25 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el fenol de partida (0,2 mL, d = 1,131 g/mL, 1,82 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL d'acetat d'etil. A continuació, s'hi afegeix el POCl<sub>3</sub> (0,17 mL, d = 1,645 g/mL, 1,82 mmol, 1 eq), la mescla es refreda a -78 ± 10 °C i tot seguit s'hi addiciona la trietilamina (0,254 mL, d = 0,726 g/mL, 1,82 mmol, 1 eq). Es deixa reaccionar 16 hores a temperatura ambient i s'observa la formació d'un precipitat blanc.

Passat aquest temps es filtra el precipitat format i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor. El residu obtingut es dissol en 15 mL d'etanol a 0 ± 5 °C i a continuació es deixa en agitació constant a temperatura ambient durant tres dies.

#### Final de reacció i purificació

S'evapora el dissolvent a sequedat i el residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (60:40) i es tracta d'un oli groc.

**Rendiment:** 40%

#### Dades analítiques

R<sub>f</sub>: 0,158 (Hexà/Acetat d'etil (8:2))

### Preparació de 118

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica s'hi introdueix el fenol de partida (0,100 g, 0,384 mmol, 1 eq) dissolt en 3 mL d'etanol. A continuació, s'hi afegeixen 7 mL d'una dissolució aquosa d'NaOH (2N) i la mescla es deixa reaccionar sota agitació constant a temperatura ambient durant 16 hores. Passat aquest temps s'evapora l'etanol al rotavapor amb l'ajuda del buit i a continuació s'acidifica amb una dissolució aquosa d'HCl 5N fins a pH = 1.

#### Final de reacció

El cru de reacció s'extreu tres cops amb 15 mL de diclorometà. Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat. L'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H mostra el producte final esperat juntament amb el producte de partida en menor proporció.

El producte obtingut, un oli groc, no es purifica ja que només es volia comprovar que la metodologia de introducció del fosfat funciona.

**Rendiment:** 40%

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,78 (s, 3H, Ar-OCH<sub>3</sub>); 5,53 (s, 2H, OH); 6,43-6,52 (m, 3H, H-2, H-4, H-6); 7,13 (t, *J* = 8,3 Hz, H-5).

### Preparació de 119

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat i prèviament flamejat i sota atmosfera d'argó, equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid de partida (0,5 g, 1,859 mmol, 1 eq), dissolt en 10 mL d'anhidrid acètic. A continuació, s'hi addiciona l'àcid **101** (0,420 g, 1,859 mmol, 1 eq) i la trietilamina (2 mL, *d* = 0,726 g/mL, 3,878 mmol, 3,9 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar amb agitació constant a 140 ± 10 °C durant 6 hores mantenint l'agitació constant.

#### Final de reacció

El cru de reacció es microdestil·la a 150 ± 10 °C. El residu obtingut es dissol en dietilèter i s'extreu amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N) (3 X 20 mL). Les fases aquoses es reuneixen i s'acidifiquen amb una solució aquosa d'HCl (5N) mantenint la temperatura a 0 ± 5 °C amb un bany extern de gel i aigua fins que s'observa la formació d'un precipitat marró clar. A continuació, la fase aquosa s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

El residu obtingut no es purifica sinó que es farà en la següent etapa sintètica.

**Rendiment:** 59% (sense purificar)

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,105 (Hexà/Acetats d'etil (1:1))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 1,23-1,19 (m, 6H, POOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (X2)); 3,78-3,88 (m, 16H, OCH<sub>3</sub> (X4), POOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (X2)); 6,45 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,72-6,80 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 7,80 (s, 1H, C=CH).

### Preparació de 121

#### Condicions a)

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó i acoblat a un refrigerant, s'hi introdueix l'àcid carboxílic de partida (0,100 g, 0,22 mmol, 1 eq) dissolt en 5 mL de quinolina i quantitat catalítica de coure. La mescla es manté sota agitació constant durant 6 hores a 200 ± 10 °C.

#### Condicions b)

#### Procediment general

En un tub de microones prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix l'àcid carboxílic de partida (0,118 g, 0,262 mmol, 1 eq) dissolt en 3 mL de quinolina i quantitat catalítica de coure. La mescla s'introdueix en el forn de microones sota agitació constant durant 10 minuts a 150 ± 10 °C (el microones no permet assolir la temperatura inicialment programada, 220 °C, i es manté a 150 °C).

### Final de reacció

En ambdós casos s'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i tot seguit s'extreu amb diclorometà (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i es renten amb una dissolució aquosa d'NaOH (1N) per eliminar l'àcid de partida i amb una dissolució aquosa d'HCl (2N) per eliminar la quinolina. Tot seguit la fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice (95% sílice normal i 5% sílice Flash) manualment emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20).

**Rendiment:** 60% seguint les condicions a) i 75% seguint les condicions b).

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,78 (Hexà/Acetat d'etil (8:2))

**IE m/z (%):** Calculat per C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub> = 406,2 [M<sup>+</sup>]. Obtingut: 406,3 [M<sup>+</sup>, 100]; 391,2 [M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>, 7,44]; 376,2 [M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>, 11,02]; 361,2 [M<sup>+</sup>-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>, 4,39]; 252,1 [M<sup>+</sup>-C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>, 25,94]. (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub> = 3,4,5-trimetoxifenil).

**IR (ATR) ν cm<sup>-1</sup>:** 3002 (C=C-H); 2933, 2834 (C-H); 1581, 1508, 1453, 1427 (Ar-H); 1262 (Ar-O); 1238 (Ar-O); 1126 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm):** 3,69 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,93 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 6,41 (d, J = 12 Hz, 1H, C=C-H); 6,46 (d, J = 12 Hz, 1H, C=C-H); 6,49 (s, 1H, H-2, H-6); 6,78 (d, J = 9 Hz, 1H, H-5'); 6,86 (dd, J<sub>1</sub> = 1,7 Hz, J<sub>2</sub> = 9 Hz, 1H, H-6'); 7,28 (d, J = 1,7 Hz, 1H, H-2'); 7,28-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz) δ(ppm):** 56,3 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> (X2)); 56,3 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>); 61,2 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>); 71,2 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 106,3 (CH, C-2, C-6); 111,8 (CH, C-2'); 114,8 (CH, C-5'); 122,8 (CH, C-6'); 127,5 (CH, C-2'', C-6''); 128,1 (CH, C-4''); 128,8 (CH, C-3'', C-5''); 129,1 (CH, -CH=CH-); 129,9 (CH, -CH=CH-); 130,1 (C<sub>q</sub>, C-1'); 133,3 (C<sub>q</sub>, C-1); 137,2 (C<sub>q</sub>, C-1''); 137,4 (C<sub>q</sub>, C-4); 148,0 (C<sub>q</sub>, C-4'); 149,2 (C<sub>q</sub>, C-3'); 153,2 (C<sub>q</sub>, C-3, C-5).

## Preparació de 122

### Procediment experimental

A un matràs de 50 mL de capacitat flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addiciona l'àcid **101** (0,1 g, 0,442 mmol, 1 eq) i l'aldehid **123** (0,073 g, 0,442 mmol, 1 eq) dissolts en 10 mL d'anhidrid acètic i 0,065 mL de trietilamina (d = 0,726 g/mL, 0,0442 mmol, 1 eq). La mescla s'escalfa a reflux durant 4,3 hores sota agitació constant.

### Final de reacció

El cru de reacció es microdestil·la per eliminar l'anhidrid acètic i el residu obtingut es dissol en 15 mL d'una dissolució aquosa d'NaOH 2N i s'extreu tres cops amb dietilèter (3 X 15 mL). Tot seguit la fase aquosa s'acidifica i s'extreu amb diclorometà (3 X 15 mL). A continuació, la fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub>. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (65:35) i finalment s'obté un sòlid groc.

**Rendiment:** 20%

**Dades analítiques**

**R<sub>f</sub>:** 0,13 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

**Punt de fusió:** 211-214 °C

**IR (ATR)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>:** 3200 (COOH, OH); 2918 (Ar-H); 1671 (C=O); 1578 (C=C); 1274 (Ar-O); 1119 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,79 (s, 6H, OCH<sub>3</sub> (X2)); 3,91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,45 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,96 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-5''); 7,25 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-6''); 7,82 (s, 1H, C=C-H); 7,93 (s, 1H, H-2''); 9,8 (s, 1H, COOH).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 56,3 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub> (X2)); 61,2 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 106,5 (CH, C-2', C-6'); 120,0 (CH, C-5''); 127,2 (CH, C-2''); 127,5 (C<sub>q</sub>, C-1'); 130,4 (C<sub>q</sub>, C-1''); 133,0 (C<sub>q</sub>, C-2); 133,5 (C<sub>q</sub>, C-3''); 138,2 (CH, C-3); 138,3 (C<sub>q</sub>, C-4'); 139,0 (CH, C-6''); 154,0 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 155,3 (C<sub>q</sub>, C-4''); 170,0 (C<sub>q</sub>, CO).

### Preparació de 132

**Procediment general**

En un matràs de 50 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,085 g, 0,227 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'acetat d'etil. A continuació, s'hi addiciona el POCl<sub>3</sub> destil·lat sobre oli de llinasa purificat (0,042 mL, *d* = 1,645 g/mL, 0,454 mmol, 2 eq) i es refreda la mescla a -78 ± 5 °C durant 10 minuts i s'hi afegeix la trietilamina (0,032 mL, *d* = 0,726 g/mL, 0,227 mmol, 1 eq). Passats 20 minuts es deixa sota agitació constant a temperatura ambient durant 16 hores.

Passat aquest temps es filtra el precipitat format i s'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor. El residu obtingut es dissol en etanol a 0 ± 10 °C i passats 30 minuts es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 48 hores sota agitació constant.

**Final de reacció**

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajuda del buit.

**Purificació**

Es purifica el cru de reacció mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents però no s'observa el producte **132** ni tampoc **133**.

### Preparació de 134

**Procediment general**

A un matràs de 100 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi introdueix el producte de partida (0,133 g, 0,355 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de diclorometà. A continuació, s'hi afegeix la trietilamina (0,05 mL, *d* = 0,726 g/mL, 0,355 mmol, 1 eq), es refreda externament a 0 ± 5 °C i s'hi addiciona lentament el POCl<sub>3</sub> (0,033 mL, *d* = 1,645 g/mL, 0,355 mmol, 2 eq). La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 16 hores sota agitació constant.

Passat aquest temps, s'addicionen 15 mL d'aigua al cru de reacció, s'ajusta el pH a 7 i s'extreu tres vegades amb 15 mL de diclorometà. Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

El residu obtingut es dissol en 20 mL de metanol, es refreda externament a  $0 \pm 5$  °C i s'hi afegeix metòxid sòdic en excés i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 16 hores sota agitació constant.

#### Final de reacció

S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor amb l'ajut del buit i s'afegeix aigua destil·lada al residu, que s'extreu tres cops amb acetat d'etil (3 X 15 mL). A continuació, la fase aquosa s'acidifica a  $pH = 4-5$  i s'extreu tres cops amb diclorometà (3 X 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre  $Na_2SO_4$  anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

No s'observa el producte esperat sinó que es recupera producte de partida sense reaccionar.

### Preparació de 135

#### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat amb un refrigerant de reflux i agitació magnètica, s'hi introdueix l'èster de partida **136** (0,400 g, 0,86 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de metanol. A continuació, s'hi afegeix la solució aquosa d'hidrazina (4 mL,  $d = 1,011$  g/mL, 35% en aigua) i es deixa reaccionar amb agitació constant i a temperatura de reflux durant 72 hores.

#### Final de reacció

S'evapora el metanol i es dilueix el residu amb aigua (20 mL). A continuació, s'extreu tres cops amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre  $Na_2SO_4$  anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### Purificació

Es purifica el residu obtingut mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat hexà/acetat d'etil (40:60) i s'obté en forma de sòlid blanc.

**Rendiment:** 65%

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,5 (Acetat d'etil (100))

**Punt de fusió:** 78-81 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**IR (ATR)  $\nu$   $cm^{-1}$ :** 2923 (NH); 1660 (CO); 150 (C=C); 1215 (Ar-O-); 1125 (C-O-).

**RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 2,77-2,82 (q, 1H, CH); 2,94-3,02 (m, 1H, CH); 3,76 (s, 3H,  $OCH_3$ ); 3,86 (s, 3H,  $OCH_3$ ); 4,20-4,21 (m, 2H,  $O-CH_2-CH_2-O$ ); 4,25-4,27 (m, 2H,  $O-CH_2-CH_2-O$ ); 5,12 (s, 2H,  $CH_2$ ); 6,17 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H, H-2'); 6,28 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H, H-5'); 6,77 (d, 1H,  $J = 1,8$  Hz, H-6); 6,80 (d, 1H,  $J = 1,8$  Hz, H-8); 6,90 (dd,  $J_1 = 1,8$  Hz,  $J_2 = 8,0$  Hz, 1H, H-6'); 7,36 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H, OBn); 7,44 (d,  $J = 7,1$  Hz, 2H, OBn); 7,89 (ba, 1H, NH); 8,02 (ba, 1H, NH).

### Preparació de 136

#### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat i equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'àcid de partida (0,600 g, 1,25 mmol, 1 eq) dissolt en 5 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,207 g, 1,5 mmol, 1,2 eq) i 1 mL ( $d = 2,28$  g/mL, 16,063 mmol) de iodur de metil. La mescla resultant s'agita a temperatura ambient i al cap de 6 hores s'hi afegeix 1 mL més de iodur de metil. La mescla es deixa reaccionar sota agitació constant i a temperatura ambient un total de 12 hores.

### Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

Es purifica el residu obtingut mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté en forma de líquid taronja.

**Rendiment:** 90%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,4 (Hexà/Acetats d'etil (6:4))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,44 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,90 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,20-4,22 (m, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O); 4,28-4,30 (m, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O); 5,01 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,10 (d, J = 2 Hz, 1H, H-6); 6,42 (d, J = 2 Hz, 1H, H-8); 6,82 (s, 1H, H-2'); 6,82 (dd, J<sub>1</sub> = 1,2 Hz, J<sub>2</sub> = 8,2 Hz, 1H, H-6'); 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H, H-5'); 7,26 (t, J = 8,2 Hz, 1H, H-4''); 7,30 (t, J = 8,2 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 7,40 (d, J = 7 Hz, 2H, H-2'', H-6'').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 52,2 (CH<sub>3</sub>, COOCH<sub>3</sub>); 55,4 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 56,0 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 64,0 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 64,7 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 71,0 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-Bn); 105,9 (CH, C-6); 112,0 (CH, C-8); 113,7 (CH, C-2'); 115,7 (CH, C-5'); 122,8 (C<sub>q</sub>, C-7); 127,3 (CH, C-3''', C-5'''); 127,7 (CH, C-4''); 128,4 (CH, C-2'', C-6''); 128,4 (C<sub>q</sub>, C-1'); 130,2 (C<sub>q</sub>, C=); 134,2 (C<sub>q</sub>, C-1''); 136,8 (C<sub>q</sub>, C-4a); 140,2 (CH, C=); 143,4 (C<sub>q</sub>, C-4'); 148,1 (C<sub>q</sub>, C-3'); 148,3 (C<sub>q</sub>, C-5); 149,3 (C<sub>q</sub>, C-8a); 168,4 (C<sub>q</sub>, C=O).

## Preparació de 137

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid de partida (0,415 g, 2,14 mmol, 1 eq), dissolt en 2 mL d'anhídrid acètic. A continuació, s'hi addiciona l'àcid **138** (0,582 g, 2,14 mmol, 1 eq) i la trietilamina (4 mL, d = 0,726 g/mL, 28,7 mmol, 13,4 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar amb agitació constant a 140 ± 10 °C durant 6 hores.

### Final de reacció

S'acidifica el cru de reacció fins a pH = 3 i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Tot seguit la fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El residu obtingut es microdestil·la a 150 ± 10 °C.

### Purificació

Es purifica el residu obtingut mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat hexà/acetat d'etil (20:80) i s'obté en forma de sòlid marró.

**Rendiment:** 52%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,3 (Hexà/Acetats d'etil (45:65))

**Punt de fusió:** 161-164 °C (Hexà/Acetats d'etil)

**IR (ATR) ν cm<sup>-1</sup>:** 2934 (OH); 1680 (CO); 1504 (C=C); 1244 (Ar-O-); 1139 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 3,43 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,12-4,21 (m, 4H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O); 5,07 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-O-Bn); 6,10 (s, 1H, H-6); 6,43 (s, 1H, H-8); 6,82 (d, J = 2 Hz, 1H, H-2'); 6,83 (dd,

$J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 9$  Hz, 1H, H-6'); 6,93 (d, 1H,  $J = 9$  Hz, H-5'); 7,26-7,25 (m, 1H, H-4'); 7,30 (t,  $J = 8$  Hz, 2H, H-3", H-5"); 7,37 (d,  $J = 8$  Hz, 2H, H-2", H-6"); 7,73 (s, 1H, CH=).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 50,4 MHz)  $\delta$ (ppm):** 55,4 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 56,0 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 63,9 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 64,6 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 70,9 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-Bn); 106,0 (CH, C-6); 112,0 (CH, C-8); 113,9 (CH, C-2'); 115,6 (CH, C-5'); 122,8 (CH, C-6'); 126,5 (C<sub>q</sub>, C-7); 127,4 (CH, C-3''', C-5'''); 127,7 (CH, C-4''); 128,1 (C<sub>q</sub>, C-1'); 128,3 (CH, C-2'', C-6''); 129,7 (C<sub>q</sub>, C=); 134,4 (C<sub>q</sub>, C-1''); 136,7 (C<sub>q</sub>, C-4a); 141,6 (CH, C=); 143,3 (C<sub>q</sub>, C-4'); 148,0 (C<sub>q</sub>, C-3'); 148,3 (C<sub>q</sub>, C-5); 149,3 (C<sub>q</sub>, C-8a); 172,7 (C<sub>q</sub>, C=O).

## Preparació de 138

### Procediment general

A un matràs de 250 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, equipat amb un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'àcid de partida (1,150 g, 6,31 mmol, 1 eq), dissolt en 15 mL de DMF. A continuació, s'hi afegeixen el carbonat de potassi anhidre (2,61 g, 18,9 mmol, 3 eq) i el bromur de benzil (2,25 mL,  $d = 1,438$  g/mL, 18,9 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar a  $80 \pm 10$  °C durant 12 hores sota agitació constant.

### Final de reacció

El cru de reacció és dilueix amb 15 mL de dietilèter i es renta amb aigua destil·lada (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El residu obtingut és microdestil·la i posteriorment s'hi afegeixen 10 mL d'una dissolució aquosa d'NaOH 2N i s'escalfa a reflux durant dues hores. Passat aquest temps s'acidifica el cru fins a  $\text{pH} = 2$  i tot seguit s'extreu amb acetat d'etil (3 x 20 mL). A continuació, la fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

Es purifica el cru de reacció mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat acetat d'etil (100%) i s'obté en forma de sòlid blanc.

**Rendiment:** 93%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,1 (Hexà/Acetats d'etil (7:3))

**RMN  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 3,53 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-CO-); 3,86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-O-); 5,12 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 6,84-6,86 (m, 5H, Ar); 7,25-7,33 (m, 1H, H-2); 7,35 (dd,  $J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 8$  Hz, 1H, H-6); 7,44 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, H-5).

## Preparació de 139

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat i equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid de partida (0,639 g, 3,46 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (1,082 g, 7,83 mmol, 2,2 eq) i 1 mL ( $d = 2,28$  g/mL, 16,063 mmol) de iodur de metil. La mescla resultant s'agita a temperatura ambient i al cap de 6 hores s'hi afegeix 1 mL més de iodur de metil. La mescla es deixa reaccionar sota agitació i a temperatura ambient 6 hores més.

### Final de reacció



S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). Tot seguit la fase orgànica s'asseca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat fins a l'obtenció d'un sòlid blanc.

#### **Purificació**

Es purifica el cru de reacció mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté en forma de sòlid blanc.

**Rendiment:** 90%

#### **Dades analítiques**

**R<sub>f</sub>:** 0,5 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

**Punt de fusió:** 80-82 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**IR (KBr)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>:** 1676 (CO); 1587 (C=C); 1316 (Ar-O); 1120 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 4,05 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,41-4,51 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-O-); 7,14 (s, 1H, H-7); 7,16 (s, 1H, H-5); 9,88 (s, 1H, CHO).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50,4 MHz)  $\delta$ (ppm):** 56,1 (CH<sub>3</sub>, Ar-OCH<sub>3</sub>); 63,8 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 64,7 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 102,9 (CH, C-2); 114,3 (CH, C-5); 129,0 (C<sub>q</sub>, C-6); 138,7 (C<sub>q</sub>, C-8a); 143,8 (C<sub>q</sub>, C-4a); 149,4 (C<sub>q</sub>, C-8); 190,5 (CH, CHO).

### **Preparació de 141**

#### **Procediment general**

A un matràs de 100 mL de capacitat i equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid de partida (1 g, 5,8 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (2,6 g, 19,14 mmol, 3,3 eq) i 0,6 mL (d = 2,18 g/mL, 7 mmol, 1,2 eq) de dibromoetà. La mescla es deixa reaccionar a 100 °C sota agitació magnètica un total de 12 hores.

#### **Final de reacció**

S'acidifica el cru de reacció fins a pH = 3 i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

#### **Purificació**

Es purifica el cru de reacció mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, emprant mesclures d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte final elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (60:40) i s'obté en forma d'oli dens marronós.

**Rendiment:** 71%

#### **Dades analítiques**

**R<sub>f</sub>:** 0,5 (Hexà/Acetat d'etil (1:1))

**IR (KBr)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>:** 3362 (OH); 1678 (CO); 1589 (c=c); 1280 (Ar-O); 1100 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ (ppm):** 4,32-4,41 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-O-); 5,72 (ba, 1H, OH); 7,02 (s, 1H, H-7); 7,08 (s, 1H, H-5); 9,77 (s, 1H, CHO).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50,4 MHz)  $\delta$ (ppm):** 63,9 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 64,8 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O-); 108,7 (CH, C-7); 111,4 (CH, C-5); 129,3 (C<sub>q</sub>, C-6); 137,2 (C<sub>q</sub>, C-8a); 143,9 (C<sub>q</sub>, C-4a); 145,9 (C<sub>q</sub>, C-8); 191,2 (CH, CHO).

## Preparació de 143

### Procediment general:

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi addiciona l'àcid **145** (0,068 g, 0,287 mmol, 1,0 eq) dissolt en 15 mL d'anhídrid acètic i a continuació s'hi afegeix l'àcid **101** (0,065 g, 0,287 mmol, 1,0 eq). La mescla és manté a temperatura de reflux i sota agitació constant durant 6 hores.

### Final de reacció:

S'afegeix gel i aigua al cru de reacció i posteriorment s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). La fase orgànica es renta amb una solució aquosa d'NaOH 2N (3 X 20 mL) i s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació:

El producte final es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluent. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (64:36) i s'obté una goma groga.

**Rendiment:** 100%. En diverses repeticions de la reacció s'observa que el rendiment disminueix quan el temps de reacció supera les 6 hores. En concret, quan es fa reaccionar durant 24 hores a la mateixa temperatura, s'obté el producte final amb un 12% de rendiment.

### Dades analítiques:

**R<sub>f</sub>:** 0,40 (Hexà/Acetats d'etil (5:5))

**IR (KBr)  $\nu$  cm<sup>-1</sup>:** 3371 (NH); 2928 (CH); 1754 (C=O); 1754 (CO); 1684 (CO); 1583 (C=C); 1255 (Ar-O); 1122 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 2,24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO); 3,77 (s, 6H, CH<sub>3</sub>O); 3,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O); 3,90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O); 6,51 (s, 1H, NH); 6,79 (s, 2H, H-2'', H-6''); 7,04 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-5'); 7,35 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, H-2'); 7,75 (dd,  $J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 8,7$  Hz, 1H, H-6').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 26,0 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CO); 56,1 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O); 56,2 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O (X2)); 61,0 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O); 106,7 (CH, C-2', C-6'); 112,5 (CH, C-5''); 120,6 (C<sub>q</sub>, C-3''); 122,4 (C<sub>q</sub>, C-1''); 125,7 (C<sub>q</sub>, C-1'); 128,6 (CH, C-6'' rotàmer A); 129,4 (CH, C-6'' rotàmer B); 132,0 (CH, C-2'' rotàmer B); 133,0 (CH, C-2'' rotàmer A); 136,0 (C<sub>q</sub>, C-2)\*; 137,2 (C<sub>q</sub>, C-3)\*; 141,2 (C<sub>q</sub>, C-4'); 154,1 (C<sub>q</sub>, C-3', C-5'); 157,7 (C<sub>q</sub>, C-4''); 165,3 (C<sub>q</sub>, CO); 165,5 (C<sub>q</sub>, CO); 173,0 (C<sub>q</sub>, CO amida).

\*Intercanviables. En l'espectre d'RMN-<sup>13</sup>C s'observen dos rotàmers del producte final A i B en pràcticament igual proporció.

## Preparació de 144

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat s'hi afegeix l'amida **145** (0,186 g, 0,7 mmol, 1,0 eq) dissolta en 3 mL de metanol i 14 mL d'hidròxid potàssic aquós 2N. La mescla és manté a temperatura ambient durant 2 hores sota agitació constant.

### Final de reacció

S'evapora el metanol al rotavapor i s'hi afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada que posteriorment es renten amb dietilèter (3 X 20 mL). La fase aquosa s'acidifica amb HCl 5N i s'extreu amb acetat d'etil (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

A l'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H s'observa que també s'obté el producte derivat de la hidròlisi tant de l'èster etílic com de l'acetamida (**148**) en proporció 2:1 (producte amb l'amida sense hidrolitzar (**144**) / producte doblement hidrolitzat (**148**)).

**Rendiment:** 58% (**144**) i 29% (**148**)

#### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,55 (Hexà/Acetat d'etil (5:5))

**RMN <sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 400 MHz) δ(ppm):** 2,18 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>); 3,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O (**148**)); 3,87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O (**144**)); 6,85 (d, *J* = 9 Hz, 1H, H-3 (**148**)); 7,21 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, H-3 (**144**)); 7,36-7,39 (m, 2H, H-4 (**148**), H-6 (**148**)); 7,80 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-4 (**144**)); 8,77 (ba, 1H, H-6 (**144**)); 9,09 (ba, 2H, NH<sub>2</sub> (**144**)).

La proporció dels dos productes és 2:1 (**144/148**)

### Preparació de 145

#### Procediment general

##### Condicions a)

En un matràs de 100 mL de capacitat flamejat sota atmosfera d'argó s'hi afegeix l' **146** (1,01 g, 6,11 mmol, 1 eq) dissolta en 25 mL de diclorometà i es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi afegeix el **146** d'etil (1,37 mL, 12,23 mmol, 3 eq) i tetraclorur de titani (1,34 mL, 12,23 mmol, 3 eq) i es manté a 0 °C durant 30 minuts sota agitació constant. Passat aquest temps es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 1 hora amb agitació constant.

A continuació, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i no s'observa la formació de producte final. Per tant es refreda de nou la reacció a 0 °C i s'hi afegeixen més reactius: etil 2-cloro-2-oxoacetat (0,685 mL, 6,11 mmol) i tetraclorur de titani (0,67 mL, 6,11 mmol) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 24 hores amb agitació constant.

##### Condicions b)

En un matràs de 100 mL de capacitat flamejat sota atmosfera d'argó s'hi afegeix **146** (0,391 g, 2,37 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de diclorometà i es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi afegeix 2-cloro-2-oxoacetat d'etil (0,256 mL, 2,37 mmol, 1 eq) i triclorur d'alumini (0,316 g, 2,37 mmol, 1 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 24 hores sota agitació constant.

#### Final de reacció

En ambdós casos s'afegeix gel i aigua destil·lada al cru de reacció i tot seguit s'extreu amb diclorometà (3 X 30 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb 30 mL d'una solució aquosa d'NaOH 2N (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Quan s'utilitzen les condicions a) no s'observa el producte final esperat en l'espectre d'RMN-<sup>1</sup>H sinó que el producte obtingut correspon majoritàriament al producte de partida.

Quan les condicions que s'utilitzen són les b) sí que s'observa el producte esperat i aquest es purifica tal i com s'indica a continuació:

### Purificació

El producte final es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte esperat, un sòlid marró clar, elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (3:7).

**Rendiment:** 41% seguint les condicions a)

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,40 (Hexà/Acetat d'etil (3:7))

**Punt de fusió:** 119-121 °C (Hexà/Acetat d'etil)

**IR (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>):** 3419 (NH); 2927 (Ar-H); 1774 (CO èster); 1739 (CO cetona); 1701 (CO, amida); 1535 (C=C); 1429 (Ar-N); 1280 (Ar-O); 1186 (C-O).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 1,39 (t,  $J$  = 7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O); 2,18 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO); 3,91 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O); 4,40 (q,  $J$  = 7 Hz, 2H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O); 6,89 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 1H, H-3); 7,69 (dd,  $J_1$  = 2 Hz,  $J_2$  = 8,69 Hz, 1H, H-4); 7,80 (ba, 1H, NH); 8,94 (d,  $J$  = 2 Hz, 1H, H-6).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz)  $\delta$ (ppm):** 13,8 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O); 24,5 (CH<sub>3</sub>CO); 56,1 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O), 62,2 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O); 110,1 (CH, C-3); 121,7 (CH, C-6); 125,9 (C<sub>q</sub>, C-1); 127,1 (CH, C-4); 128,4 (C<sub>q</sub>, C-5); 153,4 (C<sub>q</sub>, C-2); 164,9 (C<sub>q</sub>, CONH); 169,2 (C<sub>q</sub>, COOEt); 186,2 (C<sub>q</sub>, C=O).

## Preparació de 146

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat flamejat sota atmosfera d'argó s'hi afegeix l'anisidina (0,500 g, 0,458 mL, 4,06 mmol,  $d$  = 1,07 g/mL, 1 eq) dissolta en 20 mL de diclorometà i es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi afegeix trietilamina (0,678 mL, 4,86 mmol,  $d$  = 0,726 g/mL, 1,2 eq) i clorur d'acetil (0,344 mL, 4,86 mmol,  $d$  = 1,104 g/mL, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient i sota agitació constant durant dues hores.

### Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i tot seguit s'extreu amb diclorometà (3 X 30 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb 30 mL d'aigua destil·lada (3 X 20 mL). La fase orgànica resultant s'assecar sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El producte final s'obté amb puresa suficient per seguir amb la seqüència sintètica i per tant no requereix purificació posterior.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,14 (Hexà/Acetat d'etil (8:2))

**Aspecte:** sòlid marró

**Punt de fusió:** 84-85 °C (Diclorometà)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ (ppm):** 2,20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO); 3,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O); 6,86 (dd,  $J_1$  = 1 Hz,  $J_2$  = 8 Hz, 1H, H-3); 6,95 (dt,  $J_1$  = 1 Hz,  $J_2$  = 8 Hz, 1H, H-5); 7,03 (dt,  $J_1$  = 1 Hz,  $J_2$  = 8 Hz, 1H, H-4); 8,35 (dd,  $J_1$  = 1 Hz,  $J_2$  = 8 Hz, 1H, H-6).

## Preparació de 149

### Procediment general:

L'àcid **150** (0,232 g, 1,32 mmol, 1,0 eq) i **151** (0,250 g, 1,32 mmol, 1,0 eq) es dissolen conjuntament en 7 mL d'anhidrid acètic en un matràs de 100 mL de capacitat prèviament flamejat sota atmosfera d'argó. La mescla es deixa reaccionar a temperatura de reflux durant 6 hores sota agitació magnètica constant.

### Final de reacció:

S'afegeixen 15 mL d'aigua destil·lada al cru de reacció i es basifica amb NaHCO<sub>3</sub>. A continuació el cru de reacció s'extreu amb dietilèter (3 X 20 mL). La fase orgànica s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació:

El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R<sub>f</sub> emprant mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluent. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (79:21) i s'obté en forma de goma dura marronosa.

**Rendiment:** 31%

### Dades analítiques:

**R<sub>f</sub>:** 0,26 (Hexà/Acetat d'etil (5:5))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ(ppm):** 7,41 (dt,  $J_1 = 1,5$  Hz,  $J_2 = 6$  Hz, 4H, H-5', H-6'); 8,18 (dd,  $J = J_1, = 1,5$  Hz,  $J_2 = 6$  Hz, 2H, H-7'); 8,21 (s, 2H, H-2'); 8,45 (dd,  $J_1 = 1,5$  Hz,  $J_2 = 6$  Hz, 2H, H-4').

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100,6 MHz) δ(ppm):** 116,9 (CH, C-7'); 122,0 (CH, C-5'); 122,8 (C<sub>q</sub>, C-3'); 125,4 (CH, C-6'); 126,6 (CH, C-4'); 127,7 (C<sub>q</sub>, C-3a); 128,7 (C<sub>q</sub>, C-2)\*; 129,5 (C<sub>q</sub>, C-3)\*; 132,9 (C<sub>q</sub>, C-7a); 136,5 (CH, C-2'); 169,4 (C<sub>q</sub>, CO).

\*Intercanviables

## Preparació de II

### Procediment general

A un matràs de 50 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addicionen 0,9 g (4,755 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt en 20 mL d'etanol, 0,39 g (5,612 mmol, 1,2 eq) de clorhidrat d'hidroxilamina i 0,79 g (9,51 mmol, 2 eq) d'acetat sòdic i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 3 dies.

### Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat al rotavapor i al residu s'hi afegeix aigua i s'equilibra el pH entorn a 7. A continuació, s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

S'obté el producte esperat en forma de sòlid groc, amb suficient grau de puresa per passar a la reacció següent.

**Rendiment:** 100%

### Dades analítiques

**R<sub>f</sub>:** 0,175 (Hexà/Acetat d'etil (7:3))

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ (ppm):** 2,35 (t,  $J = 5,8$  Hz, 2H, H<sub>2</sub>C-3<sub>ax.</sub>, H<sub>2</sub>C-5<sub>ax.</sub>); 2,51-2,58 (m, 4H, H<sub>2</sub>C-3<sub>eq.</sub>, H<sub>2</sub>C-5<sub>eq.</sub>, H<sub>2</sub>C-2<sub>ax.</sub>, H<sub>2</sub>C-6<sub>ax.</sub>); 2,65 (t, 2H,  $J = 6,1$  Hz, H<sub>2</sub>C-2<sub>eq.</sub>, H<sub>2</sub>C-6<sub>eq.</sub>); 3,55 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-N) 7,31-7,33 (m, 5H, Ar-H),

## Preparació de III

### Procediment general

A un matràs de 100 mL de capacitat equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó s'hi addicionen 0,647 g (0,9 mmol, 1 eq) del producte de partida dissolt en 4 mL d'àcid trifluoroacètic i 0,899 g (1,8 mmol, 2 eq) de  $P_2O_5$  i es deixa reaccionar a  $80 \pm 10$  °C sota agitació magnètica constnt durant 4 hores.

### Final de reacció

S'afegeixen 20 mL d'una solució aquosa d'HCl 2N al cru de reacció i es fa un rentat amb èter etílic (3 X 15 mL). A continuació, s'ajusta el pH de la fase aquosa a 12 amb NaOH (5N) i s'extreu amb diclorometà (3 X 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre  $Na_2SO_4$  anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

### Purificació

El residu resultant es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment. El producte final esperat elueix amb 100% de metanol.

**Rendiment:** 10%

## 5. CONCLUSIONS FINALS

De la recerca recollida en aquesta memòria es desprenen una sèrie de conclusions rellevants, no només respecte a la posta a punt de metodologies sintètiques que han permès la preparació de nous compostos, sinó també pel que fa a les noves estructures i als estudis de les activitats biològiques.

1. El diarilèter **50** constitueix un intermediari clau per a la síntesi dels compostos **1-9**. Les millors condicions per a la preparació del diarilèter **50**, consisteixen en la substitució nucleòfila aromàtica del [redacted] pel [redacted], en presència de  $K_2CO_3$  i en el si de DMF. Condicions d'acoblament catalitzades per Pd(II) o per Cu(I) no varen permetre l'obtenció del producte desitjat.
2. El tractament del diarilèter **50** amb un excés de [redacted] emprant el  $Pd[P(o\text{-tolil})_3]_2Cl_2$  com a catalitzador, carbonat de cesi com a base i BINAP com a lligand en el si de toluè a  $180\text{ }^\circ C$  condueix majoritàriament a [redacted] (**73**) procedent de la substitució nucleòfila aromàtica del [redacted] (**50**) del que s'ha eliminat 4-bromofenòxid com a grup sortint. El diarilèter **59** esperat, procedent de l'acoblament de la [redacted] sobre el bromobenzè, s'ha obtingut en menor proporció.
3. L'addició d'amines o anilines (**3**, **59**, **68**, i **73**) al corresponent isocianat, en el si de tetrahidrofuran, condueix a les [redacted] (**5**, **2**, **10** i **11** respectivament) en rendiments acceptables. Es tracta d'una reacció neta i compatible amb el medi ambient. Així mateix el carbamat **8** es va obtenir per addició del [redacted] **7** al [redacted].
4. El tractament de la [redacted] **13a** amb HCl-etanol a  $120\text{ }^\circ C$  condueix quantitativament al [redacted] (**17**). Aquesta transformació implica hidròlisi de la [redacted] seguit de ciclació intramolecular i descarboxilació. Les mateixes condicions permeten l'obtenció de **19** a partir de **13b**.
5. Les [redacted] **21** i **22** s'han preparat per condensació de la [redacted] amb un excés de l'anilina corresponent en condicions de la reacció de *Bischler* modificada, en rendiments del 5 i 21% respectivament. El baix rendiment es atribuïble a la polaritat similar entre el producte esperat i l'anilina de partida que en dificulta la purificació. S'ha intentat realitzar la reacció emprant menor quantitat d'anilina però cap dels intents va aportar una millora al procés indicat.
6. S'ha aconseguit la preparació dels èters **27**, **28**, **29**, **30** i **31** a partir dels *resveratrol* en rendiments variables. El *tris*(hidroxietil)*resveratrol* **29** ha millorat la solubilitat en aigua comparat amb el *resveratrol*, mentre que el derivat **31** que presenta el nucli trimetoxilat resulta ser menys soluble en medi aquós però ha augmentat la solubilitat en dissolvents orgànics.
7. La condensació de l'àcid [redacted] amb el [redacted] en condicions de tipus Perkin constitueix el millor procediment per a la preparació de l'estilbé **103**. La reacció implica l'activació de l'àcid en el medi de reacció per formació d'un anhidrid mixte corresponent, i posterior addició d'aquest a l'aldehid, deshidratació i hidròlisi de l'anhidrid a l'àcid corresponent. El mateix procediment es pot aplicar a la condensació amb l'aldehid sense protegir, encara que el rendiment resulta lleugerament inferior.

8. Les [redacted] (**40a, 40b i 41**) s'obtenen per addició d'un excés [redacted] als [redacted] estilbènics corresponents (**106, 34 i 39**). La presència d'hidroxils fenòlics sense protegir per part de l'èster de partida milloren el rendiment a l'augmentar la solubilitat en el medi de reacció ([redacted]).
9. Els [redacted] **19 i 20** han mostrat una clara inhibició del pèptid CGRP (calcitonin gene-related peptide) amb capacitat pel tractament de la migranya, amb una  $IC_{50}$  de 2,41 i 2,77 respectivament. Els mateixos compostos presenten capacitat per inhibir la proteïna Tau amb un 58 i un 55% d'inhibició respectivament a 40  $\mu$ M.
10. El més destacable dels estudis *in vitro* realitzats pels Laboratoris Eli Lilly és l'activitat inhibidora de PCSK9 expressada per les [redacted] **40b, 41 i 43a** en línies d'hepatòcits humans primaris, amb valors d' $IC_{50}$  al voltant d'1  $\mu$ M. Aquesta capacitat inhibidora de PCSK9 fa que siguin d'interès pel tractament de la hipercolestèremia.
11. La [redacted] **40b** mostra una interessant inhibició de cèl·lules tumorals i especialment de la línia HCT116 (100% a la concentració de 20  $\mu$ M). A més inhibeix l'angiogènesi en un 100% a la concentració de 2  $\mu$ M amb  $IC_{50} = 0,5 \mu$ M. L'afinitat que **40b** mostra per KRAS, així com el fet d'inhibir principalment la fase G2M del cicle cel·lular suggereixen un mecanisme d'acció diferent de la *combretastatina* que actua principalment en la fase de la mitosis.
12. La [redacted] **I-3** presenta un excel·lent perfil de citotoxicitat amb valors d' $IC_{50}$  entre micro i nanomolar (L1210, K562, NCI-H460 i HT29). El més destacable és que a diferència d'altres compostos manté l'activitat en condicions d'hipòxia, assajos realitzats en esferoides de cèl·lules tumorals HT29.



## 5. FINAL CONCLUSIONS

From the research in this memory a series of relevant conclusions are highlighted, not just regarding the development of synthetic methodologies that allowed us to prepare new compounds, but also the new structures and the studies of biological activities.

1. The diarylether **50** constitutes an essential intermediate for the synthesis of compounds **1-9**. The best synthetic conditions for the preparation of the diarylether **50**, consist in the nucleophilic aromatic substitution of [REDACTED] for [REDACTED], in the presence of  $K_2CO_3$  in DMF. Cross-coupling conditions catalyzed with Pd(II) or Cu(I) did not lead to the desired product.
2. The treatment of the diarylether **50** with an excess of [REDACTED] using  $Pd[P(o\text{-tolil})_3]_2Cl_2$  as catalyst, cesium carbonate as the base and BINAP as the ligand in toluene at 180 °C led mainly to [REDACTED] (**73**), that is obtained from aromatic nucleophilic substitution of [REDACTED] (**50**) from which the 4-bromophenoxide has been eliminated as a leaving group. The [REDACTED] **59**, prepared through the coupling of [REDACTED] with bromobenzene, was obtained in smaller proportion.
3. Addition of amines or anilines (**3**, **59**, **68** and **73**) to the corresponding isocyanate, in tetrahydrofuran, leads to the *N,N'*-diarylurees (**5**, **2**, **10** and **11** respectively) in acceptable yields. This is a clean and friendly environment reaction. At the same time, the carbamate **8** was obtained from the addition of the [REDACTED] **7** to [REDACTED].
4. Treatment of the [REDACTED] **13a** with HCl-ethanol at 120 °C led to [REDACTED] [REDACTED] (**17**) in quantitative yields. This transformation implies an hydrolysis of the [REDACTED] followed by an intramolecular cyclisation and decarboxylation. The same conditions led to compound **19** from **13b**.
5. The [REDACTED] **21** and **22** have been prepared through condensation of the [REDACTED] with an excess of the corresponding aniline under modified Bischler reaction conditions, with yields of 5 and 21% respectively. The low yields are due to the similar polarity between the desired product and the aniline used as starting material since this hinders their purification. The reaction was assayed using a reduced quantity of aniline but any of the attempts resulted in an improvement in the indicated process.
6. The ethers **27**, **28**, **29**, **30** and **31** have been successfully obtained from *resveratrol* in variable yields. The *tris*(hydroxyethyl)*resveratrol* **29** shows improved water solubility when compared to *resveratrol*, while the analogue **31**, which contains a trimethoxylate scaffold, is less soluble in aqueous medium but increases its solubility in organic solvents.
7. Condensation of the [REDACTED] acid with [REDACTED] under Perkin-type conditions constitutes the best procedure for the preparation of the stilbene **103**. This reaction implies the acid activation in the reaction medium through formation of the corresponding mixed anhydride,

and subsequent addition of this specie to the aldehyde, dehydration and hydrolysis of the anhydride to the corresponding acid. The same procedure can be applied for the condensation of the aldehyde without protection, although in this case the yield is slightly lower.

8. The [REDACTED] (**40a**, **40b** and **41**) are obtained through the addition of an excess of [REDACTED] to the corresponding [REDACTED] (**106**, **34** and **39**). The presence of phenolic hydroxyls in the starting ester without protection improves the yield since it increases the solubility in the reaction medium ([REDACTED]).
9. The [REDACTED] **19** and **20** have showed an important inhibition of the CGRP peptide (calcitonin gene-related peptide) with capacity to act as an agent in the migraine treatment, with an  $IC_{50}$  of 2.41 i 2.77 respectively. The same compounds present inhibitory activity against Tau protein with an inhibition of 58 and 55% respectively at 40  $\mu$ M.
10. The most remarkable result from the *in vitro* studies carried out in the Eli Lilly Laboratories is the PCSK9 inhibitory activity presented by the [REDACTED] **40b**, **41** and **43a** in primary human hepatocytes, with  $IC_{50}$  values around 1  $\mu$ M. This capacity to inhibit PCSK9 makes these compounds highly interesting for the treatment of hypercholesterolemia.
11. [REDACTED] **40b** shows an interesting inhibitory activity against cancer cells, specially HCT116 (100% inhibition at a concentration of 20  $\mu$ M). Furthermore, it inhibits angiogenesis with a 100% at a concentration of 2  $\mu$ M with an  $IC_{50}$  of 0.5  $\mu$ M. The affinity of **40b** for KRAS, as well as its inhibition mainly of G2M phase in the cellular cycle, suggest a different mechanism of action different from the one of *combretastatin*, which principally acts during the mitosis phase, period of the cell cycle.
12. The [REDACTED] **I-3** presents an excellent cytotoxicity profile with  $IC_{50}$  values between micro and nanomolar (L1210, K562, NCI-H460 i HT29). Its most highlighting feature is that unlike other compounds it maintains its activity under hypoxic conditions, assays that were carried out in spheroids formed of HT29 cancer cells.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- <sup>1</sup> F. Colotta; P. Allavena; A. Sica; C. Garlanda; A. Mantovani. *Carcinogenesis* **2009**, *30*, 1073-1081.
- <sup>2</sup> <https://www.cancer.gov/about-cancer> (Date: 07/03/2017)
- <sup>3</sup> <http://www.cancerresearchuk.org> (Date: 07/03/2017)
- <sup>4</sup> R. Airley. *Cancer Chemotherapy: Basic Science to the Clinic*; Wiley-Blackwell **2009**, ISBN: 978-0-470-09254-5.
- <sup>5</sup> C. G. Broustas; H. B. Lieberman; *Radiat. Res.* **2014**, *181*, 111-130.
- <sup>6</sup> B. Opalka; A. Dickopp; H. C. Kirch; *Cells Tissues Organs* **2002**, *172*, 126-132.
- <sup>7</sup> J. Galceran; A. Ameijide; M. Carulla; A. Mateos; J. R. Quirós; D. Rojas; A. Alemán; A. Torrella; M. Chico; M. Vicente; J. M. Díaz; N. Larrañaga; R. Marcos-Gragera; M. J. Sánchez; J. Perucha; P. Franch; C. Navarro; E. Ardanaz; J. Bigorra; P. Rodrigo; R. P. Bonet, REDECAN Working Group. *Clin. Transl. Oncol.* **2017**.
- <sup>8</sup> <http://www.who.int> (Date: 08/03/2017)
- <sup>9</sup> <http://www.seom.org> (Date: 07/03/2017)
- <sup>10</sup> <http://www.iscii.es> (Date: 08/03/2017)
- <sup>11</sup> Y. T. Shih; F. Smielliauskas; D. M. Geynisman, R. J. Kelly; T. J. Smith. *Journal of Clinical Oncology* **2009**, *33*, 2190-96.
- <sup>12</sup> D. Ribatti. *Angiogenesis* **2008**, *11*, 3-10.
- <sup>13</sup> J. Folkman. *N. Engl. J. Med.* **1971**, *285*, 1182-1186.
- <sup>14</sup> <http://www.phiab.se/> (Date: 26/05/2017)
- <sup>15</sup> B. Al-Husein; M. Abdalla; M. Trepte; D. L. Deremer; P. R. Somanath. *Pharmacotherapy* **2012**, *32*, 1095-1111.
- <sup>16</sup> Servicio de Farmacia del Hospital Clínic, *Guía farmacoterapéutica*, Versión 03, Edición 10/09/2015. Hospital Clínic de Barcelona.
- <sup>17</sup> <http://gco.iarc.fr/obesity/tools-pie> (Date: 08/03/2017)
- <sup>18</sup> A. Bahrami; S. M. Hassanian; S. ShahidSales; Z. Farjami; M. Hasanzadeh; K. Anvari; A. Aledavood; M. Maftouh; G. A. Ferns; M. Khazaei; A. Avan. *J. Cel. Physiol.* **2017**.
- <sup>19</sup> J. Cienas; L. Tamosaitis; K. Kvederaviciute; R. Tarvydas; G. Staniute; K. Kalyan; E. Meskinyte-Kausiliene; V. Stankevicius; M. Valius. *Med. Oncol.* **2017**, *34*, 34-26.
- <sup>20</sup> A. Matikas; D. Mistriotis; V. Georgoulis; A. Kotsakis. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2017**, *110*, 1-12.
- <sup>21</sup> Y. Wang; C. E. Kaiser; B. Frett; H. Li. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 5219-5230.
- <sup>22</sup> H. C. Chuang; P. H. Huang; S. K. Kulp; C. S. Chen. *Pharmacol. Res.* **2017**, *117*, 370-376.
- <sup>23</sup> S. M. Lim; K. D. Westover; S. B. Ficarro; R. A. Harrison; H. G. Choi; M. E. Pacold; M. Carrasco; J. Hunter; N. D. Kim; T. Xie; T. Sim; P. A. Jänne; M. Meyerson; J. A. Marto; J. R. Engen; N. S. Gray. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1-7.
- <sup>24</sup> J. C. Hunter; D. Gurbani; S. B. Ficarro; M. A. Carrasco; S. M. Lim; H. G. Choi; T. Xie; J. A. Marto; Z. Chen; N. S. Gray; K. D. Westover. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2014**, *111*, 8895-8900.
- <sup>25</sup> Z. A. Sobani; A. Sawant; M. Jafri; A. K. Correa; I. H. Sahin. *World. J. Clin. Oncol.* **2016**, *7*, 340-351.
- <sup>26</sup> V. Alinejad; S. Dolati; M. Motalebnezhad; M. Yousefi. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *88*, 795-803.
- <sup>27</sup> A. Wasilewska; M. Winiarska; M. Olszewska; L. Rudnicka. *Ad. Dermatol. Allergol.* **2016**, *4*, 247-252.
- <sup>28</sup> A. Chiricozzi. *Actas Dermosifiliogr.* **2014**, *105*, 9-20.
- <sup>29</sup> Y. Chien; X. Zeng; I. Prinz. *Trends Immunol.* **2013**, *34*, 151-154.
- <sup>30</sup> R. S. Dar; S.V. Chiplun. Patil; S. A. Bhat; A. A. kar. *Front. Immunol.* **2015**, *6*, 1-13.
- <sup>31</sup> J. C. Daniel. M. T. Cristina. *Nat. Rev. Immunol.* **2010**, *10*, 479-489.
- <sup>32</sup> A. S. Harten-Gerritsen; M. G. J. Balvers; R. F. Witkamp; E. Kampman; F. J. B. Duijnhoven. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2015**, *24*, 1820-1829.
- <sup>33</sup> M. Rei; D. J. Pennington; B. Silva-Santos. *Cancer Res.* **2015**, *75*, 798-803.
- <sup>34</sup> M. Campa; A. Menter. *Exp. Opin. Investig. Drugs* **2016**, *25*, 1337-1344.
- <sup>35</sup> A. S Wierzbicki; P. Grant. *Clin. Med.* **2016**, *16*, 353-357.
- <sup>36</sup> A. C. Burke; J. S. Dron; R. A. Hegele; M. W. Huff. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2017**, 223-244.
- <sup>37</sup> <http://www.rcsb.org/pdb/>
- <sup>38</sup> <https://www.pcsk9.es> (Date: 18/04/2017)
- <sup>39</sup> J. A. Krysa; T. C. Ooi; S. D. Proctor; D. F. Vine. *J. Nutrit.* **2017**, *147*, 473-481.
- <sup>40</sup> J. D. Horton; J. C. Cohen; H. H. Hobbs. *Trends Biochem. Sci.* **2007**, *32*, 71-77.
- <sup>41</sup> K. Yadav; M. Sharma; K. C. Ferdinand. *Nut. Met. Card. Dis.* **2016**, *26*, 853-862.
- <sup>42</sup> A. I. Minchinton; I. F. Tannock. *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 583-592.
- <sup>43</sup> K. M. Nicholson; M. C. Bibby; R. M Phillips. *Eur. J. Cancer* **1997**, *33*, 1291-8.
- <sup>44</sup> X. Liu; EM. Weaver; A. B. Hummon. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 6295-6302.
- <sup>44</sup> H. Karlsson; M. Fryknäs; R. Larsson; P. Nygren. *Exp. Cell. Res.* **2012**, *318*, 1577-85.

- <sup>46</sup> W. Y. Ho; S. K. Yeap; C. L. Ho; R. A. Rahim; N. B. Alitheen. *PLOS ONE* **2012**, *7*, e44640.
- <sup>47</sup> W. A. Denny. *Lancet Oncol.* **2000**, *1*, 25-29.
- <sup>48</sup> M. Ahmadi; Z. Ahmadihosseini; S. J. Allison; S. Begum; K. Rockley; M. Sadiq; S. Chintamaneni; R. Lokwani; N. Hughes; R. M. Phillips. *British J. Pharmacol.* **2014**, *171*, 224-236.
- <sup>49</sup> S. Strese; M. Fryknäs; R. Larsson; J. Gullbo. *BMC Cancer* **2013**, *13*, 331-342.
- <sup>50</sup> K. Murono; N. H. Tsuno; K. Kawai; K. Sasaki; K. Hongo; M. Kaneko; M. Hiyoshi; N. Tada; T. Nirei; E. Sunami; K. Takahashi; J. Kitayama. *Anticancer Res.* **2012**, *32*, 865-872.
- <sup>51</sup> Y. Yuan; G. Hilliard; T. Ferguson; D. Millhorn. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 15911-15916.
- <sup>52</sup> A. Rapisarda; R. H. Shoemaker; G. Melillo. *Cell Cycle* **2004**, *3*, 172-175.
- <sup>53</sup> M. Romero; P. Renard; D. H. Caignard; G. Atassi; X. Solans; P. Constans; C. Bailly; M. D. Pujol. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 294-307.
- <sup>54</sup> J. M. Yarbo. *Sem. Oncol.* **1992**, *19*, 1-10.
- <sup>55</sup> S. J. Zuo; S. Zhang; S. Mao; X. X. Xie; X. Xiao; M. H. Xin; W. Xuan; Y. Y. He; Y. X. Cao; S. Q. Zhang. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 179-190.
- <sup>56</sup> Z. Cui; X. Li; L. Li; B. Zhang; C. Gao; Y. Chen; C. Ten; H. Lin; W. Xie; T. Yang; Y. Jieng. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 261-269.
- <sup>57</sup> U. Lademann; K. Cain; M. Gyrd-Hansen; D. Brown; D. Peters; M. Jäättelä. *Mol. Cell. Biol.* **2003**, *23*, 7829-7837.
- <sup>58</sup> Stephen Neidle. *Cancer Design and Discovery*. 2nd Edition. Elsevier. **2014**. ISBN: 978-0-12-396521-9.
- <sup>59</sup> L. Garuti; M. Roberti; G. Bottegoni; M. Ferraro. *Curr. Med. Chem.* **2016**, *23*, 1528-1548.
- <sup>60</sup> G. M. Keating. *Targ. Oncol.* **2017**, *12*, 243-253.
- <sup>61</sup> X. F. Wang; X. T. Tian; E. Ohkoshi; B. Qin; Y. N. Liu; P. C. Wu; M. J. Hour; H. Y. Hung; K. Qian; R. Huang; K. F. Bastow; W. P. Janzen; J. Jin; S. L. Morris-Natschke; K. H. Lee; L. Xie. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 6224-6228.
- <sup>62</sup> L. M. Greene; M. J. Meegan; D. M. Zisterer. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2015**, *355*, 212-222.
- <sup>63</sup> R. Mikstacka; T. Stefanski; J. Rózanski. *Cel. Mol. Biol. Lett.* **2013**, *18*, 368-397.
- <sup>64</sup> K. Jaroch; M. Karolak; P. Górski; A. Jaroch; A. Krajewski; A. Ilnicka; A. Sloderbach; T. Stefanski; S. Sobiak. *Pharmacol. Rep.* **2016**, *68*, 1266-1275.
- <sup>65</sup> M. Ma; L. Sun; H. Lou; M. Ji. *Chem. Central J.* **2013**, *7*, 179-187.
- <sup>66</sup> K. Gaukroger; J. A. Hadfield; N. J. Lawrence; S. Nolan; A. T. McGown. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3033-3037.
- <sup>67</sup> M. Medarde; A. C. Ramos; E. Caballero; R. Pelaez; J. L. Lopez. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, *33*, 71-77.
- <sup>68</sup> M. Cushman; C. M. Lin. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2579-2588.
- <sup>69</sup> G. R. Pettit; M. R. Rhodes; D. L. Herald; E. Hamel; J. M. Schmidt. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4087-4099.
- <sup>70</sup> K. Ohsumi; R. Nakagawa; Y. Fukuda; T. Hatanaka; Y. Morinaga. Y. Nihei; K. Ohishi; Y. Suga; Y. Akiyama; T. Tsuji. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3022-3032.
- <sup>71</sup> Y. Kong; J. Grembecka; M. Edler; E. Hamel; S. L. Mooberry. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 1007-1014.
- <sup>72</sup> Y. Sheng; J. Hua; K. G. Pinney; C. M. Garner; R. R. Kane; J. A. Prezioso; D. J. Chaplin; K. Edvardsen. *Int. J. Cancer* **2004**, *111*, 604-610.
- <sup>73</sup> M. Cushman; D. Nagarathnam; D. Gopal; H. M. He; C. M. Lin. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2293-2306.
- <sup>74</sup> K. A. Monk; R. Siles; M. B. Hadimani; B. E. Mugabe; J. F. Ackley; S. W. Studerus; K. Edvardsen; M. L. Trawick; C. M. Garner; M. R. Rhodes; G. R. Pettit; K. G. Pinney. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3231-3244.
- <sup>75</sup> T. Hatanaka; F. Fuhita; K. Ohsumi; N. Nakagawa; Y. Fukuda. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3371-3374.
- <sup>76</sup> G. R. Pettit; B. Toki; D. L. Herald; P. Verdier-Pinard; M. R. Boyd. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1688-1695.
- <sup>77</sup> Z. Getahun; L. Jurd; P. S. Chu; C. M. Lin; E. Hamel. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1058-1067.
- <sup>78</sup> J. A. Hadfield; K. Gaukroger; N. Hirst; A. P. Weston; N. J. Lawrence; A. T. McGown. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 529-541.
- <sup>78</sup> R. Shiari; T. Okabe; S. I. Wasaki. *Heterocycles* **1997**, *46*, 145-148.
- <sup>80</sup> D. Alloatti; G. Giannini; W. Cabri; I. Lustrati; M. Marzi; A. Ciacci; G. Gallo; M. O. Tinti; M. Marcellini; T. Riccioni. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2708-2721.
- <sup>81</sup> H. I. Rocha-González; M. Ambriz-Tututi; V. Granados-Soto. *CNS Neurosci. Ther.* **2008**, *14*, 234-247.
- <sup>82</sup> L. G. Carter; J. A. D'Orazio; K. J. Pearson. *Endocr. Relat. Cancer* **2014**, *21*, R209-R225.
- <sup>83</sup> C. K. Singh; M. A. Ndiaye; N. Ahmad. *Biochim. Biophys. Acta.* **2015**, *1852*, 1178-1185.
- <sup>84</sup> A. Vinuesa. Diseño, síntesis y evaluación biológica de nuevos compuestos nitrogenados potencialmente antitumorales. *Tesis Doctoral* **2016**. Universidad de Barcelona y Universidad San Jorge (Zaragoza).
- <sup>85</sup> G. Block; B. Patterson. A. Subaru. *Nutr. Cancer* **1992**, *18*, 1-29.
- <sup>86</sup> M. I. Gil; F. A. Tomás-Barberán; B. Hess-Pierce; D. M. Holcroft; A. A. Kader. *J. Agric. Food* **2000**, *48*, 4581-4589.
- <sup>87</sup> I. Kang; T. Buckner; N. F. Shay; L. Gu; S. Chung. *Adv. Nutr.* **2016**, *7*, 961-72.

- <sup>88</sup> Y. Zhang; D. L. Dewitt; S. Murugesan; M. G. Nair. *Chem. Biodiv.* **2004**, *2*, 426-441.
- <sup>89</sup> L. Fremont. *Life Sci.* **2000**, *66*, 663-673.
- <sup>90</sup> G. L. Chen; W. Shan; Y. L. Wu; L. X. Ren; J. H. Dong; Z. Z. Ji. *Anal. Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 1587-1590.
- <sup>91</sup> M. Chalal; A. Klinger; A. Echairi; P. Meunier; D. Vervandier-Fasseur; M. Adrian. *Molecules* **2014**, *19*, 7679-7688.
- <sup>92</sup> D. Hu; P. Cao; E. Thiels; C. T. Chu; G. Y. Wu; T. D. Oury; E. Klann. *Neurobiol. Learn. Mem.* **2007**, *87*, 372-384.
- <sup>93</sup> C. K. Singh, A. Mary; N. A. Ndiaye. *Biochim. Biophys. Acta.* **2015**, *1852*, 1178-1185.
- <sup>94</sup> A. C. Faber; T. C. Chiles. *Int. J. Oncol.* **2006**, *29*, 1561-1566.
- <sup>95</sup> L. Q. Trung; J. L. Espinoza; A. Takami; S. Nakao. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e55183.
- <sup>96</sup> M. Jang; L. Cai; G. O. Udeani; K. V. Slowing; C. F. Thomas; C. W. Beecher; H. H. Fong; N. R. Farnsworth; A. D. Kinghorn; R. G. Mehta; R. C. Moon; J. M. Pezzuto. *Science* **1997**, *275*, 218-20.
- <sup>97</sup> H. I. Rocha-Gonzalez; M. Ambriz-Tututi; V. Granados-Soto. *CNS Neurosci. Ther.* **2008**, *14*, 234-247.
- <sup>98</sup> G. L. Patrick. *An introduction to Medicinal Chemistry* **2013**, ISBN: 978-0-19-969739-7.
- <sup>99</sup> D. C. Vitale; C. Piazza; B. Melilli; F. Drago; S. Salomone. *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.* **2013**, *38*, 15-25.
- <sup>100</sup> M. Rafieian-Kopaei; M. Movahedi. *Electronic Physician* **2017**, *9*, 3838-3844.
- <sup>101</sup> R. Francisco. Diseño y síntesis de maleimidias y de otros compuestos heterocíclicos con potenciales propiedades antitumorales. *Tesis Doctoral* **2016**. Universidad de Barcelona.
- <sup>102</sup> R. Soucek. Synthesis of new heteropolycyclic compounds with potential antitumor activity. *Tesis Doctoral* **2014**. Universidad de Barcelona.
- <sup>103</sup> D. M. Smith; Z. Wang; A. Kazi; L. H. Li; T. H. Chan; Q. P. Dou. *Mol. Med.* **2002**, *8*, 382-392.
- <sup>104</sup> L. Navarro. M. D. Pujol. Results not published. **2017**
- <sup>105</sup> M. Jang; L. Cai; G. O. Udeani; K. V. Slowing; C. F. Thomas; C.W. Beecher; H. H. Fong; N. R. Farnsworth; A. D. Kinghorn; R. G. Mehta; R. C. Moon; J. M Pezzuto. *Science* **1997**, *275*, 218-20.
- <sup>106</sup> E. Wenzel; V. Somoza. *Mol. Nutr. Food. Res.* **2005**, *49*, 472-481.
- <sup>107</sup> M. Romero; Y. Harrak; J. Basset; J. A. Orúe; M.D. Pujol. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1951-1956.
- <sup>108</sup> C. C. Johansson Seechurn; M. O. Kitching; T. J. Colacot; V. Snieckus. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, 5062-5085.
- <sup>109</sup> T. W. Cooper; I. B. Campbell; S. J. Macdonald. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2010**, *49*, 8082-91.
- <sup>110</sup> A. S. Guram; S. L. Buchwald. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7901-7902.
- <sup>111</sup> A. Guram; R. A. Rennels; L. Stephen; S. L. Buchwald. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1348-1350.
- <sup>112</sup> J. Louie, J. F. Hartwig. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3609-3612.
- <sup>113</sup> J. F. Hartwig; S. Richards; D. Barañano; F. Paul. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3626-3633.
- <sup>114</sup> M. S. Driver; J. F. Hartwig. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7217-7218.
- <sup>115</sup> B. C. Hamann; J. F. Hartwig. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7369-7370.
- <sup>116</sup> M. Kawatsura; J. F. Hartwig. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1473-1478.
- <sup>117</sup> L. Navarro; M. D. Pujol. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 1812-1815.
- <sup>118</sup> E. Artuso; I. Degani; R. Fochi; C. Magistris. *Synthesis* **2007**, 3497-3506.
- <sup>119</sup> C. Han; J. A. Porco. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1517-1520.
- <sup>120</sup> J. A. Grzyb; R. A. Batey. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5279-5282.
- <sup>121</sup> M. N. Bertrand; J. P. Wolfe. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6447-6459.
- <sup>122</sup> D. P. N. Satchel; R. S. Satchel. *Chem. Soc. Rev.* **1975**, *4*, 231-250.
- <sup>123</sup> E. A. Castro; R. B. Moodle; P. J. Sansom. *Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* **1985**, 737-742.
- <sup>124</sup> Y. Zhang; M. Anderson; J. L. Weisman; M. Lu; C. J. Choy; V. A. Boyd; J. Price; M. Sigal; J. Clark; M. Connelly; F. Zhu; W. A. Guiguemde; C. Jeffries; L. Yang; A. Lemoff; A. P. Liou; T. R. Webb; J. L. DeRisi; R. K. Guy. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 460-465.
- <sup>125</sup> J. W. Haas; R. E. Kadunce. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 4910-4913.
- <sup>126</sup> S. Chandrasekhar; K. Gopalaiah. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2455-2457.
- <sup>127</sup> A. Corsaro; U. Chiacchio; V. Pistarà. *Synthesis* **2001**, *13*, 1903-1931.
- <sup>128</sup> S. Chandrasekhar; K. Gopalaiah. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4023-4024.
- <sup>129</sup> J. March. *Advanced Organic Chemistry.* **1986**, ISBN 047185472-7.
- <sup>130</sup> A. Cesana; S. Palmery; R. Buzzoni; G. Spano; F. Rivetti; C. Lino. *Catal.* **2010**, *154*, 264-270.
- <sup>131</sup> Nick Bruno. Aldrich.com. www.SigmaAldrich.com.
- <sup>132</sup> J. R. Johnson. *Org. React.* **1994**, *1*, 210-265.
- <sup>133</sup> C. S. Callam; T. L. Lowary. *J. Chem. Educ.* **2001**, *78*, 947-949.
- <sup>134</sup> C. Amatore; A. Jutand; G. Le Duc. *Chem. A. Eur. J.* **2011**, *17*, 2492-2503.
- <sup>135</sup> R. Basawaray; Y. S. Agasimundin. *Indian J. Heterocycl. Chem.* **2002**, *12*, 1-4.

- <sup>136</sup> D. B. A. Kumar; G. K. Prakash; B. P. Nandeshwappa; B. S. Sherigara; K. M. Mahadevan. *Indian J. Pharm. Sci.* **2006**, *68*, 809-814.
- <sup>137</sup> D. T. Witiak; H. N. Newman; G. K. Poochikian; W. Lob; S. Shankarappa. *Lipids* **1976**, *11*, 384-391.
- <sup>138</sup> W. J. Song; X. D. Yang; X. H. Zeng; X. L. Xu; G. L. Zheng; H. B. Zhang. *RSC. Adv.* **2012**, *2*, 4612-4615.
- <sup>139</sup> D. D. Qin; W. Chen; X. Tang; W. Yu; A. A. Wu; Y. Liao; H. B. Chen. *Asian J. Org. Chem.* **2016**, *5*, 1345-1352.
- <sup>140</sup> T. Xu; E. Zhang; D. Wang; Y. Wang; Y. Zou. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 4313-4324.
- <sup>141</sup> H. R. Diéguez; A. López; V. Domingo; J. F. Arteaga; J. A. Dobado; M. M. Herrador; J. F. Quilez del Moral; A. F. Barrero. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 254-259.
- <sup>142</sup> T. M. Kosak; H. A. Conrad; A. L. Korich; R. L. Lord. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 7460-7467.
- <sup>143</sup> Crowther, A. F.; Mann, F. G.; Purdie, D. *J. Chem. Soc.* **1943**, *4*, 28-31.
- <sup>144</sup> Y. Vara; E. Aldaba; A. Arrieta; J. L. Pizarro; M. I. Arriortua; F. P. Cossío. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1763-1772.
- <sup>145</sup> P. Ballesteros; R. M. Claramunt; D. Sanz del Castillo; E. Teso. *Química Orgánica Avanzada*. UNED. **2013**. ISBN: 978-84-362-6799-0.
- <sup>146</sup> G. I. Likhtenshtein. *Stilbenes Synthesis and Applications. Encyclopedia of Chemical Technology*. Kirk Othmer. John Wiley and Sons **2012**. DOI: 10.1002/0471238961.stillkh.a01
- <sup>147</sup> O. H. Wheeler; H. N. Batlle de Pabon. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 1473-1477.
- <sup>148</sup> T. Shen; X. I. N. Wang; H. X. Lou. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 916-935.
- <sup>149</sup> H. Idriss; K. G. Pierce; M. A. Barteau. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3063-3074
- <sup>150</sup> L. Benz; J. Haubrich; R. G. Quiller; S. C. Jensen; C. M. Friend. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15026-15031.
- <sup>151</sup> A. S. Saiyed; K. N. Patel; B. V. Kamath; A. V. Bedeker. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 4692-4696.
- <sup>152</sup> C. M. Kormos; N. E. Leadbeater. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3854-3858.
- <sup>153</sup> J. R. Norman. *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 1818-1824.
- <sup>154</sup> J. Saltiel; E. D. Megarity; K. G. Kneipp. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *88*, 2336-1267.
- <sup>155</sup> K. C. Sanko; L. Illes; K. Felfoeldi; J. Kiss; P. Sipos; I. Palinko. *J. Mol. Struct.* **2011**, *993*, 259-263.
- <sup>156</sup> A. Khalaf; I. M. Awad; I. M. El-Emary; T. I. Abd El-Aal. *J. Ind. Chem. Soc.* **2010**, *87*, 595-600.
- <sup>157</sup> J. F. J. Dippy; R. M. Evans. *J. Org. Chem.* **1950**, *15*, 451-456.
- <sup>158</sup> K. R. Bansal. *Organic Reaction Mechanisms*. Tata Mcgraw Hill. *3rd Edition*. **1998**, 199-201.
- <sup>159</sup> I. Mitrus; A. Sochanik; T. Cichon; S. Szala. *Acta. Biochim. Pol.* **2009**, *56*, 161-165.
- <sup>160</sup> G. F. Ruda; P.E. Wong; V. P. Alibu; S. Norval; K. D. Read; M. P. Barrett; I. H. Gilbert. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6071-6078.
- <sup>161</sup> F. Aguilar-Parrilla; R. M. Claramunt; C. López; D. Sanz. H. H. Limach; J. Elguero. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 8752-8760.
- <sup>162</sup> A. Leoncini; J. Huskens; W. V. Synlett. **2016**, *27*, 2463-246.
- <sup>163</sup> S. Vasanti; M. Suman; H. Priyanka. *J. Pharm. Res.* **2009**, *2*, 455-457.
- <sup>164</sup> A. P. Rajput; P. R. Gore. *Pharma Chem.* **2011**, *3*, 409-421.
- <sup>165</sup> <https://openinnovation.lilly.com> (4/05/2017)
- <sup>166</sup> H. L. Lin; S. H. Chiou; C. W. Wu; W. B. Lin; L. H. Shen; Y. P. Yang; M. L. Tsai; Y. H. Uen; J. P. Liou; C. W. Chi. *J.P.E.T.* **2007**, *323*, 365-373.
- <sup>167</sup> I. Grivicich; D.R.A. Mans; G. J. Peters; G. Schwartzmann. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2001**, *34*, 1087-1103.
- <sup>168</sup> V. Pavillard; C. Agostini; S. Richard; V. Charasson; D. Montaudon; J. Robert. *Cancer Chemoth. Pharmacol.* **2002**, *49*, 329-335.
- <sup>169</sup> T. Mueller; K. Jordan; W. Voigt. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2011**, 30-42.
- <sup>170</sup> D. L. Roberts; K. J. Williams; R. L. Cowen; M. Barathova; J. Eustace S. Brittain-Dissont; M. J. Tilby; D. G. Pearson; C. J. Ottley; I. J. Stratford; C. Dive. *Br. J. Cancer* **2009**, *101*, 1290-1297.
- <sup>171</sup> R. Schobert; K. Effenberger-Neidnicht; B. Biersack. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **2011**, *49*, 71-72.
- <sup>172</sup> H. M. Sheldrake; S. Travica; I. Johansson; P. M. Loadman; M. Sutherland; L. Elsalem; N. Illingworth; A. J. Cresswell; T. Reuillon; S. D. Shnyder; S. Mkrtchian; M. Searcey; M. Ingelman-Sundberg; L. H. Patterson; K. Pors. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 6273-6277.
- <sup>173</sup> M. Sutherland; J. H. Gill; P.M. Loadman; J. P.Laye; H.M. Sheldrake; N. A. Illingworth; M. N. Alandas; P. A. Cooper; M. Searcey; K. Pors; S. D. Shnyder; L.H. Patterson. *Mol. Cancer. Ther.* **2012**, *12*, 27-37.