



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Disseny i síntesi de nous compostos amb activitat citotòxica per inhibició enzimàtica

Lucía Acedo González

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) i a través del Dipòsit Digital de la UB (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) y a través del Repositorio Digital de la UB (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) service and by the UB Digital Repository (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
DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA I QUÍMICA
TERAPÈUTICA

**DISSENY I SÍNTESI DE NOUS COMPOSTOS AMB
ACTIVITAT CITOTÒXICA PER INHIBICIÓ
ENZIMÀTICA**

LUCÍA ACEDO GONZÁLEZ

2019

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA I CIÈNCIES DE L'ALIMENTACIÓ

**DISSENY I SÍNTESI DE NOUS COMPOSTOS AMB
ACTIVITAT CITOTÒXICA PER INHIBICIÓ
ENZIMÀTICA**

PROGRAMA DE DOCTORAT DE QUÍMICA ORGÀNICA

Memòria presentada per Lucía Acedo González per optar al títol de
doctor per la Universitat de Barcelona

La directora:

La doctoranda:

Dra. M^a Dolors Pujol Dilmé

Lucía Acedo González

LUCÍA ACEDO GONZÁLEZ, 2019



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

DISSENY I SÍNTESI DE NOUS COMPOSTOS AMB ACTIVITAT CITOTÒXICA PER INHIBICIÓ ENZIMÀTICA

Memòria presentada per **Lucía Acedo González**, graduada en farmàcia per la Universitat de Barcelona, per optar al grau de doctor per la Universitat de Barcelona.

El projecte de tesi doctoral es troba inscrit en el **Departament de Farmacologia, Toxicologia i Química Terapèutica** de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona. El treball experimental i redacció de la memòria que es presenta han estat dirigits per la doctora **M^a Dolors Pujol Dilmé**.

Barcelona, 30 de setembre de 2019

La directora de la tesis:

La doctoranda:

Dra. M^a Dolors Pujol Dilmé

Lucía Acedo González

AGRAÏMENTS

Aquesta memòria és el resultat de cinc anys de treball de laboratori que m'ha permès, no només conèixer de primera mà en què consisteix la recerca científica, sinó l'adquisició de diverses competències i habilitats que m'han enriquit personalment. En aquest projecte han participat moltes persones, contribuint de manera directa o indirecta i, des d'un punt de vista acadèmic o personal, a la seva realització.

En primer lloc, m'agradaria donar les gràcies a la meva directora de tesis, la doctora M^a Dolors Pujol, per oferir-me l'oportunitat de formar part d'aquest equip. Sense el seu esforç i dedicació no hauria estat possible l'elaboració d'aquesta tesis doctoral. Gràcies per totes les hores dedicades, l'ajuda i l'atenció oferta, així com per tota la paciència i confiança depositada en mi.

En segon lloc, agrair a totes les persones que han participat en la realització dels anàlisis tant computacionals com biològics. Agrair-li al Dr. Jaime Rubio i l'equip de la Dra. Marta Cascante la seva contribució en aquest treball per dur a terme el disseny i l'avaluació biològica dels meus compostos.

Una part molt important d'aquest treball són les persones que m'han acompanyat en aquest llarg camí, els meus companys de laboratori. Agrair a la Dra. Laura Grau i a la Dra. Lorena Navarro per tot el que m'han ensenyat i per guiar-me en els meus inicis quan anava una mica perduda. Ambdues sou un exemple de constància i vocació per la recerca. A la Dra. Patricia Mateo, amb qui vaig començar la tesi doctoral i companya de cafès, gràcies pels teus consells, la teva amabilitat i el bon rotllo que desprens. Agrair també a l'Enric Lizano i la Marta Vilaplana l'alegria amb que afronten el dia a dia i tota l'energia que hi dediquen. Enric, gràcies per intentar fer d'aquest món un lloc millor i per la teva motivació en el treball, es necessiten més persones com tu. A la Marta, gràcies per la teva espontaneïtat, transparència i, pel teu esperit de superació. I al Miquel Viñas i al Daniel Jahani, moltes gràcies per la vostra ajuda. Miquel, ets una persona molt noble i intel·ligent, gràcies per la teva manera de ser, sé que arribaràs molt lluny en tot allò que et proposis. Daniel, tot i que fa poquet que et conec, gràcies pels teus coneixements i per ajudar-me, com he dit abans, en aquesta última etapa.

També voldria fer menció de tots aquells alumnes de treball dirigit que he tingut i que han participat i fet possible la realització d'aquest treball. Al Miguel Torralba, la Miren Fernández, la Jessica Collado, la Dana Josa, la Naïma i la Gladis, moltes gràcies per oferir-me l'oportunitat de compartir amb vosaltres molts bons moments i ajudar-me sempre quan ho he necessitat. Gràcies en especial a la Dana Josa, la Gladis i a l'Stefano

Nasi per deixar-me conèixer-vos més enllà del laboratori, per totes les sortides, sopars temàtics i, en general, per tots els moments viscuts. Sempre portaré un trosset d'Eivissa, Mèxic i Itàlia al meu cor.

Finalment, agrair a la meva família i els meus amics el seu suport incondicional en les diverses etapes de la meva vida i, en aquesta en concret. Sou un pilar fonamental sense el qual no hauria arribat fins aquí.

ABREVIATURES, FÓRMULES I ACRÒNIMS

4EBP: Proteïna d'unió 4E

6-AN: *6-aminonicotinamida*

6ANAD: 6-aminoNAD

6ANADP: 6-aminoNADP

6PGD: 6-fosfogluconat

6PGDH: 6-fosfogluconat deshidrogenasa

6PGL: 6-fosfogluconolactona

Ac: Acetil

ACC: Acetil-CoA carboxilasa

ACHN: 1,1'-*azobis*(ciclohexanocarbonitril)

AcOEt: Acetat d'etil

AcONa: Acetat sòdic

ADN: Àcid desoxiribonucleic

ADPRT: mono-ADP-ribosil transferasa

AEBP2: *Adipocyte Enhancer-Binding Protein 2*

Akt: Proteïna cinasa B

ALK: Quinasa del limfoma anaplàsic

AMP: Monofosfat d'adenosina

AMPC: Monofosfat d'adenosina cíclic

AMPK: Proteïna quinasa activada per AMP

APTS: Àcid *p*-toluensulfònic

Ar: Aromàtic

ARG1: Arginasa 1

ARN: Àcid ribonucleic

ATM: Atàxia telangiectasia mutada

ATP: Trifosfat d'adenosina

ba: Banda ample

BINAP: 1,1'-Binaftil-2,2'-*bis*(difenilfosfina)

BOC: Dicarbonat de di-*terc*-butil

Bu: Butil

CAR: Receptor d'antígens quimèrics

cat: Catalític

CCF: Cromatografia de capa fina

CCM: Carcinoma de cèl·lules Merkel

CDF: Curcumina difluorada

CDI: 1,1-Carbonildiimidazol

CDK: Quinases dependents de ciclina

CHC: Carcinoma hepatocel·lular

CMT: Carcinoma medul·lar de tiroides

COX-2: Ciclooxygenasa 2

CPCNP: Càncer de pulmó de cèl·lules no petites o no microcític

CPCP: Càncer de pulmó de cèl·lules petites o microcític

CREB: Element d'unió de resposta a AMPc

CREM: Element modulador de resposta a AMPc

CSF-1R: Receptor del factor estimulant de colònies 1

CTLA4: Antigen 4 del limfòcit T citotòxic

CU: Carcinoma urotelial

d: Doblet

dd: Doble doblet

DEPTOR: *DEP-domain-containing mTOR-interacting protein*

DHEA: *Dihidroepiandrosterona*

DMF: Dimetilformamida

DMSO: Dimetilsulfòxid

dt: Doble triplet

DZNep: 3-Deazaneplanocina A

E2F: Factor de transcripció 2

EC50: Concentració efectiva 50

EED: *Embryonic Ectoderm Development*

EGF: Factor de creixement epidèrmic

EGFR: Receptor del factor de creixement epidèrmic

eIF4E: Factor d'iniciació eucariòtic

EM: Espectroscòpia de masses

eq: Equivalents

erk: Quinasa regulada extracel·lular

ESI: Ionització per electroespray

Et: Etil

EtOH: Etanol

EZH1/EZH2: *Enhancer of Zeste Homolog 1/2*

FDA: *Food and Drug Administration*

FLT3: Receptor de la tirosina-quinasa 3 tipus Fms

g: Gram

G6PDH: Glucosa-6-fosfat deshidrogenasa

GSH: Glutatió reduït

h: Hores

HDAC: Histona desacetilasa

HER-2: Receptor del factor de creixement epidèrmic humà 2

HGF: Factor de creixement d'hepatòcits

HHV8: Herpesvirus humà 8

HIF1 α : Subunitat α del factor 1 induïble per hipòxia

HK2: Hexoquinasa 2

HR: Receptor hormonal

HSL: Lipasa sensible a hormones

Hsp27: Proteïna de xoc tèrmic 27

HTLV-1: Virus limfotròpic humà

HTS: Cribratges d'alt rendiment

Hz: Hertz

IARC: Agència Internacional per a la Investigació del Càncer

IC50: Concentració inhibidora 50

IL-2: Interleucina-2

IL-6: Interleucina-6

iNOS: Òxid nítric sintetasa

IR: Infraroig

IRS-1: *Insulin receptor substrate 1*

J: Constant d'acoblament

JARID: *Jumonji-and AT-rich Interaction Domain*

KHz: Quilohertz

L: Litre

LDHA: Lactat deshidrogenasa A

LMC: Leucèmia mielògena crònica

m/z: Relació massa/càrrega

m: Multiplet

MALT: Limfoma del teixit limfoide associat a mucoses

MAPK: Proteïna quinasa activada per mitògen

MCP-1: Proteïna quimioattractant de monòcits

MeOH: Metanol

mg: Mil·ligram

MHz: Megahertz

mL: Mil·lilitre

mLST8: *Mammalian lethal with Sec13 protein 8*

mmol: Mil·limol

MNAM: Metilnicotinamida

mSIN1: *Mamalian stress-activated protein kinase interacting protein*

mTOR: Diana de *rapamicina* en cèl·lules de mamífer

mTORC1/2: Complex 1/2 de la diana de *rapamicina* en cèl·lules de mamífer

MTT: Bromur de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio

N: Normalitat

NAD⁺/NADH: Nicotinamida adenina dinucleòtid (forma oxidada i reduïda)

NADP: Nicotinamida adenina dinucleòtid fosfat

NAM: *Nicotinamida*

NBS: *N*-bromosuccinimida

NF-κB: factor de transcripció nuclear kappa B

Nm: Nanòmetre

NNMT: Nicotinamida *N*-Metiltransferasa

NO: Òxid nítric

NOHA: *N*(ω)-hidroxi-*L*-arginina

Nrf2: Factor nuclear 2

ODC: Ornitina descarboxilasa

OIDD: *Open Innovation Drug Discovery*

p/p: Relació pes/pes

PAPR: Poli-ADP-ribosil polimerasa

PcG: *Polycomb group*

PCR: Complex repressiu polycomb

Pd/C: Pal·ladi carbó

PD1: Proteïna de la mort cel·lular programada 1

PDB: *Protein Data Bank*

PDGF: Factor de creixement derivat de plaquetes

PD-L1: Lligand 1 de la mort cel·lular programada

PET: Tomografia per emissió de positrons

Pf: Punt de fusió

PFK1: Fosfofructoquinasa 1

PGD: Fosfogluconat deshidrogenasa

PGE2: Prostaglandina E2

PI3K: Fosfatidilinositol-3-quinasa

PKC: Proteïna quinasa C

PKG: Proteïna quinasa G

PPh₃: Trifenilfosfina

ppm: Parts per milió

PPP: Ruta de la pentosa fosfat

PRAS40: *Proline-rich AKT substrate 40kDa*

pRb: Proteïna del retinoblastoma

PROTOR: *Protein observed with Rictor*

q: Quadruplet

RAPTOR: *Regulatory-associated protein of mTOR*

RbAp48/46: *Retinoblastoma-associated proteins 46/48*

REA: Relació estructura-activitat

RET: Receptor del factor neurotròfic derivat de la línia cel·lular glial

R_f: Factor de retenció

RICTOR: *Rapamycin-Insensitive Companion mTOR*

RMN-¹³C: Ressonància magnètica nuclear de carboni-13

RMN-¹H: Ressonància magnètica nuclear de protó

ROS: Espècies reactives d'oxigen

s: Singulet

SAH: S-Adenosilhomocisteïna

SAM: S-adenosil-metionina

sc: senyal complexa

SIDA: Síndrome de la Immunodeficiència adquirida

SNC: Sistema nerviós central

Src: Sarcoma

SREBP: Proteïna d'unió a elements reguladors d'esterols

STAT3: Transductor de senyal i activador de transcripció 3

SUZ12: *Supressor of zeste 12*

t.a.: Temperatura ambient

t: Triplet

t-BuOK: *Terc*-butòxid potàssic

TCR: Receptor de cèl·lules T

TFA: Àcid trifluoroacètic

TFAA: Anhídrid de l'àcid trifluoroacètic

TFEB: Factor de transcripció EB

TH2: *T helper cells 2*

THF: Tetrahidrofurà

TIGAR: Regulador de la glucòlisi i apoptosi induïble per TP53

TMS: Tetrametilsilà

TNEGEP: Tumors neuroendocrins gastroenteropancreàtics

TNF-α: Factor de necrosi tumoral alfa

TSC: Complex d'esclerosi Tuberosa

T-VEC: Virus *talimogene laherparepvec*

ULK: *Unc-51 like autophagy activating kinase 1*

UV: Ultraviolada

ν (cm⁻¹): Freqüència (centímetres a la menys 1)

VEB: Virus d'Epstein-Barr

VEGF: Factor de creixement endotelial vascular

VIH: Virus de la immunodeficiència humana

VPH: Virus del papil·loma humà

W: watts

δ : Desplaçament químic

μ M: Micromolar

RESUM

Aquesta tesi doctoral està enfocada a la investigació de nous agents amb potencial activitat antitumoral per inhibició enzimàtica. S'ha descrit la implicació de la G6PDH en el desenvolupament i progressió del càncer degut a la seva participació en la síntesi d'àcids nucleics. Es busca la preparació de compostos que actuïn inhibint de forma més selectiva les cèl·lules canceroses, actuant sobre els enzims implicats en el seu metabolisme, com és la G6PDH, per tal de millorar l'eficàcia i reduir els efectes adversos dels tractaments dels que disposem actualment.

S'ha dut a terme la preparació sintètica de tres series de compostos diferents. La primera pertany a les arilmetilenindolinona i derivats, la segona consta de sistemes tiofèn-condensats, dissenyats a partir de modelització i amb canvis estructurals a partir de farmacomodulacions modulatives i finalment la tercera sèrie, la corresponent a les urees. Els compostos s'han preparat mitjançant reaccions clàssiques de química orgànica i s'han purificat posteriorment mitjançant tècniques de separació (cromatografia). L'elucidació estructural corresponent s'ha dut a terme mitjançant tècniques de Ressonància Magnètica Nuclear (RMN), Espectroscòpia de masses (EM) i d'Infraroig (IR).

Finalment, s'ha dut a terme part de l'avaluació biològica d'alguns dels compostos preparats, utilitzant assajos in vitro de viabilitat cel·lular en diferents línies cel·lulars de leucèmia (TPH-1, MOLT3, NB4, HL-60, K562, KU812 i OCIAML-3) i de càncer de pròstata (PC-3) mitjançant la tècnica MTT. Per tal d'estudiar l'activitat inhibidora enzimàtica, s'han realitzat assajos d'inhibició directa de la G6PDH, mesurada a partir de la producció d'NADPH.

ABSTRACT

This PhD has been focused on the discovery of new compounds with antitumoral potential activity for inhibition of enzymes, like G6PDH. The implications of G6PDH for the development and progression of cancer due to its participation in nucleic acid synthesis have been described. Our objective was to prepare compounds that can be able to inhibit enzymes such as G6PDH that involved in metabolism of cancer cells with a good level of selectivity which have a perfect efficacy without significant side effects.

Synthetic preparation of three different compounds has been carried out. The first one has arilmetilenindolinone and its derivatives. The second one contains thiophen systems and designed by computational modulator and changed structure from

pharmacomodulations and finally, the third series of compounds is based on the urea-derivatives. Compounds have been prepared using classical organic chemistry reactions and further purification with separation techniques (chromatography). Corresponding structural elucidation by NMR, Mass and IR.

Finally, part of the biological evaluation of some of the compounds have been prepared and carried out using in vitro assays based on cellular viability on different prostate (PC-3) and leukemic (TPH-1, MOLT3, NB4, HL-60, K562, KU812 and OCIAML-3) cell lines using the MTT assay. The direct inhibition of G6PDH measured by the production quantity of NADPH was used to study enzymatic inhibition activity.

ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ	1
1.1. El Càncer	1
1.1.1. Definició del càncer i antecedents	1
1.1.2. Etiologia i factors de risc	4
1.1.3. Fisiopatologia	8
1.1.4. Epidemiologia	8
1.1.5. Tractament	14
1.2. Noves dianes pel tractament del càncer	30
1.2.1. Diana de <i>rapamicina</i> en cèl·lules de mamífer (mTOR)	30
1.2.2. EZH2	38
1.2.3. Enzims metabòlics	45
2. OBJECTIUS	69
2.1. Primer objectiu	69
2.2. Segon objectiu	70
2.3. Tercer objectiu	74
3. DISCUSSIÓ TEÒRICA	75
3.1. Preparació de benzilidenindolin-2-ones i derivats (1-8)	75
3.1.1. Anàlisi retrosintètica de les benzilidenindolin-2-ones (1-7)	75
3.1.2. Preparació de 4-((1 <i>H</i> -indol-3-il)metilen)-3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)isoxazole-5(4 <i>H</i>)-ona (8)	87
3.2. Preparació de sistemes tiofen-condensats 9-29	89
3.2.1. Preparació d' <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-(naftalen-2-iloxi)acetamida (9)	95
3.2.2. Preparació de (3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)glicinat de 2-naftil (10)	96
3.2.3. Preparació de 2-((2-naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carbonitril (11)	97

3.2.4. Preparació de 2-(4-bromofenoxi)- <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)acetamida (12) i <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-((2,3-dihidrobenzo[<i>b</i>][1,4]dioxin-2-il)metoxi)acetamida (13).....	98
3.2.5. Preparació d' <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-((2-(naftalen-2-iloxi)benzil)amino)acetamida (14).....	100
3.2.6. Preparació d'1-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-3-(3-nitrofenil)urea (15).....	101
3.2.7. Preparació de 2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (16)	102
3.2.8. Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)-2-oxoetil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (17).....	104
3.2.9. Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (18)	105
3.2.10. Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (19)	105
3.2.11. Preparació de 2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (20)	106
3.2.12. Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (21), 2-(2-(4-nitrofenoxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (22) i de 2-(2-(4-metoxifenoxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (23).....	109
3.2.13. Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (24)	110
3.2.14. Preparació de (6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>b</i>]piridin-2-il)carbamat de 2-naftil (25)	111
3.2.15. Preparació d' <i>N</i> -(6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridin-2-il)benzo[<i>b</i>][1,4]dioxina-2-carboxamida (26).....	113
3.2.16. Preparació d'1-(6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridin-2-il)-3-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea (27)	114
3.2.17. Preparació de 7-acetil-2-(4-nitrofenil)-5,6,7,8-tetrahidropirido[4',3':4,5]tieno[2,3- <i>d</i>]pirimidin-4(3 <i>H</i>)-ona (28).....	115
3.2.18. Preparació de 6-benzil-2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridina-3-carboxilat d'etil (29)	116

3.2.19. Preparació de 6-benzil-2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carboxilat d'etil (30)	118
3.2.20. Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-5,6-dihidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (31)	119
3.3. Preparació de les urees 32-38	120
3.3.1. Antecedents bibliogràfics	120
3.3.2. Preparació d'1-((7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-8-il)metil)-1-metil-3-(3-nitrofenil)urea (32)	122
3.3.3. Preparació d'1-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)-3-(3-nitrofenil)urea (33).....	123
3.3.4. Preparació d'1-(2,3-dihidrobenzo[<i>b</i>][1,4]dioxin-6-il)-3-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)urea (34)	125
3.3.5. Preparació d'1-(3-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-3-(3-nitrofenil)urea (35) i 1-(3-nitrofenil)-3-(3-(4-oxopiperidin-1-il)fenil)urea (36)	126
3.3.6. Preparació de 6,7-dimetoxi- <i>N</i> -(3-nitrofenil)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina-2(1 <i>H</i>)-carboxamida (37) i d' <i>N</i> -(3-nitrofenil)-6-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,3,8,9-tetrahidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]isoquinolina-7(6 <i>H</i>)-carboxamida (38).....	129
3.4. Discussió dels resultats biològics	133
3.4.1. Resultats d'inhibició directa de G6PDH	133
3.4.2. Resultats de viabilitat cel·lular	140
3.4.3. Resultats de diferents dianes terapèutiques avaluades en Lilly	147
4. PART EXPERIMENTAL.....	156
Dades generals	156
Preparació d'(<i>E</i>)-3-(4-nitrobenziliden)-1 <i>H</i> -indolin-2-ona (1)	157
Preparació d'(<i>E</i>)-3-(4-aminobenziliden)-1 <i>H</i> -indol-2-ona (2)	158
Preparació d'(<i>E</i>)-4-((2-oxoindolin-3-idil)metil)fenil)carbamat d'etil (3)	160
Preparació d'1-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -indol-3-carbaldehid (42)	161
Preparació d'(<i>E</i>)-3-((1-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -indol-3-il)metil)indolin-2-ona (5)	162
Preparació d'(<i>E</i>)-3-((1 <i>H</i> -indol-3-il)metil)indolin-2-ona (4)	164
Preparació d'(<i>E</i>)-3-((1-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -indol-3-il)metil)indolin-2-ona (5)	165
Preparació d'(<i>E</i>)-3-((1-(4-aminofenil)-1 <i>H</i> -indol-3-il)metil)indolin-2-ona (6)	166
Preparació d' <i>N</i> -(2,3-dihidrobenzo[<i>b</i>][1,4]dioxin-6-il)acetamida (46)	167

Preparació d' <i>N</i> -acetil- <i>N</i> -(2,3-dihidrobenzo[<i>b</i>][1,4]dioxin-6-il)acetamida (48)	168
Preparació d' <i>N</i> -(2,3-dihidrobenzo[<i>b</i>][1,4]dioxin-6-il)acetamida (46)	169
Preparació de 7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolina-8-carbaldehid (43) i 8-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>f</i>]quinolina-9-carbaldehid (49)	170
Preparació de 3-((7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolina-8-il)metilen)indolin-2-ona (7)	171
Preparació d'1-metoxi-4-fenoxibenzè (53)	172
Preparació de 3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)-3-oxopropanoat d'etil (52)	174
Preparació de 3-(hidroxiimino)-3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)propanoat d'etil (51).....	175
Preparació de 3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)isoxazol-5(4 <i>H</i>)-ona (50)	176
Preparació de 4-((1 <i>H</i> -indol-3-il)metilen)-3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)isoxazole-5(4 <i>H</i>)-ona (8).....	177
Preparació de 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carbonitril (61)	178
Preparació de 2-(naftalen-2-iloxi)acetat d'etil (65)	181
Preparació d' <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-(naftalen-2-iloxi)acetamida (9)	182
Preparació de (3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)glicinat d'etil (67)	183
Preparació de (3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)glicinat de 2-naftil (10)	184
Preparació de 2-(2-bromoetoxi)naftalè (68)	185
Preparació de 2-((2-naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carbonitril (11)	187
Preparació de 2-bromo- <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)acetamida (69)	189
Preparació de 2-(4-bromofenoxi)- <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)acetamida (12)	190
Preparació d' <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-((2,3-dihidrobenzo[<i>b</i>][1,4]dioxin-2-il)metoxi)acetamida (13)	191
Preparació de 2-(naftalen-2-iloxi)benzoniitril (73)	192
Preparació de 2-(naftalen-2-iloxi)fenil)metilenamina (72)	193

Preparació d' <i>N</i> -(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-((2-(naftalen-2-iloxi)benzil)amino)acetamida (14)	195
Preparació d'1-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-3-(3-nitrofenil)urea (15)	196
Preparació de 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (77)	197
Preparació de 2-(2-bromoacetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (76)	198
Preparació de 2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (16)	199
Preparació de bromoacetat de 2-naftil (78)	200
Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)2-oxoetil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (17)	201
Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (18)	202
Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (19)	203
Preparació de 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (80)	204
Preparació de 2-(2-bromoacetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (79)	205
Preparació de 2-cianoacetilcarbamat de <i>terc</i> -butil (83)	206
Preparació de <i>terc</i> -butil (2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carbonil) carbamat (84)	207
Preparació de 2-(2-bromoacetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (79)	208
Preparació de 2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (20)	209
Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (21)	210
Preparació de 2-(2-(4-nitrofenoxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (22)	211
Preparació de 2-(2-(4-metoxifenoxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (23)	212

Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[<i>b</i>]tiofè-3-carboxamida (24)	212
Preparació de 6-acetil-2-amino-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridina-3-carbonitril (63)	214
Preparació de (6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridin-2-il)carbamat d'etil (86)	215
Preparació de (6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridin-2-il)carbamat de 2-naftil (25).....	216
Preparació d' <i>N</i> -(6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridin-2-il)benzo[<i>b</i>][1,4]dioxina-2-carboxamida (26).....	217
Preparació d'1-(6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridin-2-il)-3-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea (27)	218
Preparació d'1-(2-metil-1,5,6,8-tetrahidropirido[4',3':4,5]tieno[2,3- <i>d</i>]pirimidin-7(4 <i>H</i>)-il)etan-1-ona (111)	219
Preparació de 6-acetil-2-amino-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridina-3-carboxamida (90)	220
Preparació de 7-acetil-2-(4-nitrofenil)-5,6,7,8-tetrahidropirido[4',3':4,5]tieno[2,3- <i>d</i>]pirimidin-4(3 <i>H</i>)-ona (28)	221
Preparació de 2-amino-6-benzil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridina-3-carboxilat d'etil (91)	223
Preparació de 6-benzil-2-(2-bromoacetamido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridina-3-carboxilat d'etil (92)	224
Preparació de 6-benzil-2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridina-3-carboxilat d'etil (29)	225
Preparació de 6-benzil-2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridina-3-carboxilat d'etil (30)	226
Preparació de 2-amino-6-benzil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3- <i>c</i>]piridina-3-carbonitril (64)	227
Preparació de 2-amino-5,6-dihidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (93)	228
Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-5,6-dihidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofè-3-carboxilat d'etil (31)	230
Preparació de (7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-8-il)metanol (96)	230

Preparació de 8-(bromometil)-7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolina (95)	231
Preparació d'1-(7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-8-il)- <i>N</i> -metilmetilenamina (94)	233
Preparació d'1-((7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-8-il)metil)-1-metil-3-(3-nitrofenil)urea (32)	234
Preparació d'(<i>E</i>)- <i>N</i> -benzil-1-(7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-8-il)metanimina (114)	235
Preparació de (7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-8-il)metilenamina (115)	236
Preparació de 2-bromoacetat de (7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-8-il)metil (116)	236
Preparació de 2-(naftalen-2-iloxi)acetat de (7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-8-il)metil (117)	237
Preparació de 7-amino-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolina-8-carbaldehid (118)	238
Preparació de 2-bromo- <i>N</i> -(8-formil-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3- <i>g</i>]quinolin-7-il)acetamida (119)	239
Preparació d'1-metil-4-(3-nitrofenil)piperazina (98)	240
Preparació d'1-metil-4-(3-aminofenil)piperazina (97)	241
Preparació d'1-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)-3-(3-nitrofenil)urea (33)	242
Preparació de (3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)carbamat d'etil (100)	243
Preparació de 4-metil- <i>N</i> -(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)piperazina-1-carboxamida (120)	245
Preparació d'1-(2,3-dihidrobenczo[<i>b</i>][1,4]dioxin-6-il)-3-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)urea (34)	246
Preparació de 2-bromo- <i>N</i> -(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)acetamida (121)	248
Preparació de 3,4,5-trimetoxi- <i>N</i> -(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)benzamida (123)	248
Preparació de 2-((3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)benzoni-tril (125)	250
Preparació de 4-((3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)benzoni-tril (127)	252
Preparació de 2-((3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oxoacetat d'etil (129)	253
Preparació de l'àcid 2-((3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oxoacètic (130)	254

Preparació de 8-(3-nitrofenil)-1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decà (102)	255
Preparació de 3-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-8-il)anilina (101)	256
Preparació d'1-(3-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-3-(3-nitrofenil)urea (35)	257
Preparació d'1-(3-nitrofenil)-3-(3-(4-oxopiperidin-1-il)fenil)urea (36)	258
Preparació d'1-(3-aminofenil)piperidin-4-ona (131)	259
Preparació de 2,2,2-trifluoro-1-(6-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,3,8,9-tetrahidro-[1,4]dioxino [2,3-g]isoquinolin-7(6 <i>H</i>)-il)etan-1-ona (107)	260
Preparació de 6-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,3,6,7,8,9-hexahidro-[1,4]dioxino[2,3-g] isoquinolina (105)	262
Preparació d' <i>N</i> -(3-nitrofenil)-6-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,3,8,9-tetrahidro-[1,4]dioxino [2,3-g]isoquinolina-7(6 <i>H</i>)-carboxamida (38)	263
Preparació de 2,2,2-trifluoro-1-(6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroiso quinolin-2(1 <i>H</i>)-il)etan-1-ona (106)	265
Preparació de 6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (104)	266
Preparació de 6,7-dimetoxi- <i>N</i> -(3-nitrofenil)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroiso quinolina-2(1 <i>H</i>)-carboxamida (37)	268
Preparació de 2-bromo-1-(6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolin- 2(1 <i>H</i>)-il)etan-1-ona (132)	269
Preparació de 1-(6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1 <i>H</i>)-il)- 2-(naftalen-2-iloxi)etan-1-ona (133)	270
5. CONCLUSIONS	272
6. BIBLIOGRAFIA	274

1. INTRODUCCIÓ

1.1. El Càncer

1.1.1. Definició del càncer i antecedents

El Càncer és un trastorn neoplàsic que engloba un conjunt de més de 100 malalties heterogènies, complexes i amb un desencadenament multifactorial, que apareixen com a resultat d'una alteració en les cèl·lules dels teixits. Aquesta alteració està relacionada amb els sistemes que regulen la reproducció i la diferenciació cel·lular. Quan aquests sistemes fallen en una cèl·lula o grup de cèl·lules, aquestes es reproduïxen sense control i perden la seva especificitat, donant com a resultat l'aparició de tumors. Les cèl·lules tumorals es caracteritzen per, a més del creixement incontrolat i absència de diferenciació, la capacitat angiogènica i d'envair els teixits locals i òrgans distants a través del sistema circulatori o limfàtic, donant lloc al procés que es coneix com a metàstasi.¹

Cada cèl·lula del nostre cos té determinades funcions i un ritme de creixement i temps de vida determinat per l'ADN, estan diferenciades. Les cèl·lules normals es divideixen de manera ordenada i romanen dins d'uns límits, fins que moren quan s'han desgastat o es danyen, i noves cèl·lules les substitueixen. La cèl·lula passarà a convertir-se en una cèl·lula cancerosa degut a un canvi o mutació en el seu ADN. A vegades aquestes cèl·lules, la càrrega genètica de les quals ha canviat, moren o són eliminades als ganglis limfàtics, però d'altres, si els sistemes de control i reparació no funcionen correctament, segueixen creixent i formant de noves, desplaçant les cèl·lules normals. Aquestes cèl·lules són incapaces de realitzar les funcions pertinents als teixits als quals pertanyen (no estan diferenciades) i, generalment, es multipliquen molt ràpidament degut a la manca d'un mecanisme de control del creixement. S'amunteguen i pressionen o bloquegen òrgans i els impedeixen realitzar les seves tasques. Degut a que no es limiten a l'espai originari on es formen, es poden estendre a altres zones (adquisició de capacitat invasiva) i, produir un nou creixement en un lloc diferent a l'inicial (metàstasi) i danyar altres òrgans.^{1,2}

La carcinogènesis pot durar anys i es genera mitjançant un procés de tres fases que consisteix en iniciació, promoció i progressió (**Figura 1**). Les substàncies responsables

¹ <http://cancer.org> (Data: 06/08/2018)

² <https://cancerresearch.org> (Data: 06/08/2018)

de produir aquesta transformació es denominen agents carcinògens. Un exemple conegut d'aquests són les radiacions ultraviolades del sol.³

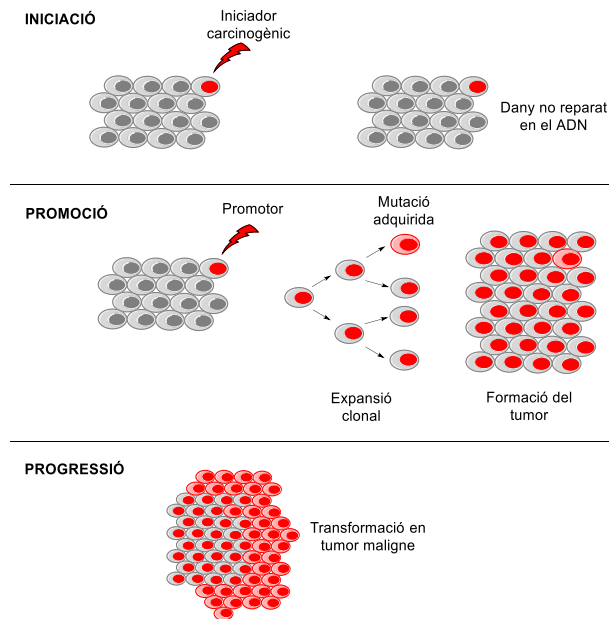


Figura 1. Etapes de la carcinogènesi⁴

La primera fase comença quan aquests agents actuen sobre la cèl·lula alterant el seu material genètic (fase d'iniciació tumoral), donant lloc a allò que es coneix com a mutació. Una primera mutació no és suficient per a que es generi un càncer, però si és una condició indispensable. Com a resultat, les cèl·lules danyades (cèl·lules iniciades) transmeten la mutació als seus descendents. Aquesta alteració produïda és irreversible.

Un cop la cèl·lula ha patit una mutació, aquesta és susceptible als efectes dels promotors. Aquests compostos promouen la proliferació cel·lular (fase de promoció), donant lloc a un gran nombre de cèl·lules filles que contenen la mutació de la cèl·lula mare i, la conseqüent formació del tumor. Si sobre les cèl·lules iniciades actuen de nou i de forma repetida els agents carcinògens, la probabilitat de que es produeixin noves mutacions augmenta. Les cèl·lules involucrades en aquesta fase es denominen cèl·lules promocionades.

Les cèl·lules iniciades o promocionades pateixen noves mutacions. Cada vegada es tornen més anòmales i adquireixen la capacitat d'invasió, ja sigui infiltrant els teixits del voltant o donant lloc a metàstasi (fase de progressió).^{5,6}

³ S. E. Mancebo, S. Q. Wang, *Rev. Environ. Health.* **2014**, 29, 265-273

⁴ J. J. Centelles. *ISRN Oncol.* **2012**. Review Article. <http://dx.doi.org/10.5402/2012/139268>

⁵ <https://www.cancerquest.org> (Data: 06/08/2018)

⁶ <http://www.aecc.es> (Data: 06/08/2018)

El càncer es pot classificar tenint en compte diferents criteris, com el teixit o òrgan en el que s'ha originat o tipus de teixit que afecta, entre d'altres.

Des d'una perspectiva estricta es poden definir tants tipus de càncer com malalts, cadascun amb les seves alteracions moleculars i cel·lulars específiques, però de forma sintètica s'agrupen pel teixit on s'origina la malaltia:^{5,7}

- Carcinoma. Quan l'origen de les cèl·lules cancerígenes es correspon amb teixits epitelials. Aquests formen part de la pell i superfície dels òrgans interns i constitueix el grup més nombrós. Es considera que aproximadament el 80% del total dels càncers pertanyen a aquest grup.
- Sarcoma. Quan es formen a partir de teixits connectius que conformen els músculs, ossos, cartílags, vasos sanguinis i limfàtics, teixit adipós o altres teixits de suport o connectius. Dintre d'aquest tipus es troba l'osteosarcoma (càncer d'os) com el més freqüent.
- Leucèmia. S'originen en la medul·la òssia, que és el teixit encarregat de mantenir la producció de glòbuls blancs, vermells i plaquetes. Aquests no formen tumors sòlids sinó un cúmul de cèl·lules leucèmiques i blastòcits leucèmics (glòbuls blancs immadurs) en sang i medul·la òssia, que desplacen els glòbuls normals de la sang.
- Limfoma. Es desenvolupa a partir del teixit limfàtic, com ganglis i òrgans limfàtics (específicament melsa, amígdales i timus). Afecta als limfòcits (cèl·lules T o cèl·lules B), els encarregats de combatre infeccions.
- Mieloma múltiple o mieloma de cèl·lules plasmàtiques o malaltia de Kahler. S'origina en les cèl·lules plasmàtiques de la medul·la òssia. Aquestes cèl·lules del sistema immunitari anòmales s'acumulen en la medul·la òssia, generant tumors en ossos.
- Melanoma. S'origina en els melanòcits (cèl·lules productores de melanina). Tot i que la majoria es donen en la pell, poder formar-se també en altres teixits pigmentats, com ulls.
- Tumors de cervell i medul·la espinal. S'anomenen segons el tipus de cèl·lula que afecta i el lloc del sistema nerviós on es forma primerament.

⁷ <https://www.seom.org> (Data: 09/08/2018)

1.1.2. Etiologia i factors de risc

Alguns factors són capaços d'originar càncer en un elevat percentatge d'individus exposats a ells. Contínuament es realitzen estudis de com aquests diferents factors poden interactuar d'una manera multifactorial i seqüencial per produir càncer.⁸

El càncer, com s'ha esmentat anteriorment, és un procés genètic. Les alteracions genètiques poden ser heretades o produïdes per virus, substàncies químiques i factors ambientals o, per la fisiopatologia de la persona.⁹ A continuació, s'exposen els factors de risc que poden contribuir a l'aparició del càncer:

Caràcter hereditari. Es calcula que al voltant d'un 5-10% dels càncers tenen un origen hereditari, degut a la transmissió dels gens anòmals de pares a fills.⁷ Alguns exemples són el càncer de mama o de còlon, aquest últim més freqüent en famílies amb tendència a presentar pòlips.¹⁰

Substàncies químiques. Existeixen una gran varietat de substàncies cancerígenes, moltes d'elles associades a l'àmbit laboral i l'estil de vida i, relacionades amb el risc de patir determinats càncers.¹¹

La brea del quitrà d'hulla i els seus derivats es consideren altament cancerígens. Els seus vapors en algunes indústries s'associen amb una elevada incidència de càncer de pulmó entre els treballadors. Avui dia es coneix que el benzopirè (substància química present en el carbó) provoca càncer de pell en persones que tenen treballs relacionats amb la combustió del carbó. L'arsènic es relaciona amb càncer de pulmó, doncs treballadors de mines de coure i cobalt, de fusions i fàbriques d'insecticides, presenten una incidència d'aquest tipus de càncer més elevada. El refinament de níquel, i treball amb cuir i fusta, també han sigut associats amb un augment del risc de patir càncers específics causats per exposició crònica a químics cancerígens. L'exposició al gas mostassa, utilitzat com agent químic de guerra en la Primera Guerra Mundial ha estat associat a un risc més elevat de càncer del tracte respiratori i pulmonar, degut a les seves propietats mutagèniques.¹²

L'exposició crònica a l'aflatoxina, una substància produïda pel fong *Aspergillus flavus*, augmenta el risc de patir càncer de fetge, en concret el carcinoma hepatocel·lular o

⁸ D. C. Whiteman, L. F. Wilson. *Cancer Epidemiol.* **2016**, *44*, 203-221

⁹ P. Arnand, A. B. Kunnumakkara, C. Sundaram, K. B. Harikumar, S. T. Tharakan, O. S. Lai, B. Sung, B.B. Aggarwal. *Pharm. Res.* **2008**, *25*, 2097-2116

¹⁰ A. K. Rustgi. *Genes Dev.* **2007**, *21*, 2525-2538

¹¹ <https://cancer.gov> (Data: 07/08/2018)

¹² K. Kehe, L. Szinicz. *Toxicol.* **2005**, *214*, 198-209

CHC, en aquelles persones que ingereixen aliments contaminats.¹³ S'ha trobat que en països on la contaminació d'aliments per fongs és habitual, la incidència de càncer de fetge i estómac també és elevada.

El tabac és un altre agent cancerigen i la major causa prevenible de mortalitat. Conté un dels carcinògens més potents en humans, el benzopirè, que es troba al fum del tabac. De fet, el quitrà en el fum del tabac inclou tant iniciadors com promotors, fent-lo especialment perillós. S'ha determinat que aproximadament el 85% dels càncers de pulmó són resultat del tabac.¹⁴

L'alcohol és també un important promotor, on l'abús crònic incrementa de manera important el risc de càncers induïts per altres agents.⁹

Radiacions. L'exposició a les radiacions ionitzants constitueixen en l'actualitat un dels factors més relacionats amb el risc de patir càncer. La radiació actua com un iniciador de la carcinogènesi, induint alteracions en l'ADN (trencament o transposicions cromosòmiques) que progressen fins convertir-se en càncer després d'un període de latència d'anys.¹⁵ En el cas dels raigs ultraviolats del sol i els raigs X, augmenten la propensió a patir càncer de pell i leucèmia.¹⁶

Infeccions o virus. Existeixen cada vegada més evidències de que algunes infeccions poden induir càncer i, en concret, aquelles relacionades amb els càncers que apareixen en malalts de SIDA.^{9,17} Les infeccions retrovirals, de fet, són les responsables del 15-20% del càncer en tot el món.¹⁸

S'ha relacionat el bacteri *Helicobacter pylori* amb el desenvolupament del limfoma en el teixit limfoide associat a mucoses (MALT) i el càncer d'estómac. Nombrosos estudis demostren que persones infectades amb aquest bacteri tenen quatre vegades més probabilitat de desenvolupar aquest tipus de càncer.^{19,20}

Investigacions recents suggereixen que la microbiota intestinal d'una persona pot influir sobre el risc de patir càncer de còlon. Això es relaciona amb la microbiota disbiòtica,

¹³ D. Benford, J. C. Leblanc, R. W. Setzer, *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 34-41

¹⁴ S. S. Hecht. *Int. J. Cancer* **2012**, *131*, 2724-2732

¹⁵ N. McColl, A. Auvinen, A. Kesminiene, C. Espina, F. Erdmann, E. Vries, R. Greinert, J. Harrison, J. Schüz. *Cancer Epidemiol.* **2015**, *39*, 93-100

¹⁶ R. Greinert, E. Vries, F. Erdmann, C. Espina, A. Auvinen, A. Kesminiene, J. Schüz. *Cancer Epidemiol.* **2015**, *39*, 75-83

¹⁷ D. M. Parkin. *Br. J. Cancer* **2011**, *105*, 49-56

¹⁸ M. Braoudaki, F. Tzortzatou-Stathopoulou. *J. Infect. Dev. Ctries.* **2011**, *5*, 751-758

¹⁹ M. Selgrad, P. Malfertheiner, L. Fini, A. Goel, C. R. Boland, L. Ricciardiello. *J. Cell Physiol.* **2008**, *216*, 378-388

²⁰ T. Shimizu, T. Chiba, H. Marusawa. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **2017**, *400*, 305-302

també present en malalties intestinals inflamatòries com la malaltia de Crohn o la colitis ulcerosa.²¹

Una altre font de mutacions, a part dels químics i radiacions, són els virus. Aquests, poden causar danys en l'ADN cel·lular, per inserció del seu genoma en l'ADN de la cèl·lula, o alterar la regulació, augmentant la proliferació cel·lular i inhibint els sistemes normals que prevenen la divisió cel·lular. Els virus es divideixen en dos categories, ADN o ARN, segons el seu material genètic. Ambdós grups estan associats a diferents tipus de càncer. En les persones, el virus del papil·loma humà (VPH) s'associa amb un major risc de patir càncer de cèrvix.²² El virus limfotrópic humà (HTLV-1), en aquest cas un virus d'ARN, provoca leucèmia de cèl·lules T de l'adult, a través de l'estimulació de la proliferació de les cèl·lules T infectades.²³

El virus d'Epstein-Barr (VEB) s'associa amb el limfoma de Burkitt i limfoepiteliomes. Aquest, augmenta la proliferació cel·lular i protegeix les cèl·lules infectades de l'apoptosi.²⁴ Alguns virus, com el virus de l'hepatitis B, també tenen accions indirectes en el desenvolupament del càncer. L'hepatitis B causa danys al fetge, que poden comportar un augment en la divisió cel·lular i produeixen inflamació, promovent potencialment el creixement de tumors. El virus de la immunodeficiència humana (VIH) redueix la funció del sistema immune fent els pacients susceptibles de patir infeccions per Herpesvirus humà 8 (HHV8), un factor de risc per al Sarcoma de Kaposi.²⁵

Inflamació crònica. En la inflamació, l'activitat de les cèl·lules implicades en el sistema immune (leucòcits), així com la producció de proteïnes moduladores (citocines i quimiocines), l'estimulació del creixement dels vasos sanguinis (angiogènesi) i la remodelació del teixit, afavoreixen el desenvolupament del càncer. En aquest procés, també s'activen factors de transcripció i macròfags associats a tumors que indueixen la carcinogènesi, progressió i posterior metàstasi. A més, les cèl·lules immunes, degut a la seva activitat, generen radicals d'oxigen que poden causar mutacions de l'ADN.²⁶

Existeixen diferents tipus de càncer associats a la inflamació crònica, com és el cas del càncer de còlon, relacionat amb malaltia inflamatòria intestinal o el càncer de fetge, relacionat amb l'hepatitis C.

²¹ Y. Zhu, T. M. Luo, C. Jobin, H. A. Young. *Cancer Lett.* **2011**, 309, 119-127

²² M. E. McLaughlin- Drubin, J. Meyers, K. Munger. *Curr. Opin. Virol.* **2012**, 2, 459-466

²³ R. C. Gallo. *Best. Pract. Res. Clin. Haematol.* **2011**, 24, 559-565

²⁴ K. M. Shah, L. S. Young. *Clin. Microbiol. Infect.* **2009**, 15, 982-988

²⁵ E. Boccardo, L. L. Villa. *Curr. Med. Chem.* **2007**, 14, 2526-2539

²⁶ P. Allavena, C. Garlanda, M. G. Borrello, A. Sica, A. Mantovani. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2008**, 18, 3-10

Obesitat. Igual que passa amb la inflamació, existeix una correlació entre l'obesitat i el càncer.²⁷ Aquest fet s'explica per l'alliberació d'una sèrie de substàncies que afavoreixen el procés cancerós: la leptina, que és l'hormona encarregada de regular la gana, en persones obeses dóna certa resistència. Aquesta ha demostrat tenir un efecte d'activació de la divisió cel·lular, produint una proliferació cel·lular excessiva;²⁸ la Interleucina-6 (IL-6), citocina inflamatòria que es troba en majors concentracions en persones amb obesitat. S'ha demostrat que aquesta citocina activa una seqüència implicada en el creixement i la supervivència dels tumors;^{29,30} la proteïna quimioattractant de monòcits (MCP-1), quimiocina implicada en la inflamació. La seva expressió està associada a l'angiogènesi i progressió de tumors;³¹ i el factor de necrosi tumoral alfa (TNF- α), citocina que contribueix a la resistència a la insulina i activació del factor de transcripció NF-kB, implicat també en la inflamació i que dóna lloc a l'expressió de gens que permeten la supervivència i promouen la migració i invasió del tumor.^{32,33}

També es relaciona l'obesitat amb un augment en l'activitat de l'enzim aromatasa, encarregat de la producció d'estrògens a partir d'andrògens.³⁴ L'activitat pot estar incrementada per les citocines anteriorment esmentades i la leptina i, la seva expressió induïda per la prostaglandina E2 (PGE2). Aquesta molècula inflamatòria es troba també augmentada en l'obesitat i és secretada per les mateixes cèl·lules tumorals, macròfags i adipòcits i, controlada per la COX-2, que també es troba en majors quantitats. La PGE2, al interactuar amb les cèl·lules, activa seqüències que promouen la divisió, invasió, angiogènesi i immunosupressió.³⁵

Així mateix, hormones com l'adiponectina, amb una funció protectora enfront de processos tumorals, es troba en nivells relativament baixos en l'obesitat.³⁶

²⁷ A. E. Harvey, L. M. Lashinger, S. D. Hursting. *Ann. NY Acad. Sci.* **2011**, 1229, 45-52

²⁸ I. Vucenik, J. P. Stains, *Ann. NY Acad. Sci.* **2012**, 1271,37-43

²⁹ J. Mauer, J. L. Denson, J. C. Brüning. *Trends Immunol.* **2015**, 36, 92-101

³⁰ S. Ghosh, K. Ashcraft. *Front. Biosci. (Elite Ed).* **2013**, 5, 461-478

³¹ H. Fujimoto, T. Sangai, G. Ishii, A. Ikehara, T. Nagashima, M. Miyazaki, A. Ochiai. *Int. J. Cancer* **2009**, 125, 1276-1284

³² M. Al-Kalbani, I. Burney. *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* **2014**, 14, 294-296

³³ Y. Wu, B. P. Zhou. *Br. J. Cancer* **2010**, 102, 639-644

³⁴ X. Wang, E. R. Simpson, K. A. Brown. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2015**, 153, 35-44

³⁵ D. Wang, R. N. Dubois. *Gut.* **2006**, 55, 115-122

³⁶ N. K. Saxena, D. Sharma, *Cell. Adh. Migr.* **2010**, 4, 358-362

1.1.3. Fisiopatologia

Per a que es produeixi un càncer és necessari que de forma acumulativa i continuada es produeixin alteracions en el material genètic cel·lular. Aquestes alteracions tendeixen a afectar a tres tipus de gens:^{5,4}

- Proto-oncogens: gens cel·lulars encarregats de codificar proteïnes que intervenen en diferents funcions cel·lulars, com el creixement i la divisió cel·lular. Una alteració en aquests gens poden esdevenir oncogens, que poden provocar una pèrdua de la regulació, o un augment de l'activitat o concentració de determinades proteïnes. Això es tradueix en una acceleració de la proliferació cel·lular, inestabilitat genètica, impediment de l'apoptosi i promoció de la metastasi. Alguns exemples de proto-oncogens són RAS, HER i WNT.
- Gens supressors de tumors: família de gens que codifiquen proteïnes que controlen la proliferació cel·lular. Quan aquests gens estan mutats, les cèl·lules no poden respondre normalment als punts de control del cicle cel·lular o són incapaces de realitzar la mort cel·lular programada si el dany en l'ADN és massa important. Un exemple de gen supressor tumoral és la TP53.
- Gens reparadors de l'ADN: existeixen més de 130 gens implicats en la reparació de l'ADN alterat. Els defectes en la reparació de l'ADN permeten l'acumulació de mutacions i poden provocar la inactivació de supressors tumorals o l'activació d'oncogens. Els principals gens de reparació d'ADN són MSH2, MSH3, MSH6, MLH1, BLM i PMS2.

1.1.4. Epidemiologia

El càncer és una de les principals causes de morbiditat i la segona causa de mort a nivell global. Segons les últimes dades publicades per l'Agència Internacional per a la Investigació del Càncer (IARC), en 2018 es van diagnosticar aproximadament uns 18,1 milions de casos nous i es van comptabilitzar un total de 9,6 milions de morts degut a aquesta malaltia.³⁷ Les previsions no són molt afavoridores, estimant-se un augment del 63,1% en la incidència en les pròximes dècades, arribant als 29,5 milions de nous casos, aproximadament, a l'any 2040 (**Figura 2**).⁷

³⁷ <http://who.int> (Data: 10/04/2019)

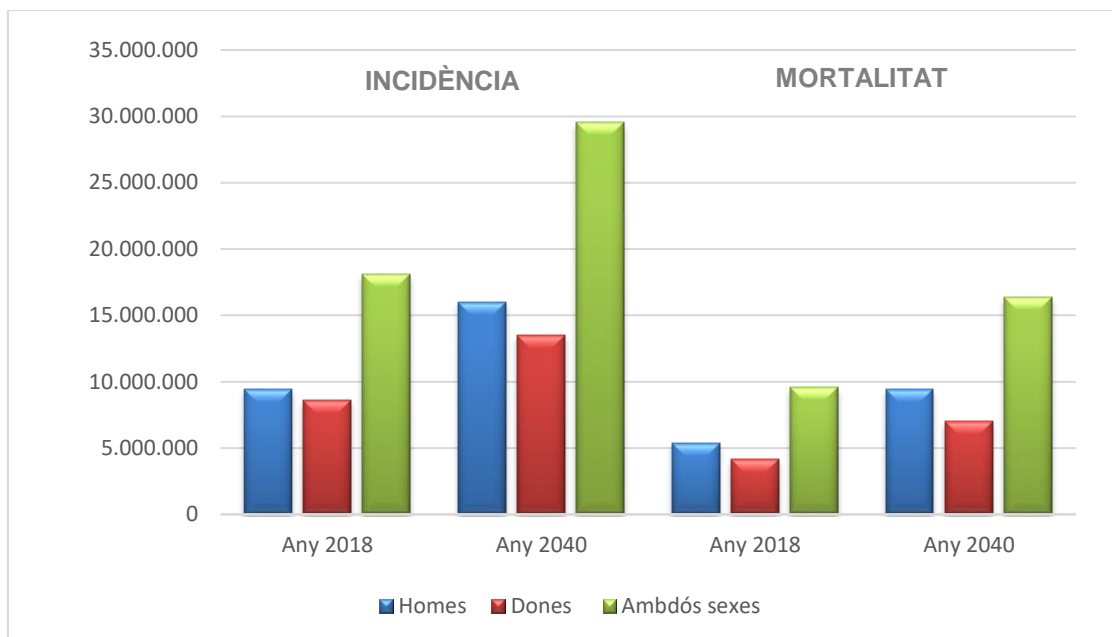


Figura 2. Estimació del número de casos nous i mortalitat per tumors en la població mundial per als anys 2018 i 2040³⁸

Els tumors més freqüents a nivell mundial van ser els de pulmó, mama, colorectal, pròstata i estómac a l'any 2018 (**Figura 3**).³⁸

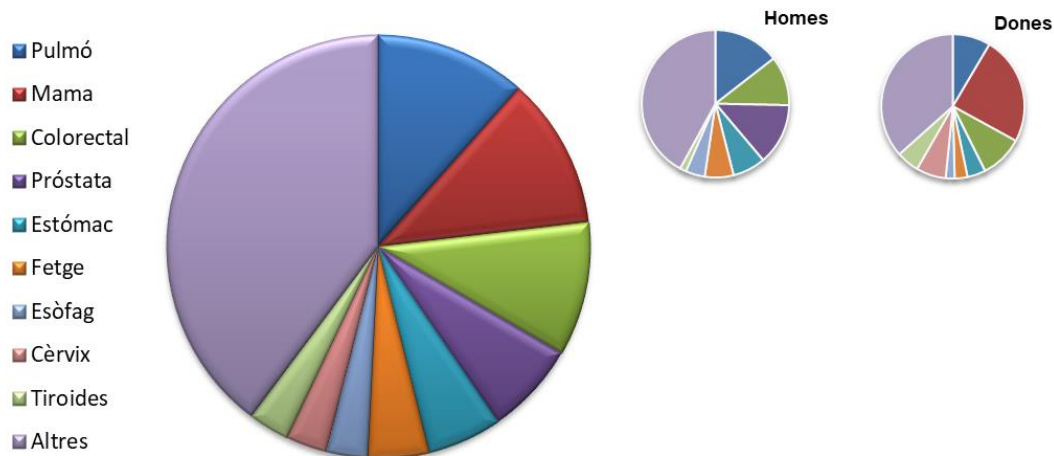


Figura 3. Incidència estimada dels tumors més freqüents a l'any 2018 a nivell mundial³⁸

Els tumors responsables del major número de morts a nivell mundial l'any 2018 van ser el càncer de pulmó, càncer colorectal, càncer d'estómac, càncer de fetge i càncer de mama (**Figura 4**).⁷

³⁸ <https://gco.iarc.fr> (Data: 10/04/2019)

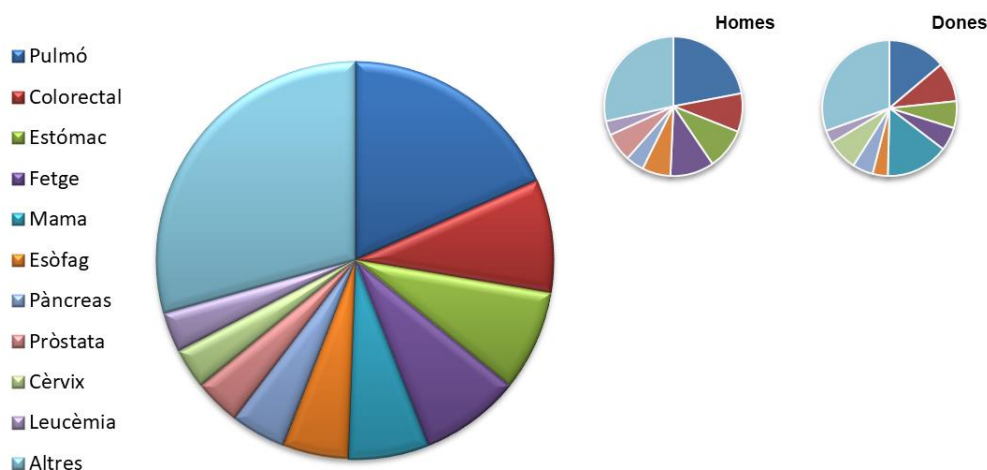


Figura 4. Mortalitat estimada pels tumors més freqüents a nivell mundial a l'any 2018⁷

Espanya

A Espanya el càncer és també una causa fonamental de mortalitat, ja que d'acord amb les dades de l'INE en l'any 2017, un 26,7% de les morts van ser causades per tumors, atorgant al càncer la segona posició en causes de mortalitat amb 113.266 defuncions. Aquestes, que s'han mantingut estables respecte l'any anterior, es troben només al darrere de les produïdes per malalties del sistema circulatori, que van ocasionar 122.465 morts aquell mateix any (**Taula 1**).^{7,39}

Taula 1. Defuncions segons les principals causes de mort al 2017. S'indiquen les defuncions en número i el percentatge que representen de cada sexe³⁹

	Total	Dones	Homes
Totes les causes	424.523	210.287 (49,5%)	214.236 (50,5%)
Malalties del sistema circulatori	122.465	66.286 (54,1%)	56.179 (45,9%)
Tumors	113.266	44.758 (39,5%)	68.508 (60,5%)
Malalties del sistema respiratori	51.615	23.338 (45,2%)	28.277 (54,8%)
Malalties del sistema nerviós i dels òrgans dels sentits	26.345	16.201 (61,5%)	10.144 (38,5%)
Trastorns mentals i del comportament	21.722	14.314 (65,9%)	7.408 (34,1%)

³⁹ <https://ine.es> (Data: 11/04/2019)

Es troben diferències significatives en la mortalitat en quant als diferents sexes. Del total de defuncions, els tumors representen un 32% en homes, considerant-se la primera causa de mort en aquest gènere, i un 21,3% en les dones, on es situaria com la segona causa de mort més freqüent, darrere les malalties cardiovasculars. Així bé, també es troben diferències entre les diverses comunitats que conformen l'Estat Espanyol, trobant-se una major taxa estandarditzada de defuncions en Aragó, Extremadura, Galícia, Astúries i Cantàbria.⁴⁰

A nivell socioeconòmic, l'impacte del càncer s'estima en 7.168 milions d'euros, que representa un 10,93% del total de la despesa sanitària pública.⁴¹

En els últims 20 anys, el número de tumors ha experimentat un creixement constant a Espanya a causa de l'augment poblacional i, de la millora de les tècniques de detecció precoç i augment de l'esperança de vida (factor de risc fonamental en el desenvolupament de tumors, degut a l'acumulació en l'exposició als factors de risc i a una tendència a presentar mecanismes de reparació cel·lular insuficients). Les prediccions poblacionals indiquen que la mortalitat associada a tumors per a l'any 2040 ascendirà a 168.063.^{7,40}

També a Espanya el càncer és una de les principals causes de morbiditat, amb 270.363 casos estimats per a l'any 2018, 277.234 estimats que s'assoliran al finalitzar aquest any 2019 i una previsió de 370.913 casos per a l'any 2040 (**Figura 5**).⁷

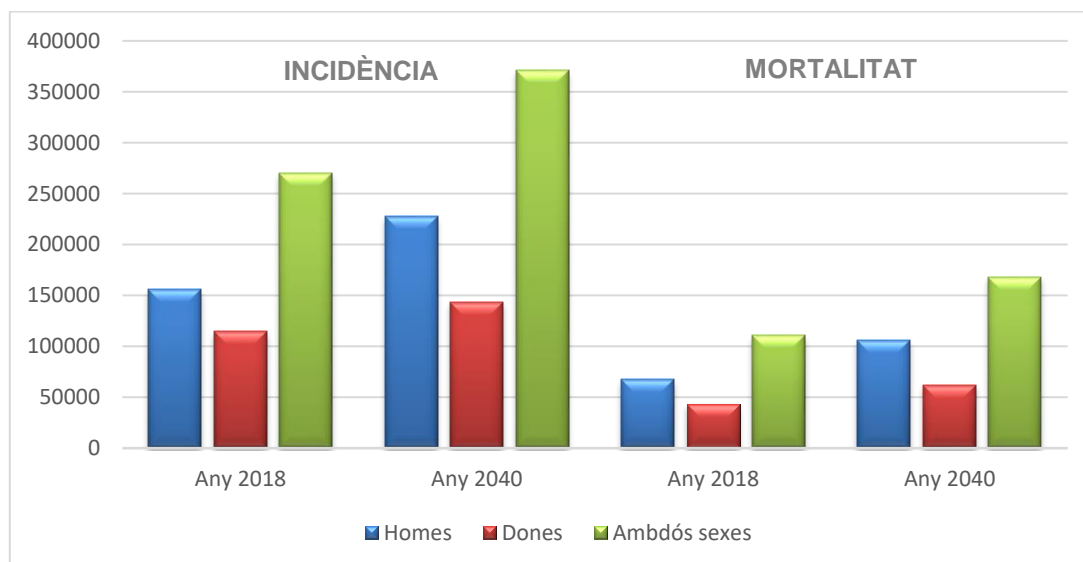


Figura 5. Estimació del número de nous casos i mortalitat per tumors a Espanya per als anys 2018 i 2040⁷

⁴⁰ <http://observatorio.aecc.es> (Data: 11/04/2019)

⁴¹ <https://www.omakaseconsulting.com> (Data: 11/08/2018)

Els tumors més freqüents diagnosticats a Espanya en l'any 2017 van ser els colorectals, pròstata, pulmó, mama, bufeta i estómac. El càncer de tràquea, bronquis i pulmó correspon al tipus de càncer amb una major mortalitat. Aquest, ocuparia la segona causa de mort en homes, desena en dones i tercera causa general en ambdós sexes amb un total de 22.121 morts provocades al 2017.⁷

A continuació, es mostren les defuncions més freqüents per tipus de càncer, ordenades per número de persones afectades i sexe (**Taula 2**).⁷

Taula 2. Defuncions més freqüents per càncer. S'indiquen els percentatges sobre defuncions per càncer i número total de defuncions per a l'any 2017⁷

	Homes	Dones	Ambdós sexes
1	Tràquea, bronquis i pulmó (25,2%)	Mama (14,5%)	Tràquea, bronquis i pulmó (22.121)
2	Còlon (13,3%)	Còlon (14,1%)	Còlon (15.410)
3	Pròstata (8,7%)	Tràquea, bronquis i pulmó (10,8%)	Pàncrees (6.868)
4	Bufeta (5,4%)	Pàncrees (7,3%)	Mama (6.573)
5	Pàncrees (5,2%)	Teixit limfàtic dels òrgans hematopoètics i teixits afins (excepte leucèmia) (5,4%)	Pròstata (5.938)

Pel que fa referència a les dades d'incidència estimades, els tumors més freqüents que seran diagnosticats aquest any 2019 són els colorectals, pròstata, mama, pulmó i bufeta. Si bé, aquests no afecten de la mateixa manera a homes i dones, mostrant diferències en la seva distribució (**Figura 6**).⁷

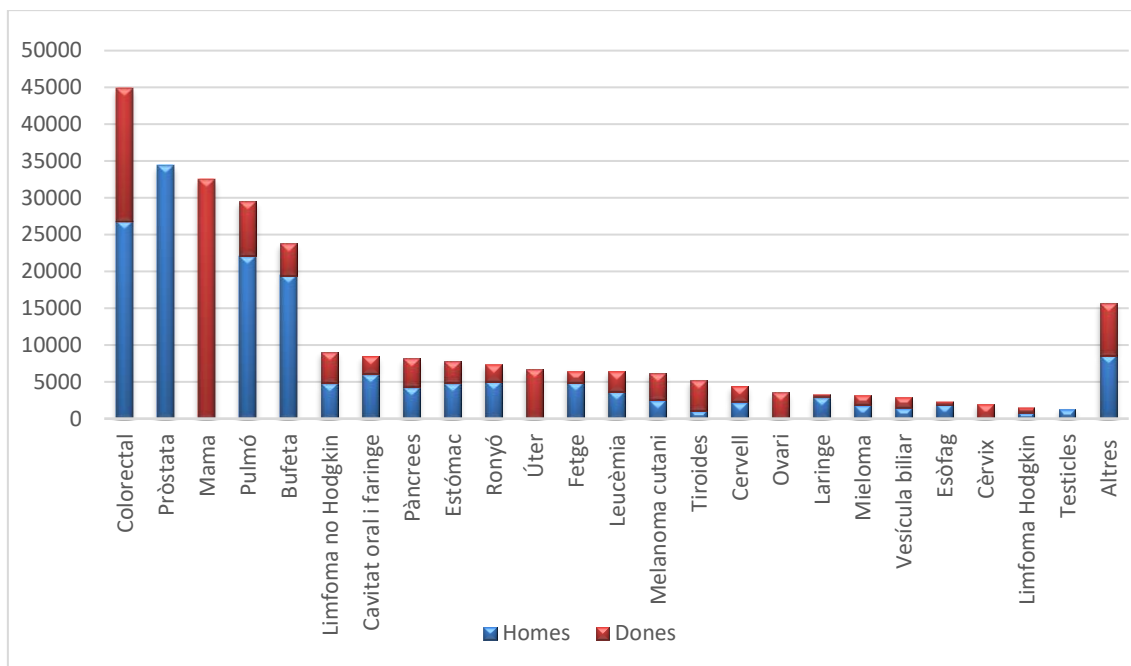


Figura 6. Incidència estimada dels tumors més freqüents a Espanya a l'any 2019 per ambdós sexes⁷

Cal destacar una important disminució del càncer d'estómac a Espanya en aquests últims anys, relacionat principalment amb la reducció en la incidència d'infeccions per *Helicobacter pylori*, que com hem vist anteriorment, és un factor de risc associat a aquesta malaltia.

Si es fragmenta la incidència dels diferents tumors per sexe, s'estima que els tumors més freqüentment diagnosticats en homes a Espanya en aquest 2019 seran els de pròstata, colorectals, pulmó, bufeta i de la cavitat oral i faringe. D'altra banda, en dones s'observa una major incidència en els càncers d'òrgans implicats en la reproducció, trobant el càncer de mama i úter entre els 5 més freqüents, conjuntament amb el càncer colorectal (segona posició), i els relacionats amb l'augment de consum de tabac, com és el càncer de pulmó i de bufeta (en la tercera i cinquena posició, respectivament).

Els tumors responsables del major número de morts en 2017 a Espanya, en la població general, van ser el càncer de pulmó (22.121 morts) i el càncer colorectal (15.410 morts), seguits del càncer de pàncrees (6.868 morts), de mama (6.573 morts) i de pròstata (5.938 morts) (**Figura 7**).⁷

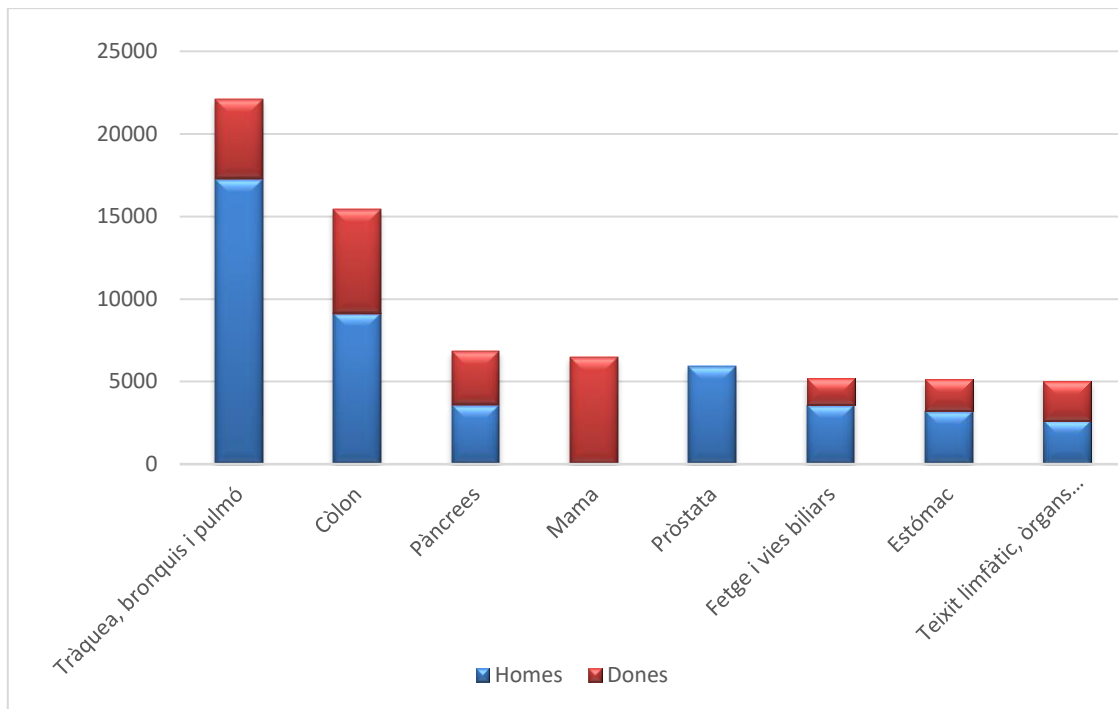


Figura 7. Mortalitat per tumors en la població general a Espanya a l'any 2017 per ambdós sexes⁷

1.1.5. Tractament

El tractament del càncer és multidisciplinari, és a dir, les diferents modalitats es combinen per proporcionar el pla de tractament més adequat que permeti augmentar les possibilitats de curació.

Generalment, com els tractaments són complexos, es segueixen uns protocols que garanteixen que es rebi el tractament més segur i eficaç per combatre la malaltia. Aquests protocols es desenvolupen mitjançant assajos clínics i s'empren de forma generalitzada en tots els hospitals. A més, recullen les indicacions o limitacions del tractament en funció de les característiques del tumor (tipus, localització, mida i la possible afectació de ganglis o òrgans), així com també les característiques del pacient (edat, estat de salut i altres possibles malalties).⁶

Els principals tipus de tractament són la cirurgia, radioteràpia i quimioteràpia. Tot i que també es poden administrar altres tipus de teràpia específiques per a alguns tumors, com la hormonoteràpia, immunoteràpia, transplantament de cèl·lules mare i teràpia dirigida, entre d'altres.

1.1.5.1. Cirurgia

La cirurgia és, per norma general, el tractament d'elecció. La cirurgia s'utilitza per prevenir, tractar, diagnosticar i determinar l'etapa del càncer. També és àmpliament utilitzada per pal·liar les molèsties o problemes que puguin sorgir derivats del càncer i, per restaurar l'aparença i funció de l'òrgan afectat després de la realització del tractament quirúrgic.⁴²

1.1.5.2. Radioteràpia

La radioteràpia és un dels tractaments més comuns contra el càncer, utilitzant-se gairebé en la meitat dels pacients. Pot utilitzar-se com a tractament únic o associada a altres teràpies. Aquest mètode, utilitza partícules o ones d'elevada energia per destruir les cèl·lules canceroses a través del dany en el seu material genètic. El teixit normal també pot ser afectat, però, a diferència de les cèl·lules canceroses, té una major capacitat de reparació, fet que determina un major èxit en la destrucció del tumor.

Els objectius que busca la radioteràpia es resumeixen a continuació:

- Curar o reduir la mida d'un càncer en etapa inicial. Alguns tipus de càncer són molt sensibles a la radiació, motiu pel qual es pot utilitzar la radiació per reduir la mida o inclús per fer-lo desaparèixer. En altres casos, s'utilitza per reduir la mida del tumor abans d'una cirurgia (teràpia preoperatòria o neoadjuvant) o després de la cirurgia per evitar un retorn (teràpia adjuvant).

Per a alguns tipus de càncer, la radiació i la quimioteràpia poden utilitzar-se conjuntament. Alguns medicaments són radiosensibilitzants, fent que les cèl·lules siguin més sensibles a les radiacions i augmentant així l'eficàcia del tractament.

- Evitar la recurrència. El càncer es pot propagar a altres parts del cos produint metàstasi. De manera profilàctica es pot irradiar aquella àrea on el càncer s'estén amb major freqüència.
- Tractar símptomes causats pel càncer avançat. S'utilitza per reduir la mida de tumors que no poden ser tractats, per alleujar problemes (radiació pal·liativa).

⁴² <https://www.msdmanuals.com> (Data: 13/08/2018)

Existeixen tres tipus de radiació, utilitzades en funció del tipus de càncer i lloc on es localitza: La radioteràpia externa, l'internal o braquiteràpia i la sistèmica.¹

Com el seu nom indica, la radioteràpia externa utilitza raigs d'elevada energia dirigits cap al tumor, que s'emeten des de fora del cos. És el tipus de radiació més emprada en el tractament del càncer. En la radioteràpia interna o braquiteràpia, les radiacions s'apliquen a través d'un implant inserit en el cos, dins o a prop del tumor. L'avantatge que presenta respecte l'anterior és que permet concentrar una major dosi de radiació en una àrea més petita, reduint el nombre de cèl·lules normals afectades per aquesta. La radioteràpia sistèmica, d'altra banda, empra radiofàrmacs (medicaments radioactius formats per iode radioactiu, estronci, samari o radi) que són administrats per via oral o intravenosa. A vegades, aquests estan lligats a anticossos monoclonals que són capaços de reconèixer les cèl·lules canceroses i unir-se, per ser eliminades mitjançant les radiacions. Aquesta tècnica s'utilitza per tractar alguns tipus de càncer, com el càncer de tiroides, os i pròstata.

1.1.5.3. Quimioteràpia^{1,7,43,44}

La quimioteràpia és una de les teràpies més emprades en el tractament del càncer, que engloba una gran varietat de fàrmacs. L'objectiu de la quimioteràpia és la destrucció i eliminació de les cèl·lules malignes que componen els tumors. Per aquest motiu, generalment, actuen en la fase de divisió cel·lular, impedit la multiplicació i induint la mort. Tanmateix, els fàrmacs existents no discriminen entre les cèl·lules normals i les cancerígenes, fet que ocasiona la destrucció de moltes cèl·lules normals sanes. És aquest el motiu pel qual amb major freqüència s'utilitzen esquemes de múltiples fàrmacs, que incorporen diferents mecanismes d'acció i efectes tòxics, per augmentar la destrucció de les cèl·lules tumorals, reduir la toxicitat relacionada amb la dosi i disminuir la probabilitat de resistències. Els fàrmacs emprats en aquest tipus de tractament se'ls anomena fàrmacs antineoplàstics o quimioteràpics.

En l'actualitat s'utilitzen més de 100 medicaments diferents en la quimioteràpia per al tractament del càncer. Tot i que no existeix un criteri clarament definit per a la seva classificació, tradicionalment s'han classificat en funció del nivell d'actuació dins del cicle cel·lular.⁴⁵ Tanmateix, aquesta classificació no és absoluta perquè alguns agents actuen per diversos mecanismes i d'altres, en canvi, es desconeixen. Podem diferenciar:

⁴³ Sociedad Española de Farmacéuticos De Hospitales (SEFH). *Medicamentos citostáticos*

⁴⁴ <https://medlineplus.gov> (Data: 13/08/2018)

⁴⁵ <https://mscbs.gob.es> (Data: 13/08/2018)

- Medicaments sense especificitat de fase: no actuen en una fase concreta sinó que poden alterar les funcions cel·lulars en qualsevol fase.
 - Específics del cicle: actuen sobre les cèl·lules en divisió (agents alquilants).
 - No específics del cicle: actuen sobre les cèl·lules en repòs (antibiòtics citotòxics, excepte *bleomicina*).
- Medicaments específics de fase: actuen en fases específiques, com la fase de síntesi d'ADN (antimetabòlits) o la fase de mitosi (alcaloides de la Vinca).

L'altra classificació que s'utilitza sovint és aquella que considera l'estructura química dels fàrmacs i el seu mecanisme d'acció (**Taula 3, Figura 8**).⁴⁶

Taula 3. Classificació dels agents quimioterapèutics més freqüents^{43,45,46}

FÀRMACS QUE ALTEREN L'ADN	AGENTS ALQUILANTS	Derivats de la mostassa	<i>Bendamustina</i> <i>Ciclofosfamida</i> <i>Clorambucil</i> <i>Ifosfamida</i> <i>Melfalan</i> <i>Trofosfamida</i> <i>Mecloretamina</i> <i>Estramustina</i>
		Nitrosourees	<i>Carmustina</i> <i>Lomustina</i> <i>Fotemustina</i> <i>Estreptozotocina</i>
		Etilenimines	<i>Tiotepa</i>
		Alquilsulfats	<i>Busulfan</i>
		Triazens	<i>Dacarbazina</i> <i>Procarbazina</i>
		Compostos de platí	<i>Cisplatí</i> <i>Carbolpatí</i> <i>Oxaliplatí</i>
		ANTIMETABÒLITS	Antagonistes de pirimidines

⁴⁶ <http://www.scias.com> (Data: 13/08/2018)

			<i>5-Azatidina</i> <i>5-Flourouracil</i> <i>Gemcitabina</i>
		Antagonistes de purines	<i>Tioguanina</i> <i>Azatioprina</i> <i>Mercaptopurina</i> <i>Cladribina</i> <i>Fludarabina</i> <i>Pentostatina</i>
		Inhibidors de l'àcid fòlic	<i>Metotrexat</i> <i>Trimetrexat</i> <i>Raltitrexed</i> <i>Permetrexed</i>
	ANTIBIÒTICS CITOSTÒXICS	Antraciclins	<i>Daunorubicina</i> <i>Doxorubicina</i> <i>Epirubicina</i> <i>Idarubicina</i> <i>Mitoxantrona</i> <i>Pirarubicina</i> <i>Amsacrina</i>
		Altres	<i>Bleomicina</i> <i>Mitomicina C</i> <i>Actinomicina D</i>
	INHIBIDORS DE LA TOPOISOMERASA	Epipodofilotoxines	<i>Tenipòsid</i> <i>Etopòsid</i>
		Camptotecines	<i>Irinotecan</i> <i>Topotecan</i>
	FÀRMACS QUE ES FIXEN A LA TUBULINA	Alcaloides de la Vinca	<i>Vinblastina</i> <i>Vincristina</i> <i>Vindesina</i> <i>Vinorelbina</i>
		Taxans	<i>Docetaxel</i> <i>Paclitaxel</i>
	ALTRES		<i>Hidroxiurea</i> <i>L-Asparraginas</i>

Agents alquilants

Els agents alquilants mostren gran afinitat per l'ADN i les proteïnes, als que addicionen els seus radicals altament reactius. Així, produeixen enllaços entre cadenes d'ADN i altres transformacions, impedit la seva replicació i transcripció. La seva acció té lloc en qualsevol fase del cicle cel·lular, tot i que mostren una major eficàcia durant la fase G₁ i S (creixement i síntesi d'ADN, respectivament).

S'utilitzen per tractar diversos tipus de càncers, com la malaltia de Hodgkin, altres limfomes, leucèmies, càncer de pulmó, mama, ovari i pròstata, així com el mieloma múltiple i el sarcoma.

Antimetabòlits⁴⁷

Actuen en la fase de síntesi del cicle cel·lular perquè interfereixen en la síntesi d'ADN i ARN. La majoria són anàlegs estructurals dels metabòlits que normalment intervenen en els processos de creixement i divisió, incorporant-se a les molècules d'ADN i ARN i transmetent missatges erronis. Altres, inhibeixen enzims específics necessaris per a la síntesi de compostos essencials. La seva eficàcia, en general, és màxima quan la proliferació cel·lular és ràpida. L'efecte antiproliferatiu inespecífic d'aquests fàrmacs es tradueix en efectes adversos sobre teixits i òrgans que fisiològicament presenten elevades taxes de reposició cel·lular, produint una important toxicitat hematològica (mielotoxicitat, anèmia i trombocitopènia).

S'utilitzen freqüentment per tractar leucèmies, càncer de mama i ovari, i càncers gastrointestinals.

Inhibidors de la mitosi

Exerceixen la seva acció citotòxica perquè al unir-se a la tubulina inhibeixen la mitosi. En aquest grup trobem els alcaloides de la Vinca, que inhibeixen la polimerització de la tubulina i, per tant, la formació del fus mitòtic, i els taxans, que inhibeixen la despolimerització de la tubulina, estabilitzant-la i fent-la poc funcional. Són actius en una determinada fase del cicle cel·lular, la fase M (mitosi), provocant l'aturada en metafase.

S'utilitzen principalment en leucèmies i limfomes, càncer de mama, ovari, testicle i alguns càncers de pulmó.

⁴⁷ <https://www.botplusweb.portalfarma.com> (Data: 14/08/2018)

Inhibidors de les topoisomerases

Diferenciem entre els inhibidors de la topoisomerasa I (*irinotecan* i *topotecan*) i els inhibidors de la topoisomerasa II (derivats de la *podofilotoxina* i antibiòtics antraciclínics).

S'utilitzen per tractar determinades leucèmies i limfomes, així com carcinomes colorectals, càncer de pulmó, mama, ovari i testicles.

Antibiòtics citotòxics

Són d'origen i estructura molt diversos, i el seu mecanisme d'acció també pot ser diferent: intercalació entre les cadenes d'ADN impedit la replicació, inhibició de la topoisomerasa, creació d'espècies reactives d'oxigen (ROS) i alteració de la membrana cel·lular. La majoria són inespecífics de fase, però mostren una màxima activitat sobre la fase S.

S'utilitzen en leucèmies i en la majoria de tumors sòlids, sempre en combinació amb altres fàrmacs antineoplàstics. S'ha de tenir en compte les dosis administrades, ja que dosis elevades poden produir cardiotoxicitat.

Altres

La *L-asparaginasa* trenca l'aminoàcid asparagina, de la que depenen les cèl·lules leucèmiques. És àmpliament utilitzada en el tractament de les leucèmies limfoblàstiques agudes.

La *hidroxiurea* inhibeix la ribonucleòtid reductasa. A més, és radiosensibilitzant, millorant els resultants en l'ús de radioteràpia. S'utilitza en el tractament de leucèmies mieloides cròniques i síndromes mieloproliferatius.

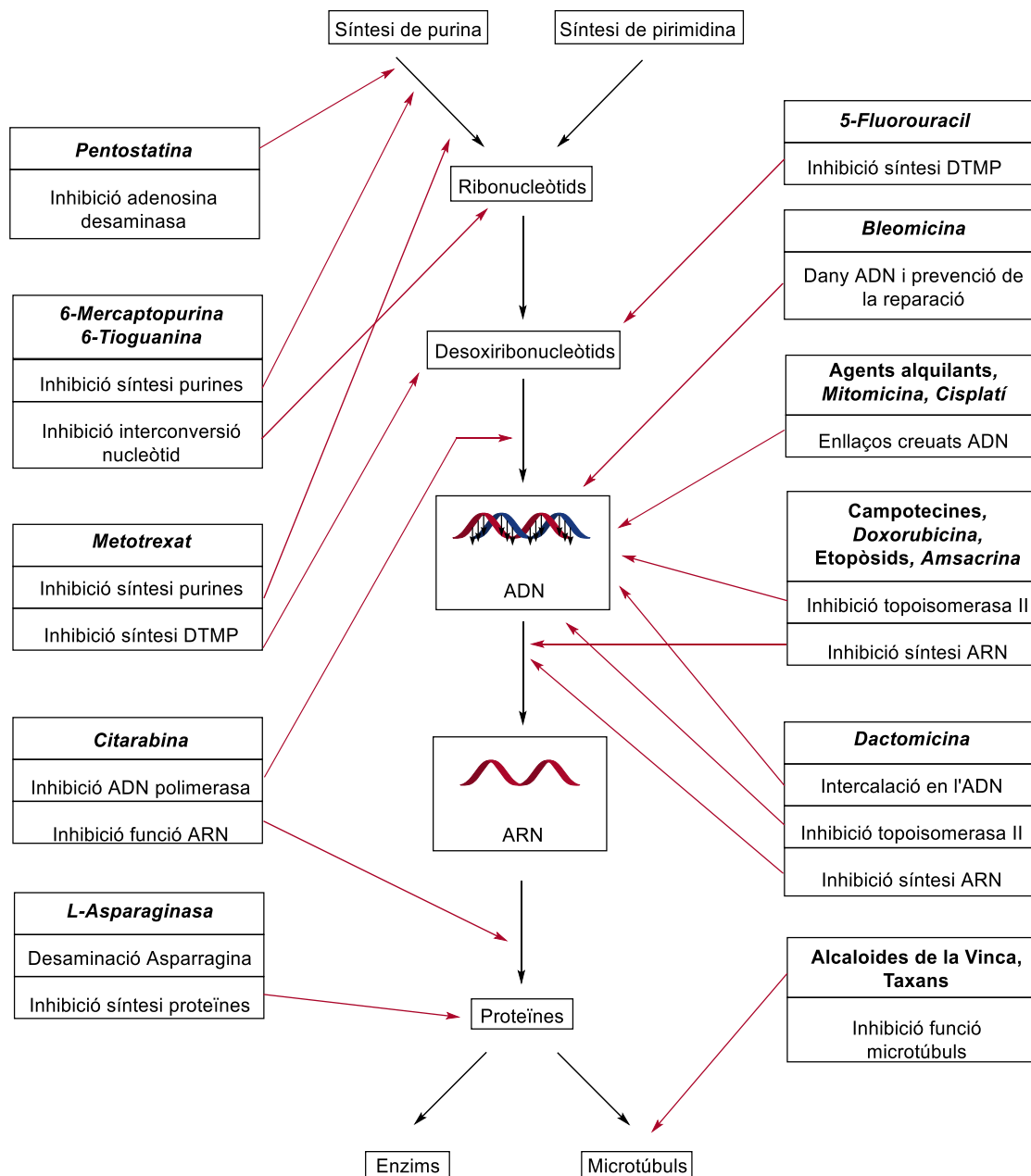


Figura 8. Mecanisme d'acció de diferents quimioteràpics

1.1.5.4. Hormonoteràpia

L'hormonoteràpia és una teràpia utilitzada per al tractament dels càncers hormona-dependents, que majoritàriament són aquells que es produeixen i progressen estimulats per les hormones sexuals. Tant la mama com la pròstata creixen i es desenvolupen al llarg de la vida degut a la influència d'aquestes hormones (estrògens i andrògens, respectivament), de manera que la inhibició de la secreció d'aquestes, implica, en la majoria dels casos, una disminució en el creixement dels tumors en aquests teixits.

Els medicaments que conformen aquest grup es consideren hormones sexuals o medicaments similars, que poden actuar com agonistes o antagonistes hormonals i que influeixen en l'evolució del càncer (**Taula 4**). Al igual que la resta de teràpies, pot usar-se sola o en combinació amb altres modalitats de tractament.

Taula 4. Classificació dels fàrmacs més freqüents utilitzats en hormonoteràpia^{1,42,44}

Glucocorticoides		<i>Prednisona</i> <i>Dexametasona</i> <i>Metilprednisolona</i>
Antiestrògens	Antagonistes	<i>Tamoxifè</i> <i>Raloxifè</i> <i>Fulvestrant</i>
	Inhibidors de l'aromatasa	<i>Anastrozole</i> <i>Letrozole</i> <i>Exemestà</i>
Progestàgens (Agonistes)		<i>Megestrol</i>
Agonistes GnRH		<i>Leuprorelina</i> <i>Goserelina</i>
Antiandrògens		<i>Flutamida</i> <i>Bicalutamida</i> <i>Enzalutamida</i> <i>Ciproterona</i> <i>Finasterida</i>

L'hormonoteràpia és àmpliament utilitzada en el tractament del càncer de pròstata que creix en resposta a andrògens. Altres càncers amb receptors hormonals sobreexpressats en les seves cèl·lules, com el càncer de mama i d'endometri, poden ser tractats mitjançant antagonistes hormonals o inhibidors de la síntesi hormonal endògena. Aquests fàrmacs, poden bloquejar la secreció d'hormones a nivell de la hipòfisi (agonistes de l'hormona alliberadora de gonadotropina), bloquejar els receptors d'andrògens o estrògens, suprimir la conversió d'andrògens a estrògens (inhibidors de l'aromatasa), o inhibir la síntesi d'andrògens.

L'administració de corticosteroides, com la *dexametasona*, *prednisona* o *metilprednisolona*, també es considera hormonoteràpia. Aquest grup de fàrmacs està compost per hormones naturals i medicaments estructuralment similar a les hormones, que són útils en el tractament de molts tipus de càncer, sobretot aquells tumors derivats

del sistema immunitari, com limfomes, leucèmies limfocítiques i el mieloma múltiple. També es poden utilitzar com a pal·liatius d'alguns tumors, com és el cas del glioblastoma, per les seves propietats antiinflamatòries.

1.1.5.5. Immunoteràpia

La immunoteràpia, també denominada teràpia biològica, és un tipus de tractament que estimula les defenses naturals del cos per combatre el càncer. Utilitza substàncies que restauren o milloren la funció del sistema immune, detenint o retardant el creixement, potenciant el sistema immunitari i impedit la disseminació de les cèl·lules canceroses.

Existeixen diversos tipus d'immunoteràpia, tal i com es mostra a la **Taula 5**:

Taula 5. Classificació dels fàrmacs més freqüents utilitzats en immunoteràpia^{45,48}

Anticossos monoclonals	Unió a limfòcits B i T	<i>Alemtuzumab</i>
	Unió al factor de creixement de l'endoteli vascular	<i>Bevacizumab</i> <i>Cetuximab</i>
	Unió al CD30 de les cèl·lules limfomatoses	<i>Brentuximab vedotina</i>
	Unió al CD33 de les cèl·lules leucèmiques	<i>Gemtuzumab</i>
	Unió al CD20 de les cèl·lules limfoides	<i>Ibritumomab tiuxetà</i> <i>Tositumomab</i> <i>Ofatumumab</i>
	Anti CTLA-4	<i>Ipilimumab</i>
	Unió al CD20 de limfòcits B	<i>Rituximab</i>
	Unió al receptor HER2	<i>Trastuzumab</i>
	Immunoteràpia no específica	Interferons
Interleuquines		IL-2
Teràpia amb virus oncolítics		<i>Talimogene laherparepvec</i> (T-VEC)
Teràpia amb cèl·lules T	CAR TCR	(en investigació)
Vacunes		<i>Sipuleucel-T</i>

⁴⁸ <http://oncohealth.eu> (Data: 15/08/2018)

Anticossos monoclonals^{1,42}

Els anticossos monoclonals són glicoproteïnes produïdes pel clon d'una cèl·lula híbrida i dissenyats per atacar a un antigen concret. Els anticossos monoclonals són un tipus específic d'immunoteràpia, que formen part de la immunitat humoral passiva i, que també es poden utilitzar com a teràpia dirigida per bloquejar proteïnes anormals en cèl·lules canceroses. En la immunoteràpia, els anticossos poden atacar proteïnes específiques de les cèl·lules canceroses, assenyalar les cèl·lules perquè el sistema immunitari pugui trobar-les i destruir-les, i bloquejar els punts de control (vies PD-1, PD-L1 i CTLA-4) que utilitzen les cèl·lules cancerígenes per evadir el sistema immunitari.

Diversos blocadors de punts de control són anticossos que es dirigeixen contra la proteïna associada amb els limfòcits T citotòxics P4 (CTLA4), la proteïna de la mort cel·lular programada 1 (PD1) i el lligand de la mort cel·lular programada (PD-L1) i que han mostrat beneficis en melanoma i alguns càncers de pulmó.

Els anticossos monoclonals poden dirigir-se contra antígens tumorals exclusius, com el *trastuzumab*, que es dirigeix contra la proteïna HER-2 expressada en els càncers de mama i que fa que aquest tractament, conjuntament amb la quimioteràpia, sigui beneficiós per al tractament del càncer de mama metastàtic. Els anticossos contra antígens CD expressats per certes cèl·lules neoplàsiques, s'utilitzen per tractar el limfoma No Hodgkin (*rituximab*, anti-CD20).

Tot i la baixa toxicitat que presenten els anticossos monoclonals, la disminució de l'eficàcia degut a la ràpida tolerància que es dona en l'organisme, així com l'elevat cost econòmic derivat del seu desenvolupament, representen un important desavantatge en l'ús d'aquesta teràpia per al tractament del càncer.

Immunoteràpia no específica^{1,11,42}

Així com els anticossos monoclonals, la immunoteràpia no específica també ajuda a que el sistema immunitari destrueixi les cèl·lules canceroses. Els dos modificadors de la resposta biològica més utilitzats són els interferons i les interleucines.

Els interferons són glicoproteïnes sintetitzades per les cèl·lules del sistema immunitari, amb activitat antitumoral i antiviral. A dosis farmacològiques, inhibeixen la divisió i certs processos de síntesi en una varietat de cèl·lules, que pot pal·liar alguns càncers, com la tricoleucèmia, la leucèmia mielògena crònica, el melanoma avançat, el càncer de cèl·lules renals metastàtic i el sarcoma de Kaposi. L'interferó alfa, que és el més utilitzat,

reforça el sistema immunològic contra les cèl·lules canceroses, per estimulació de la proliferació de limfòcits citotòxics i inducció de la proliferació de limfòcits T i macròfags.

Les interleucines ajuden al sistema immunitari a produir cèl·lules per combatre el càncer. L'*aldesleuquina* o IL-2, estimula les línies de limfòcits que s'han diferenciat contra el tumor. És utilitzada en els melanomes metastàsics i com a pal·liatiu en el càncer de ronyó.

Teràpia amb virus oncolítics¹

La teràpia amb virus oncolítics consisteix en la introducció, dins el tumor, de virus genèticament modificats per matar les cèl·lules canceroses. El virus penetra dins les cèl·lules i es reproduïx i, com a resultat, les cèl·lules exploten i moren, alliberant els antígens al medi. Aquest fet produeix una resposta del sistema immunitari enfront les cèl·lules que presentin aquests mateixos antígens.

L'any 2015 es va aprovar la primera teràpia amb virus oncolítics per tractar el melanoma, a partir del virus *talimogene laherparepvec* o T-VEC, que s'injecta directament sobre la lesió. Els efectes secundaris més importants són similars als de la grip, incloent nàusees.

Teràpia amb cèl·lules T^{1,42,49}

Les cèl·lules T són les cèl·lules immunitàries responsables de combatre les infeccions. En aquesta teràpia, les cèl·lules T són obtingudes de la sang del pacient i modificades perquè mostrin receptors específics capaços de reconèixer les cèl·lules canceroses. Les cèl·lules T modificades genèticament poden expressar: receptors de cèl·lules T (TCR), que reconeixen antígens associats a tumors amb elevada especificitat contra les cèl·lules tumorals o receptors d'antígens quimèrics (CAR), que reconeixen proteïnes específiques en la superfície de les cèl·lules tumorals. En l'actualitat no existeixen tractaments disponibles, ja que es troben en fase d'assaig clínic.

Vacunes^{1,45}

Les vacunes es basen en la inducció de la immunitat cel·lular en pacients que no han desenvolupat de forma espontània una resposta eficaç. Per la qual cosa, sol implicar mètodes per augmentar la presentació d'antígens tumorals a les cèl·lules efectores. Existeixen varies tècniques per estimular la resposta que consisteixen en l'administració de pèptids, d'ADN o de cèl·lules tumorals (que poden ser autòctones o al·logèniques).

⁴⁹ <https://www.cancer.net> (Data: 17/08/2018)

Normalment, els pèptids i l'ADN s'administren utilitzant cèl·lules dendrítiques (cèl·lules presentadores d'antigen), que han demostrat induir respostes més potents que la resta de cèl·lules.

Tot i que les vacunes han estat àmpliament estudiades, han proporcionat poc benefici en el tractament del càncer. Les diferents formes que tenen les cèl·lules canceroses d'eludir el sistema immunitari dificulta la creació de vacunes eficaces. Tanmateix, el *sipuleucel-T* (Provenge®), aprovada per la FDA al 2010, ha demostrat una prolongació en el temps de vida de pacients amb càncer de pròstata metastàtic.⁵⁰

1.1.5.6. Transplantament de cèl·lules mare

Les cèl·lules mare són cèl·lules sanguínies immadures que es troben a la medul·la òssia i sang. Aquestes, tenen la capacitat de madurar i diferenciar-se en qualsevol dels tres tipus principals de cèl·lules sanguínies: glòbuls blancs, glòbuls vermells i plaquetes, implicats en el transport d'oxigen, la defensa i la coagulació. Aquesta capacitat de diferenciació, li confereix la possibilitat de ser utilitzades per reposar la medul·la òssia que ha estat destruïda pel càncer o pel tractament amb quimioteràpia o radiació. Les dosis elevades de quimioteràpia, a vegades administrades conjuntament amb radiació, són més efectives que les estàndard, però poden comportar l'eliminació de totes les cèl·lules mare. Això produeix un deteriorament de la medul·la òssia, i per tant, la no producció de les cèl·lules sanguínies necessàries per viure.¹ En aquest cas és quan són necessaris els transplantaments de cèl·lules mare.

A més, aquest transplantament pot ajudar a tractar el càncer a través d'altres mecanismes, ja que les cèl·lules donades poden trobar i eliminar les cèl·lules canceroses millor que les cèl·lules del sistema immunitari de la persona malalta.

El transplantament de cèl·lules mare pot ser important en el tractament d'alguns càncers de la sang com leucèmies, mieloma múltiple i alguns limfomes.

1.1.5.7. Teràpies dirigides

Les teràpies dirigides són un tipus més nou de tractament enfront al càncer, que utilitza fàrmacs que ataquen les cèl·lules canceroses de manera més específica que els medicaments quimioterapèutics. Aquesta especificitat, tanmateix, és la que limita el seu poder anticancerigen. El fet que ataquí només les cèl·lules cancerígenes i, per tant,

⁵⁰ P. W. Kantoff, C. S. Higano, N. D. Shore, E. R. Berger, E. J. Small, D. F. Penson, C. H. Redfern, A. C. Ferrari, R. Dreicer, R. B. Sims, Y. Xu, M. W. Frohlich, P. F. Schellhammer. *N. Engl. J. Med.* **2010**, 363, 411-422

presenti menys efectes secundaris, el fa idoni per al tractament del càncer en combinació amb la quimioteràpia tradicional.

El mecanisme d'acció d'aquests medicaments dirigits pot ser: ^{1,5}

- Bloqueig o anul·lació de les senyals químiques que impliquen el creixement i divisió cel·lular. Un exemple són els medicaments dirigits que ataquen la proteïna del receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR). Entre els inhibidors de l'EGFR es troba el *cetuximab* (Erbix®), *panitumumab* (Vectibix®) i *erlotinib* (Tarceva®).
- Canvi en les proteïnes internes de les cèl·lules canceroses.
- Inhibició de l'angiogènesi, limitant d'aquesta manera l'arribada de nutrients a les cèl·lules canceroses. Trobem dins d'aquest grup els inhibidors de l'angiogènesi que es dirigeixen a les proteïnes del factor de creixement endotelial vascular (VEGF), com és *bevacizumab* (Avastin®).
- Activació del sistema immune.

A continuació, es mostra el protocol dels nous fàrmacs per al tractament del càncer realitzat per l'hospital Vall d'Hebron de Barcelona l'any 2018. Tot i que molts d'ells no es troben comercialitzats (actualment estan en fase clínica), s'han aprovat per a les indicacions exposades (**Taula 6**).

Taula 6. Llistat de fàrmacs aplicables per al tractament del càncer a l'hospital Vall d'Hebron de Barcelona

Principi actiu (Nom comercial)	Indicació terapèutica
<i>abemaciclib</i>	Tractament del càncer de mama avançat o metastàtic amb el receptor hormonal (HR) positiu i HER2 negatiu, amb <i>fulvestrant</i> amb progressió del càncer posterior al tractament hormonal, o com a monoteràpia amb progressió del càncer posterior al tractament hormonal i previ a la quimioteràpia
<i>alectinib</i> (Alecensa®)	Tractament de primera línia per al càncer de pulmó no microcític (CPCNP) positiu per ALK Tractament del càncer de pulmó no microcític (CPCNP) positiu per a la quinasa del limfoma anaplàsic (ALK), posterior a la manca de resposta al tractament amb <i>crizotinib</i>

<p><i>atezolizumab</i> (Tecentriq®)</p>	<p>Com a monoteràpia està indicat per al tractament del CPCNP avançat o metastàtic en pacients adults, posterior a quimioteràpia. En pacients amb mutacions activades pel receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR, <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>) o mutacions tumorals positives per ALK s'ha de realitzar teràpia dirigida prèviament.</p> <p>Com a monoteràpia per al tractament del carcinoma urotelial (CU) avançat o metastàtic en pacients adults, posterior a quimioteràpia amb platí o quan el cisplatí no pot utilitzar-se</p>
<p><i>avelumab</i> (Bavencio®)</p>	<p>Com a monoteràpia per al tractament del carcinoma de cèl·lules Merkel (CCM) metastàtic en pacients adults</p>
<p><i>bevacizumab biosimilar</i></p>	<p>Tractament del CPCNP avançat i d'altres tipus de càncer</p>
<p><i>cabozantinib</i> (Cometriq®)</p>	<p>Tractament del carcinoma medul·lar de tiroides (CMT) progressiu, localment avançat que no es pot extirpar o metastàtic en pacients adults</p>
<p><i>ceritinib</i> (Zykadia®)</p>	<p>Tractament del CPCNP avançat positiu per ALK prèviament tractat amb <i>crizotinib</i> en pacients adults</p> <p>Primera línia per al tractament del CPCNP no escamós positiu per ALK</p>
<p><i>ipilimumab</i> (Yervoy®)</p>	<p>Tractament del melanoma avançat (no extirpable o metastàtic) en pacients adults i en nens majors de 12 anys</p>
<p><i>lutetium oxodotreotide</i> (Lutathera®)</p>	<p>Tractament de tumors neuroendocrins gastroenteropancreàtics (TNEGEP) positius pel receptor de somatostatina no extirpables o metastàsics, progressius i ben diferenciats (G1 i G2), en pacients adults</p>
<p><i>necitumumab</i> (Portrazza®)</p>	<p>En combinació amb <i>gemcitabina</i> i <i>cisplatí</i> està indicat en el tractament de pacients adults amb CPCNP escamós amb expressió del receptor de l'EGFR, localment avançat o metastàtic que mai ha rebut tractament quimioteràpic per a aquesta condició</p>

<i>niraparib</i> (Zejula®)	Com a monoteràpia per al tractament de manteniment de pacients adults amb càncer ovàric epitelial serós de grau alt recurrent sensible al platí, de trompes de Falopi o càncer primari peritoneal que responen parcialment o completament a la quimioteràpia basada en platí
<i>osimertinib</i> (Tagrisso®)	Tractament del CPCNP amb expressió de l'EGFR amb mutació positiva per T790M, localment avançat o metastàtic en pacients adults
<i>padeliporfin</i> (Tookad®)	Com a monoteràpia en pacients adults amb adenocarcinoma de pròstata de baix risc, unilateral, que mai han estat tractats i que presenten unes característiques clíniques específiques
<i>palbociclib</i> (Ibrance®)	Tractament del càncer de mama localment avançat o metastàtic amb l'HR positiu i l'HER2 negatiu. En combinació amb un inhibidor d'aromatasa o en combinació amb <i>fulvestrant</i> en dones que hagin rebut teràpia hormonal prèvia
<i>ribociclib</i> (Kisqali®)	Tractament de primera línia amb <i>letrozol</i> per al càncer de mama avançat amb HR positiu i HER2 negatiu en dones postmenopàusiques
<i>talimogene laherparepvec</i> (Imlygic®)	Tractament de pacients adults amb melanoma no extirpable, metastàtic (estadi IIB, IIC i IVM1a) sense cap patologia òssia, cerebral, pulmonar o que afecti a qualsevol altra víscera
<i>tivozanib</i> (Tivopath®)	Tractament de primera línia per al carcinoma de cèl·lules renals avançat
<i>trastuzumab biosimilar</i> (Ontruzant®)	Tractament del càncer de mama en estadis inicials o metastàtic i del càncer gàstric metastàtic

1.1.5.8. Altres teràpies

Existeixen altres teràpies disponibles, com els inhibidors de la COX-2 o els agents de diferenciació, entre d'altres.¹

- Inhibidors de la COX-2. La ciclooxigenasa 2 o prostaglandina endoperòxid sintasa és un enzim implicat en els processos inflamatoris, que es troba sobreexpressat en alguns càncers, com l'adenocarcinoma colorectal i el carcinoma de cèl·lules escamoses d'esòfag.
- Agents de diferenciació.⁴⁵ El triòxid d'arsènic, o retinoides com la *tretinoïna* i *bexaroten*, actuen sobre les cèl·lules canceroses activant la maduració i modulant la diferenciació, induint finalment l'apoptosi. Útils en el tractament de la leucèmia promielocítica aguda i els limfomes cutanis de cèl·lules T.

1.2. Noves dianes per al tractament del càncer

1.2.1. Diana de *rapamicina* en cèl·lules de mamífer (mTOR)

Durant el creixement i divisió cel·lular, les vies anabòliques, que estan enfocades cap a l'augment en la producció de proteïnes, lípids (necessaris per a la formació i expansió de membranes) i nucleòtids, es veuen afavorides, al mateix temps que es suprimeixen vies catabòliques com l'autofàgia. Diverses investigacions dutes a terme en les últimes dècades, han demostrat el paper central de la proteïna mTOR en la regulació d'aquests processos cel·lulars, així com la seva implicació en malalties on el creixement està desregulat i la homeòstasi compromesa, com és el cas del càncer, malalties metabòliques o la senescència.⁵¹

1.2.1.1. Estructura i funcions d'mTOR

La diana de *rapamicina* en cèl·lules de mamífer (mTOR) és una proteïna serina/treonina quinasa, composta per 2549 aminoàcids i una massa de 289 kDa, que pertany a la família de les proteïnes quinases relacionades amb PI3K (PIKK). mTOR és un regulador clau del metabolisme, creixement, proliferació i supervivència cel·lular, integrant senyals de disponibilitat de nutrients i factors de creixement. En les cèl·lules es troba formant la subunitat catalítica de dos complexos de senyalització diferents, coneguts com

⁵¹ R. A. Saxton, D. M. Sabatini. *Cell* **2017**, 168, 960-976

mTORC1 (Complex sensible a la *rapamicina*) i mTORC2, els quals presenten diferències tant a nivell estructural com funcional.⁵²

El complex mTORC1 està format per cinc components: mTOR, que és la subunitat catalítica; Raptor (*regulatory-associated protein of mTOR*), proteïna accessòria que forma part del principal tret diferencial del complex i, que manté l'acoblament i permet la unió de substrats i reguladors; mLST8 (*mammalian lethal with Sec13 protein 8*); PRAS40 (*proline-rich AKT substrate 40kDa*) i DEPTOR (*DEP-domain-containing mTOR-interacting protein*). Tot i que la funció exacta d'aquestes proteïnes associades no es coneix completament, existeixen evidències que relacionen a mLST8 i Raptor amb l'estimulació de l'activitat del complex, mentre PRAS40 i DEPTOR mostren activitat inhibidora.

El complex mTORC2 està compost per sis proteïnes: mTOR; RICTOR (*Rapamycin-Insensitive Companion mTOR*), que li confereix al complex insensibilitat enfront de la *rapamicina*; mSIN1 (*mamalian stress-activated protein kinase interacting protein*); PROTOR (*Protein observed with Rictor*); mLST8 i DEPTOR. mSIN1 i PROTOR formen part únicament d'mTORC2, probablement ajudant en l'acoblament i localització del complex, a diferència del regulador positiu mLST8 i la subunitat inhibidora DEPTOR, que són compartits per ambdós complexos (**Figura 9**).⁵³

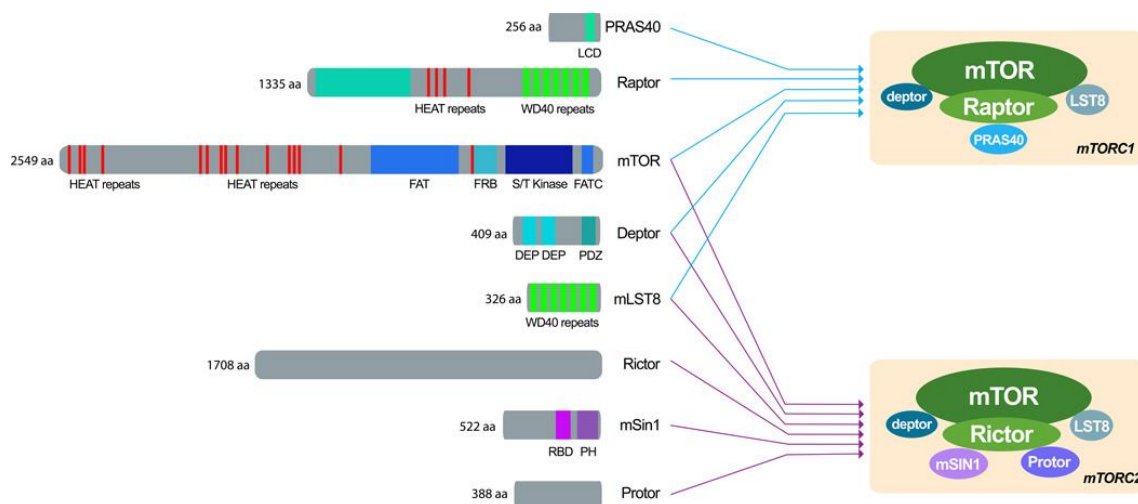


Figura 9. Estructura dels complexos mTORC1 i mTORC2⁵¹

A nivell funcional, mTORC1 promou la síntesi de lípids, nucleòtids i proteïnes, i inhibeix l'autofàgia, a l'integrar els senyals de nutrients generats per aminoàcids, els senyals dels factors de creixement transmesos per la insulina i els factors de creixement similars a la

⁵² S. Wullschleger, R. Loewith, W. Oppliger, M. N. Hall. *2005*, 280, 30697-30704

⁵³ R. Zoncu, D. M. Sabatini, A. Efvan. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2011**, 12, 21-35

insulina, els senyals d'energia que actuen a través de l'AMPK i factors estressants, com la hipòxia i el dany a l'ADN. A més, investigacions recents han definit la seva participació en el procés de l'angiogènesi. Un primer nivell d'integració es dona a nivell del Complex d'esclerosi Tuberosa (TSC), regulador negatiu clau de la senyalització d'mTORC1. Akt i la quinasa regulada extracel·lular (erk) fosforilen i inhibeixen la TSC, mentre que l'AMPK, el regulador metabòlic GSK3 β i el factor d'hipòxia REDD1, l'activen. El segon nivell d'integració es produeix en el lisosoma, on les Rag GTPasas recluten l'mTORC1 a la superfície lisosomal, permetent la interacció amb Rheb i, per tant, la conseqüent activació. Els principals substrats fosforilats per l'activació d'mTORC1 són les proteïnes ribosomals S6 quinases (S6K) i les proteïnes d'unió (4EBP) del factor d'iniciació eucariòtic (eIF4E) (**Figura 10**).^{53,54}

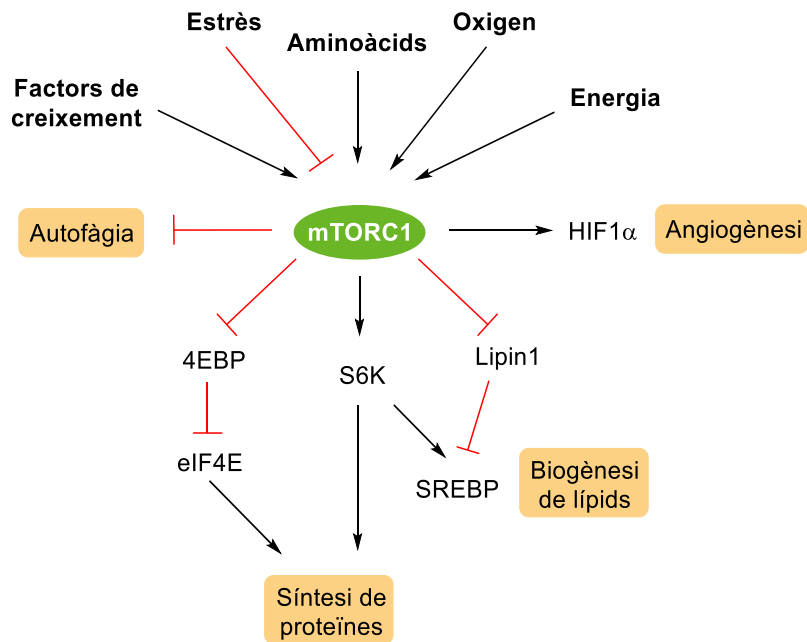


Figura 10. Vies de senyalització principals d'mTORC1

D'altra banda, sembla ser que els receptors del factor de creixement activen mTORC2, probablement a través de Ras. mTORC2 controla la proliferació i la supervivència mitjançant la fosforilació de diversos membres de la família de proteïnes quinasa AGC. Un exemple és l'activació de la PKC α , que regula diversos aspectes de la reorganització del citoesquelet i migració cel·lular. Tot i això, el paper més important d'aquest complex es troba relacionat amb la fosforilació i activació de Akt, un efector clau de senyalització de la via PI3K (**Figura 11**).⁵¹

⁵⁴ C. O. Malley, G. P. Pidgeon. *BBA Clinical* **2016**, 5, 29-40

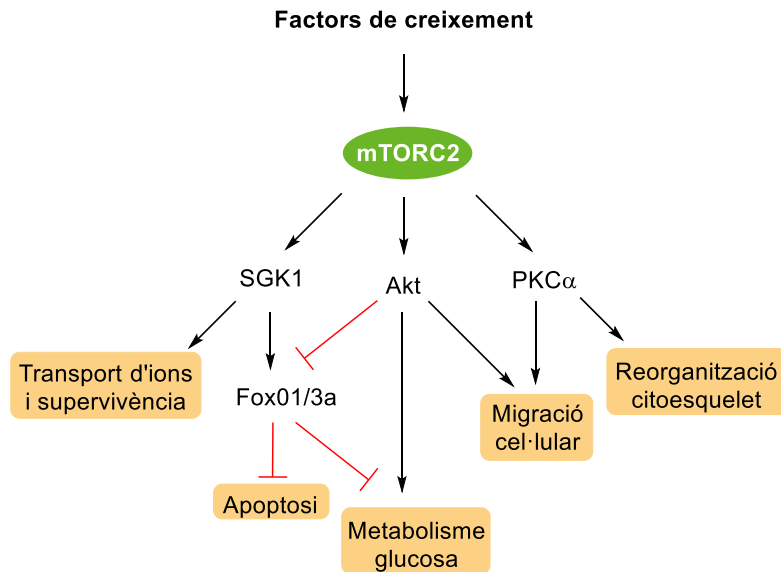


Figura 11. Vies de senyalització principals d'mTORC2

1.2.1.2. Autofàgia

L'autofàgia es defineix com un procés catabòlic elevadament conservat que suposa el lliurament de contingut citoplasmàtic al lisosoma, responsable de la degradació i reciclatge dels constituents macromoleculars (mitocondris, peroxisomes o reticle endoplasmàtic) continguts. Els aminoàcids i les petites molècules generades són retornades al citoplasma per a la generació d'energia i síntesi de noves proteïnes. Aquest mecanisme fisiològic de control de qualitat citoplasmàtic és àmpliament regulat per mTORC1 i juga un paper essencial en la regulació del creixement, desenvolupament i homeòstasi cel·lular. En condicions fisiològiques, l'autofàgia es manté a nivells basals, mentre que augmenta ràpidament en resposta a estímuls d'estrès i dany cel·lular, així com a la manca de nutrients.

Yashori Ohsumi, Premi Nobel de Medicina a l'any 2016, va ser el primer en desvelar el sistema genètic que regula l'autofàgia, així com el mecanisme pel qual es produeix. L'estudi portat a terme sobre el llevat *Saccharomyces cerevisiae* li va permetre identificar i caracteritzar més de 37 gens, coneguts com ATG, responsables del control del procés. Les mutacions en aquests gens, així com les alteracions en la maquinària autofàgica, s'ha demostrat que estan relacionades i que poden donar lloc al desenvolupament de malalties com el càncer, i desordres neurodegeneratius com l'Alzheimer o el Parkinson.⁵⁵

⁵⁵ <https://www.nobelprize.org> (Data: 12/04/19)

En les cèl·lules eucariotes es coneixen tres tipus d'autofàgia no selectiva, que es diferencien en els mecanismes de reconeixement i el tipus de degradació: la macroautofàgia, la microautofàgia i l'autofàgia regulada per xaperones. En la macroautofàgia, porcions de citoplasma són ingerides pels autofagosomes, que són vesícules de doble membrana formades de *novo*. Posteriorment, l'autofagosoma es fusiona amb la vacuola lisosomal, on les macromolècules són degradades. La microautofàgia, a diferència de l'anterior, implica la ingesta directa del material citoplasmàtic per invaginació de la membrana del propi lisosoma. D'altra banda, l'autofàgia regulada per xaperones està restringida a proteïnes que continguin senyals de reconeixement específiques, i que són translocades a dins el lisosoma mitjançant la unió al complex de xaperones.

El procés de l'autofàgia consta de cinc fases o etapes (**Figura 12**):⁵⁶

- Nucleació. Formació d'una estructura de doble membrana (fagòfor), que requereix de la participació dels complexos de proteïnes Beclin1 i PI3K.
- Expansió de la membrana del fagòfor per la incorporació de la proteïna LC3-II.
- Maduració de la vesícula formant l'autofagosoma i segrest del material citoplasmàtic a degradar.
- Fusió de l'autofagosoma amb el lisosoma, que conté els enzims hidrolítics que degradaran el material segrestat.
- Degradació i reciclatge. Els aminoàcids, sucres, lípids i nucleòtids generats per la degradació lisosomal són retornats al citoplasma per ser reutilitzats en la síntesi de noves molècules.

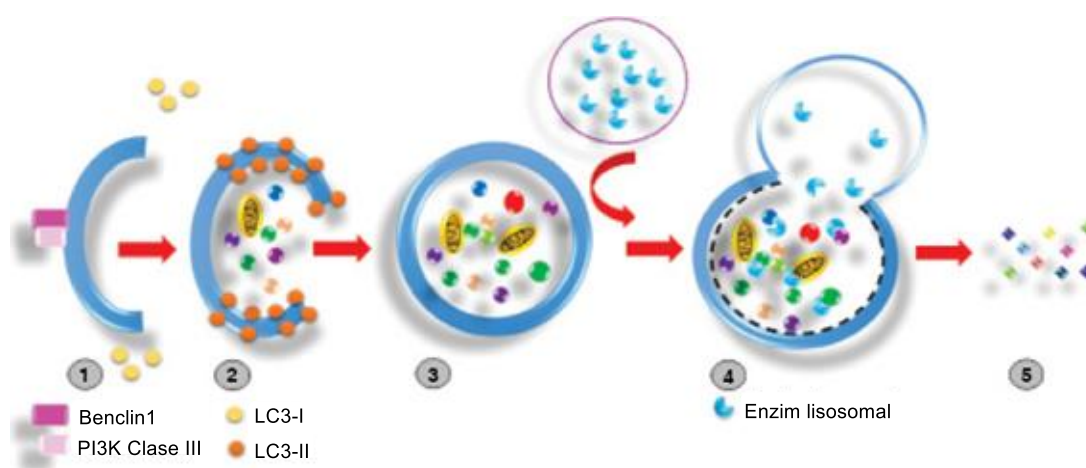


Figura 12. Etapes del procés de l'autofàgia⁵⁷

⁵⁶ M. J. Peña-Sanoja, J. B. De Sanctis. *Invest. Clin.* **2013**, *54*, 325-337

⁵⁷ M. Maciel-Herrerias, S. Cabrera-Benítez. *Neumol. Cir. Torax* **2016**, *75*, 227-236

Regulació de l'autofàgia

Tal com s'ha esmentat anteriorment, l'autofàgia és un procés altament regulat per diverses proteïnes, en el qual la situació ambiental en que es troba la cèl·lula determinarà la seva inducció o inhibició. Entre aquestes proteïnes es troba el sensor nutricional i hormonal mTORC1 i el sensor energètic AMPK.⁵⁸

Un primer pas important en l'autofàgia és l'activació del complex ULK, que indueix la formació de l'autofagosoma. Nivells elevats de nutrients activen mTORC1, que fosforila i inhibeix el complex ULK, inhibint l'autofàgia. D'altra banda, la manca de nutrients condueix a un augment en la relació AMP/ATP, que activa l'AMPK i, per tant, inhibeix mTOR, permetent la translocació del complex ULK a la membrana de l'autofagosoma i la conseqüent activació de l'autofàgia. S'ha observat que, en condicions de dejú de nutrients, la quinasa AMPK també pot actuar sobre el complex ULK activant-lo i produint un efecte positiu sobre l'autofàgia.⁵¹

A més, mTORC també és capaç de regular l'autofàgia mitjançant la fosforilació i inhibició de la translocació nuclear del factor de transcripció EB (TFEB). Aquest factor de transcripció indueix, un cop en el nucli, l'expressió de gens per a la biogènesi lisosomal i la maquinària autofàgica.

1.2.1.3. Inhibidors d'mTOR

Donat que l'activitat d'aquesta proteïna està augmentada en alguns tipus de càncers, es considera una diana terapèutica i s'han desenvolupat diversos fàrmacs per inactivar la seva funció. A continuació, es mostren els mecanismes d'acció dels inhibidors actualment comercialitzats, així com els que es troben en assajos clínics i preclínics (**Figura 13**).^{51,53,54}

⁵⁸ M. A. Costas, M. F. Rubio. *Medicina* **2017**, 77, 314-320

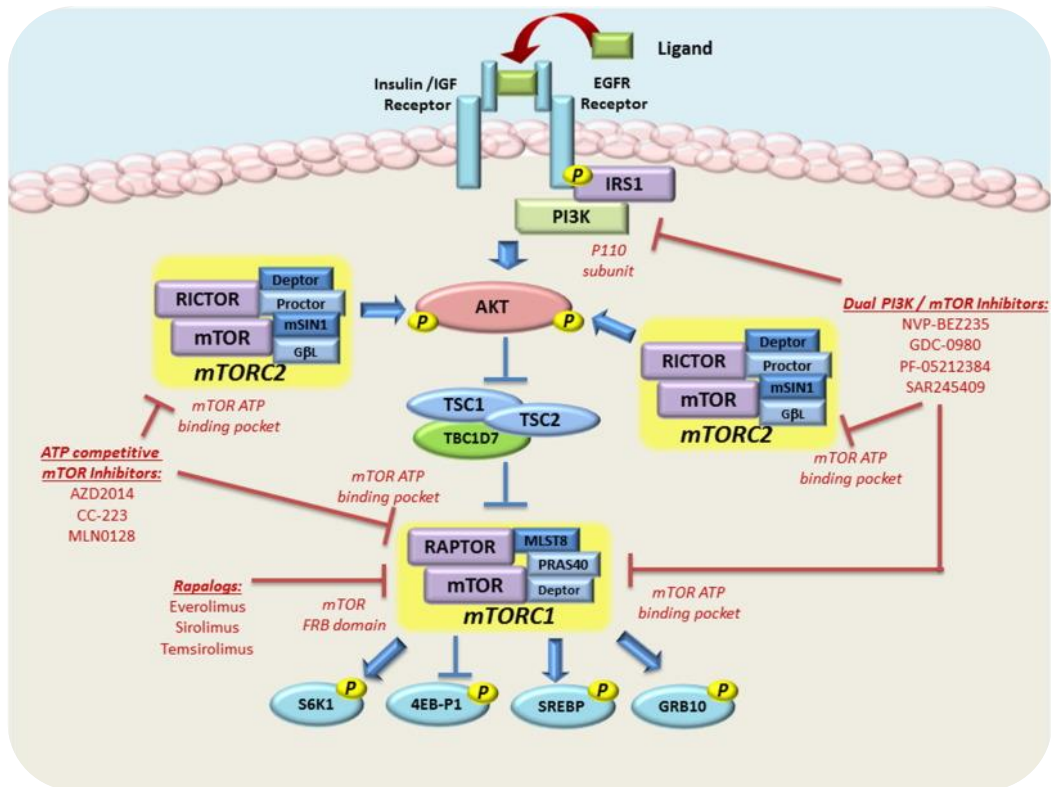


Figura 13. Mecanisme d'inhibició de l'activitat d'mTOR per *rapamicina* i els seus anàlegs, pels inhibidors catalítics competitiu d'ATP per mTOR i inhibidors de PI3K/mTOR duals⁵⁴

a) Anàlegs de la *rapamicina*

El primer inhibidor que es va descobrir d'mTOR va ser la *rapamicina*, també anomenada *sirolimus*. Es tracta d'un macròlid natural que es va aïllar per primera vegada d'una soca de *Streptomyces hygroscopicus* a la Illa de Pascua. Inicialment aprovat com immunosupressor, més tard va demostrar efectes antiproliferatius i citostàtics contra la proteïna mTOR. Tot i així, la farmacocinètica desfavorable que presenta, i que limita el seu ús com a agent anticancerígen, va donar lloc al desenvolupament de la primera generació d'anàlegs de la *rapamicina*. Aquests derivats de la *rapamicina*, anomenats rapalogs, van ser els primers inhibidors d'mTOR aprovats per al tractament del càncer. El primer en ser aprovat va ser *temsirolimus* (Pfizer) a l'any 2007 per al tractament del carcinoma avançat de cèl·lules renals, seguit d'*everolimus* (Novartis), utilitzat en el tractament del càncer de mama i renal, així com tumors neuroendocrins, a l'any 2009. *Ridaforilimus* (profàrmac de *sirolimus*), d'altra banda, es troba actualment en assajos clínics per al tractament de sarcomes avançats de teixits tous i ossos i altres neoplàsies hematològiques (**Figura 14**).^{51,54} Aquests inhibidors alostèrics d'mTOR, s'uneixen selectivament al domini FKBP12 d'mTORC1 i bloquegen la fosforilació dels seus substrats.

Tot i l'elevada especificitat per mTOR que presenten, aquests inhibidors han demostrat una important falta d'eficàcia en la clínica per la predisposició al desenvolupament de resistències. Això és degut principalment a l'alliberament de la retroalimentació negativa sobre la senyalització de la via insulina/PI3K/Akt, que desencadena la inhibició d'mTORC1. A més, també s'ha observat que la inducció de l'autofàgia per inhibició d'aquest complex pot afavorir a les cèl·lules canceroses amb microambients deficients en nutrients, com és el cas dels tumors pancreàtics. Aquestes característiques fan que els rapalogs només siguin útils per al tractament del càncer en combinació amb altres teràpies.

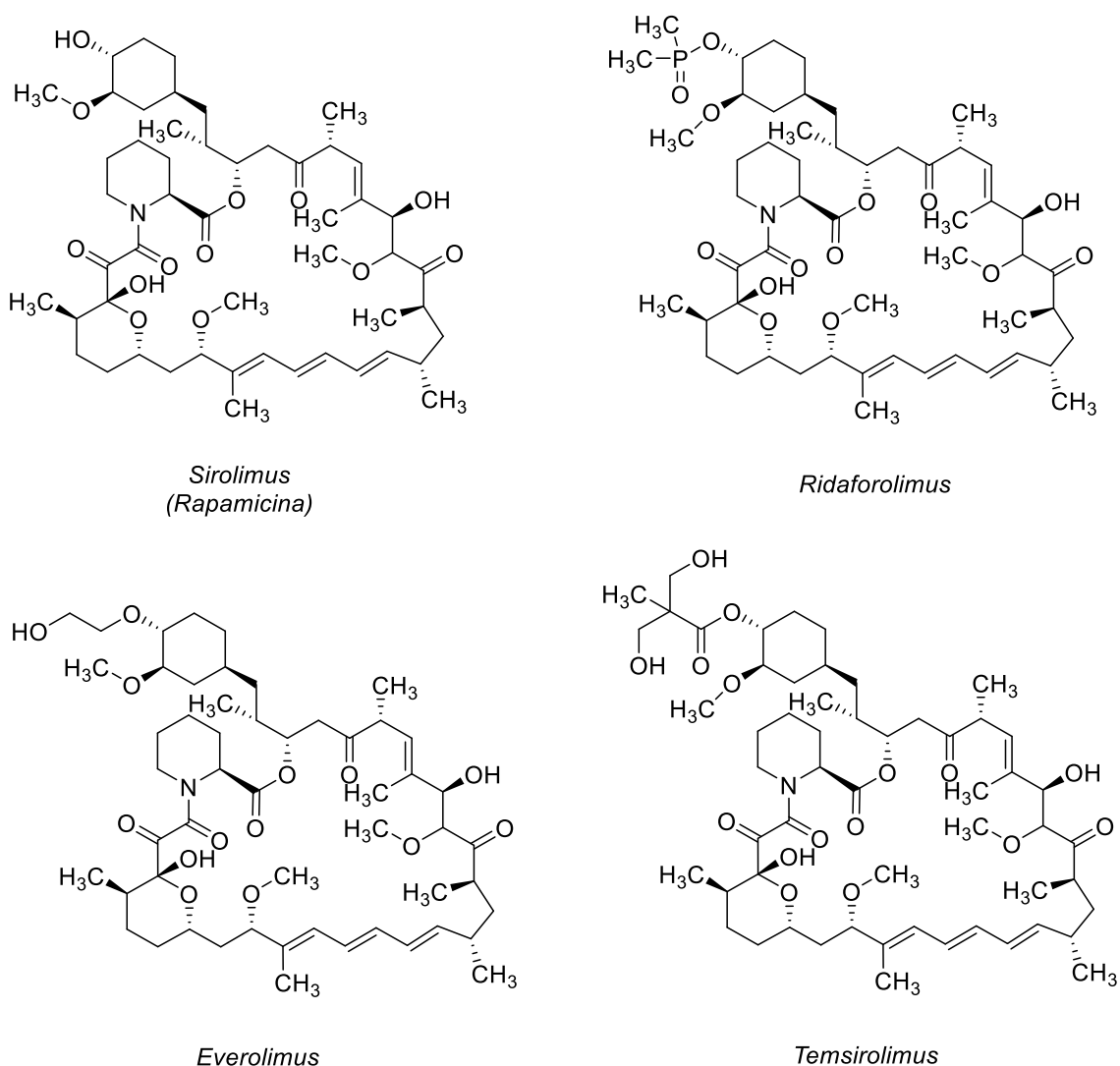


Figura 14. Estructura química del *sirolimus* i els seus anàlegs⁵⁹

⁵⁹ F. Palavra, C. Robalo, F. Reis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2017**. Review article. <https://doi.org/10.1155/2017/9820181>

b) Inhibidors catalítics competitius d'ATP contra mTOR

Actualment es troben en assajos clínics i s'han desenvolupat per abordar els inconvenients presentats pels rapalogs. Aquesta segona generació d'inhibidors d'mTOR presenten la capacitat d'inhibir l'activitat catalítica d'mTOR, en comptes d'unir-se a FKBP12, suprimint d'aquesta manera completament mTORC1 i mTORC2. Tot i això, s'ha observat que en tractaments continuats Akt es reactiva, donant lloc a l'activació de la cascada de senyalització.

c) Inhibidors PI3K/mTOR duals

Sorgeixen de la necessitat de bloquejar completament la ruta PI3K/Akt/mTOR, ruta responsable de la progressió del càncer i de la resistència als inhibidors d'mTOR. Si bé aquests inhibidors presenten bons resultats en els assajos preclínics, aquesta ampla inhibició de les vies de senyalització pot presentar toxicitat per les cèl·lules normals, restringint el seu ús en combinació amb altres teràpies.

1.2.2. EZH2

Els mecanismes epigenètics, com les modificacions post-traduccionals, regulen l'estat de la cromatina, controlant l'accessibilitat de l'ADN i permetent així el control de la transcripció, la replicació, recombinació i reparació de l'ADN. La desregulació d'aquests mecanismes epigenètics està associat amb diferents etapes de formació i progressió tumoral. De fet, les alteracions en els propis reguladors, com en el cas de la mutació o sobreexpressió d'EZH2, s'ha observat en nombrosos tipus de càncer, convertint-se en un important biomarcador i potencial objectiu terapèutic d'aquesta malaltia.^{60,61,62}

1.2.2.1. Estructura i funcions d'EZH2

Els gens del grup Polycomb (PcG) codifiquen modificadors de la cromatina que estan involucrats en el manteniment de la identitat cel·lular i en la proliferació, processos que sovint es troben desregulats en el càncer. Aquests gens, la seqüència i funció dels quals es troba altament conservada en mamífers, es van identificar inicialment en l'espècie *Drosophila melanogaster*, més coneguda com la mosca de la fruita, com a repressors transcripcionals. Els gens PcG codifiquen per a diferents proteïnes de PcG, que formen complexos multiproteïcs i regulen el silenciament epigenètic de gens a partir de la

⁶⁰ L. Morera, M. Lübbert, M. Jung. *Clin. Epigenetics* **2016**. Review. <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0223-4>

⁶¹ Y. Kondo. *J. Biochem.* **2014**, *156*, 249-257

⁶² M. T. McCabe, C. L. Creasy. *Epigenomics* **2014**, *6*, 341-351

remodelació de la cromatina i modificació d'histones. Existeixen diferents complexos de proteïnes PcG, entre els quals trobem: el complex repressiu polycomb 1 (PCR1) i 2 (PCR2).

PCR2 està format per les subunitats EZH1 o EZH2 (*Enhancer of Zeste Homolog*) que són les responsables de l'activitat enzimàtica del complex, catalitzant la transferència de grups metil des del cofactor S-adenosilmetionina (SAM) a la lisina 27 de la histona 3, donant lloc a H3K27me₃; per les subunitats no catalítiques EED (*embryonic ectoderm development*), SUZ12 (*supress or of zeste 12*) i RbAp48/46 (*retinoblastoma-associated proteins p48/46*), que permeten i estableixen la interacció amb el substrat d'histona; i les subunitats accessòries AEBP2, JARID i PCL, les quals no són estrictament necessàries per a l'activitat enzimàtica del complex, però sí per a una activitat òptima, tot i que encara es desconeix la funció específica d'aquestes (**Figura 15**). Els homòlegs EZH1 i EZH2 mostren diferents patrons d'expressió, trobant-se l'EZH1 en cèl·lules en divisió i diferenciades, mentre que l'EZH2 només s'observa en cèl·lules en creixement. A més, s'ha observat que els complexos que contenen l'EZH1 mostren baixa activitat metiltransferasa. Això suggereix que l'EZH2 és la responsable dels nivells cel·lulars d'H3K27me₃, mentre que l'EZH1 és l'encarregat de restaurar aquests nivells degut a possibles pèrdues per intercanvi d'histones o per activitat desmetilasa.⁶³

Pel que fa a PCR1, s'uneix al residu H3K27me₃ i induïx la monoubiquitinació de la lisina 119 de la histona H2A (H2AK119ub1). La ubiquitinació dóna lloc a la compactació de la cromatina i, posteriorment, al bloqueig de la polimerasa II, que condueix al silenciament de la transcripció. Aquest complex està format per les subunitats Bmi1, Ring1b, CBX4 i PHC i, tot i que potencia l'acció de PCR2, ambdós complexos poden reprimir l'expressió gènica de forma independent.⁶⁴

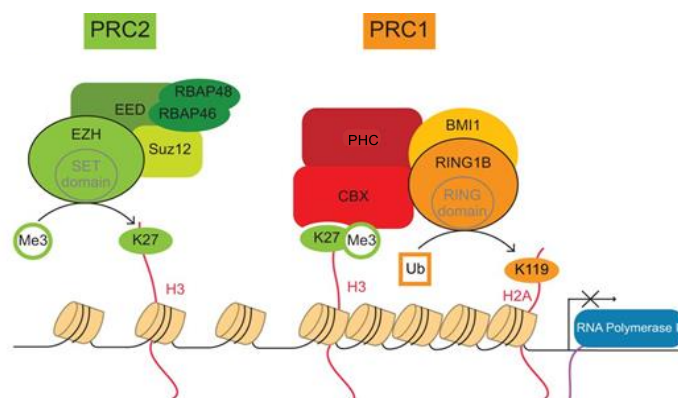


Figura 15. Complex PCR1 i PCR2, amb les subunitats principals i activitat enzimàtica⁶⁴

⁶³ R. Margueron, D. Reinberg. *Nature* **2011**, 469, 343-349

⁶⁴ J. H. A. Vissers, M. van Lohuizen, E. Citterio. *J. Cell. Sci.* **2012**, 125, 3939-3948

L'EZH2 juga un paper essencial en la iniciació, desenvolupament, progressió, metastasi i resistència als fàrmacs antitumorals. La mutació o sobreexpressió d'EZH2 s'ha relacionat amb diverses formes de càncer, com el càncer de pròstata, mama, bufeta o pulmó, així com també s'associa amb estadis metastàsics agressius i avançats, i amb un mal pronòstic de la malaltia. Per tant, el bloqueig de l'activitat d'EZH2 pot resultar crític per al creixement i la supervivència de les cèl·lules tumorals.

1.2.2.2. Regulació d'EZH2

S'han descrit diversos mecanismes que causen l'augment de senyalització d'EZH2 en cèl·lules tumorals, dels quals formen part les mutacions genètiques, l'amplificació, determinades vies i senyals transcripcionals, la hipòxia i múltiples microARNs. Aquests mecanismes modulen l'expressió i activitat de la proteïna a diferents nivells (**Figura 16**).^{65,66}

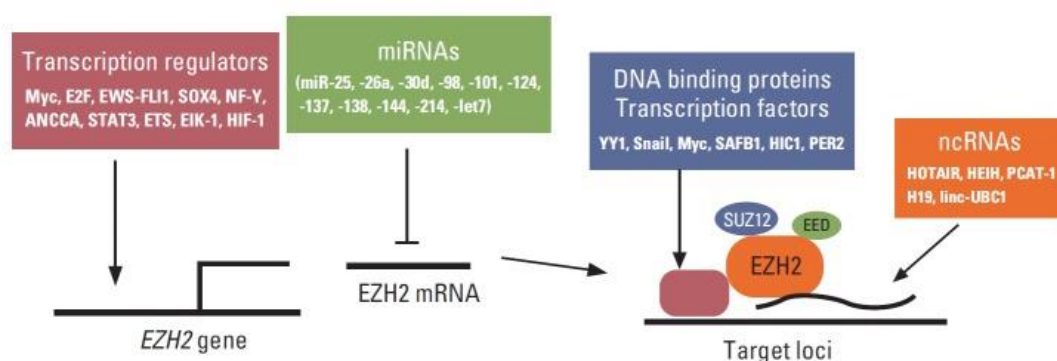


Figura 16. Reguladors de l'activitat i expressió d'EZH2⁶⁶

S'ha demostrat que una gran varietat de factors de transcripció oncogènics, així com la desregulació de les vies MEK/ERK i pRb-E2F, estan involucrats i són responsables de la sobreexpressió d'EZH2 en diversos tipus de càncer. L'EZH2, així com la presència dels seus reguladors, són importants en la proliferació i supervivència de les cèl·lules canceroses. Entre aquests factors trobem el regulador del cicle cel·lular E2F, el co-activador del receptor androgènic ANCCA, així com MYC, ETS, NF-YA i STAT-3, entre d'altres.

Una altra funció que poden presentar alguns factors de transcripció com MYC és la de regular l'accés de les proteïnes que conformen PRC2 a llocs específics de l'ADN, actuant com a reclutadors. D'altra banda, també els ARN no codificants poden exercir

⁶⁵ P. Völkel, B. Dupret, X. Le Bourhis, P. O. Angrand. *Am. J. Transl. Res.* **2015**, 7, 175-193

⁶⁶ H. Yamaguchi, M. C. Hung. *Cancer Res. Treat.* **2014**, 46, 209-222

un important paper en el reclutament d'EZH2. Un exemple és HOTAIR, que es troba sobreexpressat en el càncer de mama i el càncer colorectal, associant-se a un fenotip més agressiu i a un mal pronòstic de la malaltia.

L'EZH2 també es pot regular a nivell post-transcripcional, a través de l'alteració de la regulació dels micro-RNAs (miRNAs). La manca de control sobre aquests miRNAs, provoca la sobreexpressió d'aquesta proteïna i està relacionada amb el grau d'agressivitat de diversos tipus de càncer.

S'ha demostrat que les modificacions post-traduccionals, mitjançant la fosforilació en diversos punts de l'enzim, poden regular l'activitat i estabilitat d'EZH2. Aquesta fosforilació pot ésser realitzada per quinases dependents de ciclina com CDK1 i CDK2,⁶⁷ o per AKT,⁶⁸ quinasa regulada per senyals extracel·lulars. Akt fosforila l'EZH2 en la serina 21 i suprimeix la seva activitat metiltransferasa, impedit la unió d'EZH2 a la histona H3, que resulta en una disminució de la trimetilació de la lisina 27 i, per tant, en l'alliberament de la repressió dels gens silenciats. D'altra banda, la fosforilació per CDKs pot afectar la funció d'EZH2 de diferent manera, depenent del tipus i condicions cel·lulars. Algunes fosforilacions són requerides per al reclutament d'EZH2 en el *loci* específic, mentre d'altres indueixen la dissociació d'EZH2 del complex, donant com a resultat la inactivació d'EZH2 i reducció de la invasió de cèl·lules canceroses.

1.2.2.3. Mecanisme d'acció d'EZH2 en el càncer

Es coneix que l'activitat d'EZH2 està vinculada al desenvolupament del càncer. A continuació es descriuen els diferents mecanismes oncogènics pels quals l'EZH2 regula la transcripció (**Figura 17**).⁶⁹

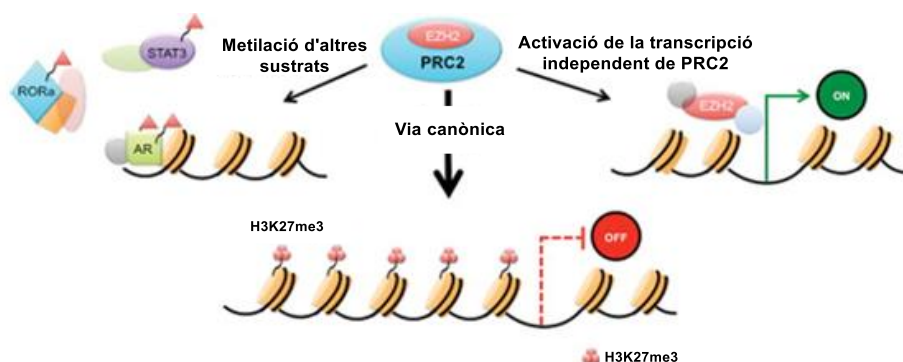


Figura 17. Mecanismes de la regulació de l'activitat transcripcional d'EZH2⁶⁹

⁶⁷ S. C. Wu, Y. Zhang. *J. Biol. Chem.* **2011**, 286, 28511-28519

⁶⁸ T. L. Cha, B. P. Zhou, W. Xia, Y. Wu, C. C. Yang, C. T. Chen, B. Ping, A. P. Otte, M. C. Hung. *Science.* **2005**, 310, 306-310

⁶⁹ K. H. Kim, C. W. Roberts. *Nat. Med.* **2016**, 22, 128-134

A través de la via canònica, com ja s'ha esmentat anteriorment, PCR2 contribueix al silenciament transcripcional de determinats gens a través de la metilació de la lisina 27 de la histona 3.

L'EZH2 és capaç també de metilar altres substrats de proteïnes, provocant l'activació o inactivació d'aquestes. Per exemple, l'EZH2 activa la senyalització de STAT3 (transductor de senyal i activador de transcripció 3) a través de la metilació de la lisina de STAT3. L'augment d'aquest factor de transcripció s'ha relacionat amb la malignitat del glioblastoma multiforme, el tipus de càncer cerebral més comú i letal.⁷⁰ D'altra banda, l'EZH2 també és capaç de monometilar el supressor de tumors ROR α (*retinoic acid-related orphan nuclear receptor α*). Aquest mecanisme facilita el reconeixement per la maquinària d'ubiquitinació que condueix a la degradació i, per tant, la pèrdua de la funció de la proteïna metilada.

L'EZH2 també exerceix un paper en l'activació de la transcripció de forma independent al complex PRC2. Estudis recents han demostrat que l'EZH2 induïx d'expressió de gens que estan regulats per les vies de senyalització d'estrògens i Wnt, així com l'activació de factors de transcripció NF-kB en el càncer de mama. També s'ha observat que actuen com a coactivadors d'EZH2 els factors de transcripció que inclouen els receptors d'andrògens. En aquest cas, l'expressió d'EZH2 es correlaciona amb la progressió del càncer de pròstata, especialment amb el seu estat metastàtic resistent a hormones.⁷¹

1.2.2.4. Inhibidors d'EZH2

Donat que els nivells i/o activitat d'EZH2 estan augmentats en alguns tipus de càncers, i que aquest enzim exerceix funcions crucials durant el creixement i progressió tumoral, es considera una bona diana terapèutica. A continuació, es mostren les diferents estratègies terapèutiques d'inhibició d'EZH2, així com els mecanismes d'acció dels inhibidors enzimàtics actualment disponibles i que han estat avaluats en assajos clínics i preclínics (**Figura 18**).

⁷⁰ E. Kim, M. Kim, D. H. Woo, Y. Shin, J. Shin, N. Chang, Y. T. Oh, H. Kim, J. Rhee, I. Nakano, C. Lee, K. M. Joo, J. N. Rich, D. H. Nam, J. Lee. *Cancer Cell*. **2013**, 23, 839-852

⁷¹ K. Xu, Z. J. Wu, A. C. Groner, H. H. He, C. Cai, R. T. Lis, X. Wu, E.C. Stack, M. Loda, T. Liu, H. Xu, L. Cato, J. E. Thornton, R. I. Gregory, C. Morrissey, R. L. Vessella, R. Montironi, C. Magi-Galluzzi, P. W. Kantoff, S. P. Balk, X. S. Liu, M. Brown. *Science* **2012**, 338, 1465-1469

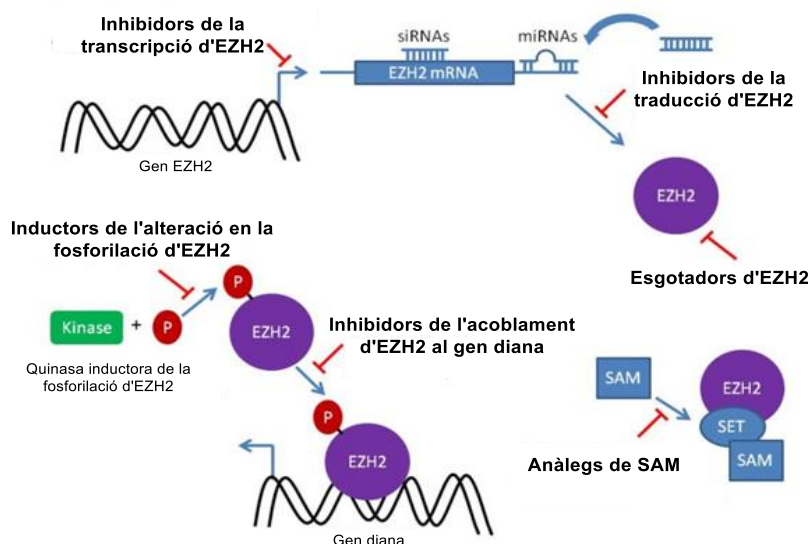


Figura 18. Mecanismes d'inhibició de l'activitat o expressió d'EZH2⁷²

a) Inhibidors de la transcripció d'EZH2

Són possibles fàrmacs terapèutics per tractar les cèl·lules canceroses que expressen en excés l'EZH2. Aquests, disminueixen els nivells d'ARNm i d'EZH2. Un exemple de fàrmacs que actuen com a inhibidors de la transcripció d'EZH2 són SKI-606 i el *metotrexat* (**Figura 19**).

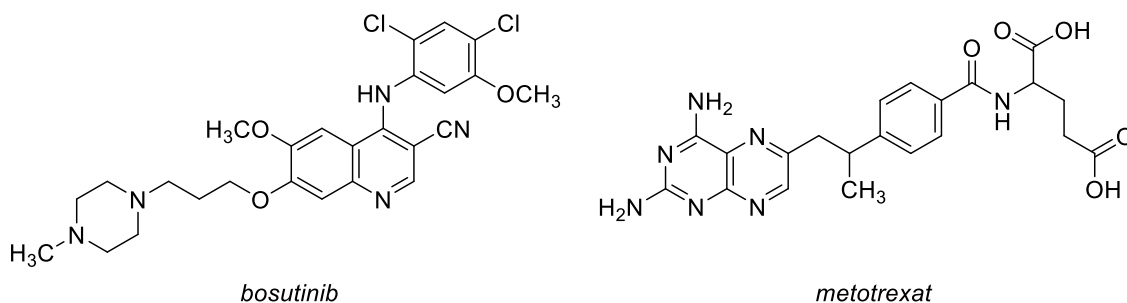


Figura 19. Estructura química d'inhibidors de la transcripció

SKI-606 (*bosutinib*) és un inhibidor de la tirosina quinasa Src, responsable de l'activació de factors transcripcionals com STAT3 per fosforilació directa. La hiperactivació de la via de senyalització Src, s'associa a un augment en la inducció de l'expressió d'EZH2 en el càncer de mama. Actualment, SKI-606 està aprovat per al tractament d'un tipus de leucèmia mielògena crònica en adults (LMC) resistent a tractament.

⁷² C. Han Li, Y. Chen. *Curr. Protein Pept. Sci.* **2015**, 16, 559-570

Metotrexat, conegut com a inhibidor de la dihidrofolat reductasa, ha mostrat reduir l'expressió d'EZH2 en el càncer de pulmó no microcític.

b) Inhibidors de la traducció

La degradació de la transcripció d'EZH2 a través de la interferència d'ARN, inhibeix de manera efectiva la traducció de l'ARNm d'EZH2 i indueix un efecte anticancerígen significatiu. Els miRNAs administrats a les cèl·lules canceroses redueixen el nivell de proteïna EZH2 per degradació d'ARNm o inhibició de la traducció.

Un anàleg de la *curcumina*, H-4073 o curcumina difluorada (CDF), indueix determinats microARN que disminueixen l'expressió d'EZH2 en cèl·lules de càncer pancreàtic, inhibint el creixement i agressivitat d'aquests tipus de tumors (**Figura 20**).⁷³

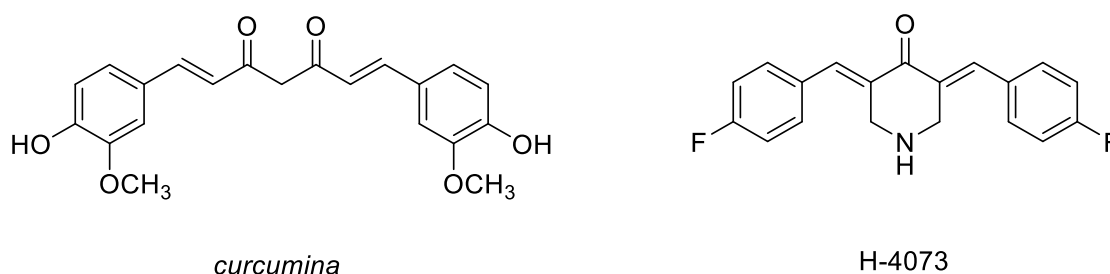


Figura 20. Estructura química de la *curcumina* i el seu anàleg H-4073

c) Inhibidors d'EZH2 per esgotament

La *3-deazaneplanocina A* (DZNep) i *panobinostat* (LBH589) són els compostos més estudiats que permeten reduir els nivells de la proteïna EZH2 en les cèl·lules tumorals (**Figura 21**). A més, l'ús concomitant d'ambdós agents, ha mostrat un efecte sinèrgic en els nivells d'EZH2.

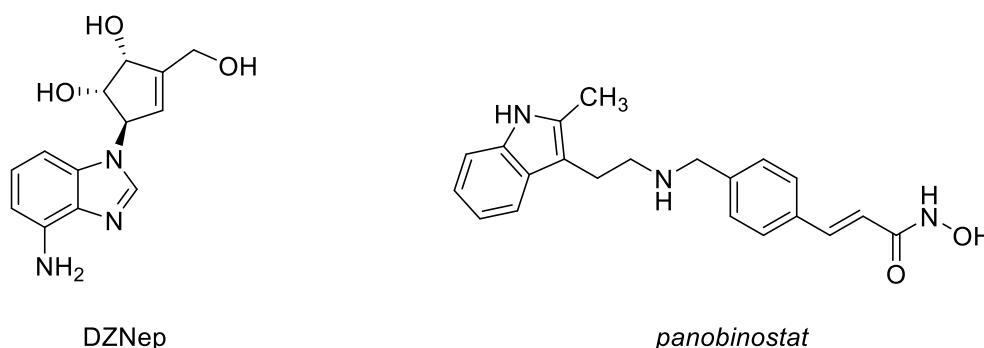


Figura 21. Estructura química de DZNep i *panobinostat*

⁷³ A. A. Momtazi, A. Sahebkar. *Curr. Pharm. Des.* **2016**, 22, 4386-4397

DZNep promou la disminució dels nivells d'EZH2, així com de SUZ12 i EED, per inhibició selectiva de la trimetilació de la lisina 27 en la histona H3 (H3K27me3) i la lisina 20 en la histona H4 (H4K20me3), així com també l'activació de determinats gens supressors de tumors.

El *panobinostat* és un inhibidor no selectiu de la histona desacetilasa (HDAC) que promou la degradació proteosòmica d'EZH2. Actualment es troba en assajos clínics per al tractament de tumors sòlids i neoplàsies hematològiques.

d) Anàlegs de SAM

Inhibidors específics de l'EZH2 que competeixen amb SAM pel lloc d'unió a l'EZH2. Són elevadament selectius per l'EZH2, inhibint la trimetilació d'H3K27 sense afectar el seu nivell d'expressió (**Figura 22**).

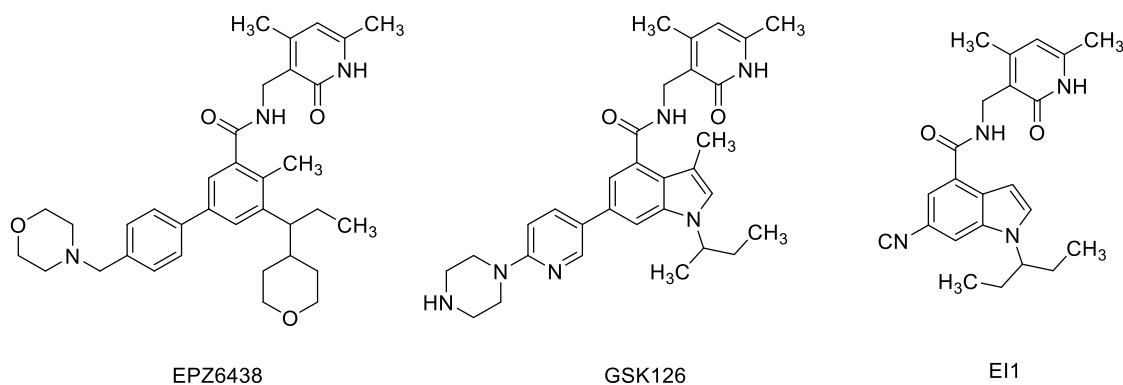


Figura 22. Estructura química d'alguns anàlegs de SAM

Existeixen altres estratègies que permeten regular l'expressió d'EZH2 com són la inhibició de l'acoblament d'EZH2 al gen diana o l'alteració de la fosforilació de la proteïna EZH2, responsable de mantenir una adequada activitat, estabilitat i orientació. Tot i això, es requereixen de més estudis per obtenir nous compostos que actuïn per aquests mecanismes.

1.2.3. Enzims metabòlics

El fisiòleg Alemany Otto Warburg, Premi Nobel de Medicina i Fisiologia en 1931 pels seus descobriments en Respiració cel·lular, va ser el primer en descriure el càncer com una malaltia metabòlica i la implicació enzimàtica.⁵⁵ Les diverses teories que va postular i, estudis posteriors realitzats, ens ha permès assolir noves eines per a l'abordatge d'aquesta malaltia.

S'ha observat que les cèl·lules canceroses, així com les cèl·lules que es troben en procés de creixement, presenten una elevada taxa de captació de glucosa, que es reflecteix en un increment en l'activitat i expressió de determinats enzims metabòlics, així com una elevada taxa de glicòlisi aeròbica. L'increment d'aquesta via glicolítica està associada al metabolisme cel·lular tumoral i es coneix amb el nom d'efecte Warburg (**Figura 23**). De fet, l'increment de la captació de glucosa per part de les cèl·lules cancerígenes, ha permès el desenvolupament de nous mètodes per al diagnòstic del càncer, com és el cas de la tomografia per emissió de positrons (PET), així com monitoritzar la resposta al tractament (**Figura 24**).⁷⁴

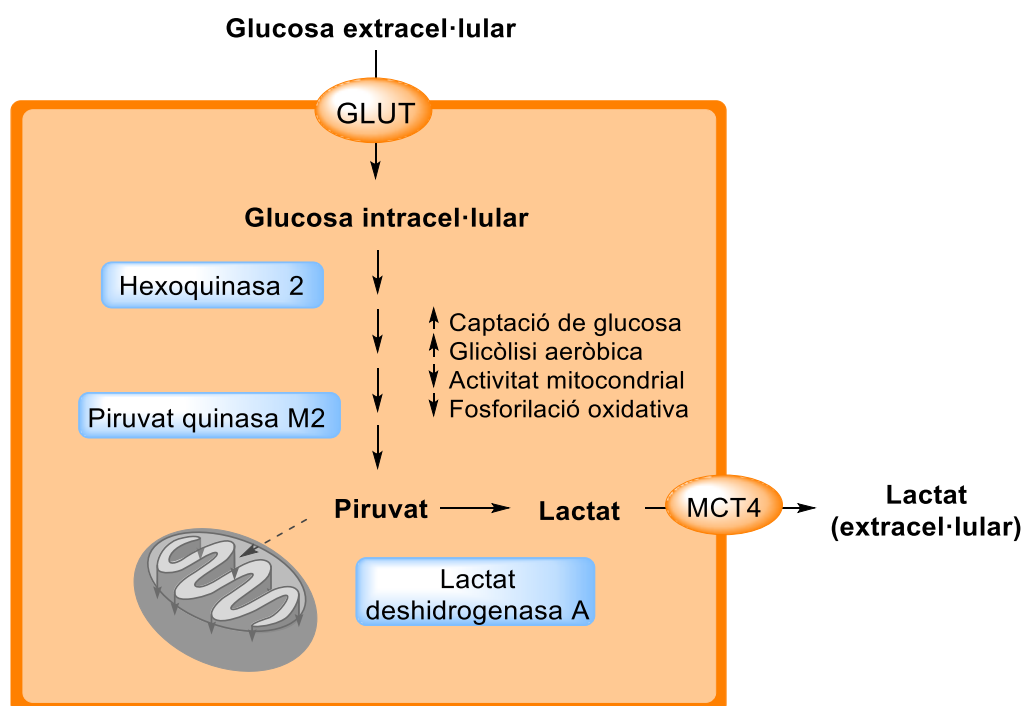


Figura 23. Efecte Warburg⁷⁵

En presència d'oxigen, la majoria de les cèl·lules diferenciades metabolitzen principalment la glucosa, per oxidació completa a través de la respiració, en diòxid de carboni. De fet, només en condicions anaeròbiques, les cèl·lules diferenciades produeixen grans quantitats de lactat. Les cèl·lules canceroses, tanmateix, es comporten de manera diferent, produint grans quantitats de lactat independentment de la disponibilitat d'oxigen a través de l'anomenada glicòlisi aeròbica. Aquest metabolisme és menys eficaç en quant a la producció d'energia en forma d'ATP, ja que per cada molècula de glucosa només és capaç de generar 2 ATP, enfront dels 36 ATPs que

⁷⁴ M. G. Vander Heiden, L. C. Cantley, C. B. Thompson. *Science* **2009**, 324, 1029-1033

⁷⁵ <https://www.sebbm.es/web/es/divulgacion/rincon-profesor-ciencias/articulos-divulgacion-cientifica/1063-glicolisis-efecto-warburg-y-flexibilidad-metabolica-tumoral> (Data: 08/10/2018)

obtenen a través de la fosforilació oxidativa. Tanmateix, s'ha observat que les cèl·lules en proliferació tenen importants requisits metabòlics que s'estenen més enllà de l'ATP, com és la ràpida producció d'esquelets de carboni per a la síntesi de proteïnes i àcids nucleics, i d'elements reductors. Aquest fet, i que l'energia no sigui un factor limitant del creixement, presenta un avantatge en la proliferació de les cèl·lules tumorals i proporciona una explicació a per què el metabolisme de les cèl·lules cancerígenes evoluciona cap a la glicòlisi aeròbica.⁷⁶ A més, l'efecte Warburg ha demostrat facilitar la supervivència de les cèl·lules al disminuir la generació de ROS derivat del metabolisme oxidatiu.⁷⁷

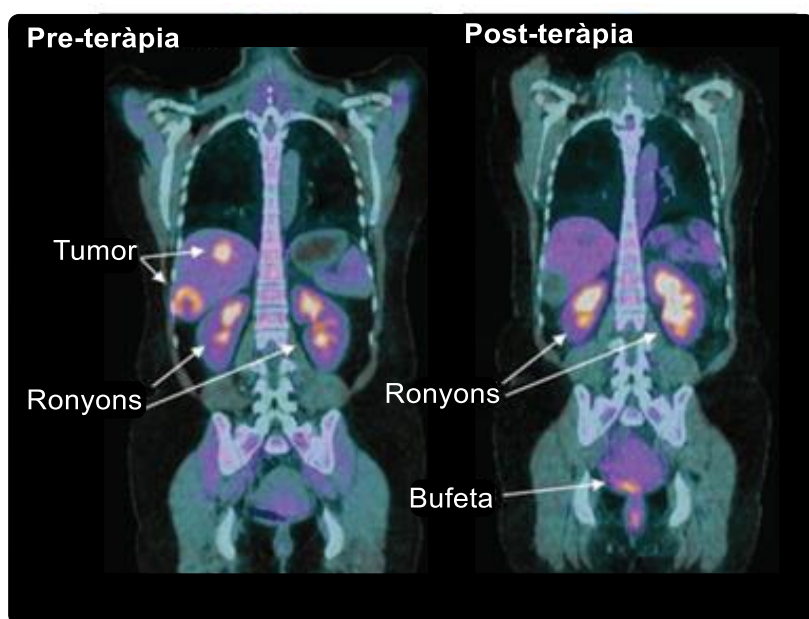


Figura 24. Tomografia per emissió de positrons, utilitzant un anàleg de la glucosa, d'un sarcoma maligne abans i després de la teràpia antitumoral⁷⁴

Aquests canvis metabòlics que es donen en les cèl·lules tumorals, en gran part sorgeixen per efecte directe dels oncogenes i gens supressors de tumors, que actuen sobre determinats enzims que estan involucrats en el metabolisme energètic cel·lular. Com a conseqüència, trobem una elevada expressió d'aquests enzims, la inhibició dels quals podria permetre una teràpia alternativa per frenar el desenvolupament del càncer.

Enzims glicolítics clau com l'hexoquinasa 2 (HK2), la fosfofructoquinasa 1 (PFK1) i la lactat deshidrogenasa A (LDHA), entre d'altres, es troben sobreexpressats degut a l'activitat transcripcional elevada dels oncogenes c-Myc i HIF-1 α , exercint un paper

⁷⁶ M. V. Liberti, J. W. Locasale. *Trends Biochem. Sci.* **2016**, 41, 211-218

⁷⁷ J. Lu, M. Tan, Q. Cai. *Cancer Lett.* **2015**, 356, 156-164

fonamental en la supervivència de les cèl·lules tumorals, invasió i metàstasi, així com en la remodelació de la cromatina i regulació de l'expressió gènica.⁷⁸

D'altra banda, enzims involucrats en la via de les pentoses fosfat, com és la glucosa-6-fosfat deshidrogenasa, presenten importants efectes a nivell de proliferació, apoptosi, invasió, resistència als medicaments i metàstasi.⁷⁹ Es considera que la G6PDH és la proteïna que exerceix un major control del flux metabòlic a través de la fase oxidativa de la via de les pentoses fosfat, exercint un rol proliferatiu important quan es troba desregulada. És per aquest motiu que actualment la inhibició de la G6PDH, primer i més limitant enzim d'aquesta via, és un potencial objectiu de la teràpia anticancerígena. A continuació, es presenten les principals característiques d'aquest enzim, la seva participació en el metabolisme cel·lular, així com la seva regulació i principals inhibidors estudiats.

1.2.3.1. Glucosa-6-fosfat deshidrogenasa (G6PDH)

La glucosa-6-fosfat deshidrogenasa (G6PDH) és un enzim essencial involucrat en la primera reacció de la branca oxidativa de la ruta de les pentoses fosfat (PPP). Es coneix des de fa temps que la seva activitat està correlacionada directament amb el creixement cel·lular, situació en la qual es troba sobreexpressada. La inhibició de la seva activitat i, per tant, la consegüent inhibició de la via de les pentoses fosfat, ha demostrat evitar el creixement cel·lular i afavorir la mort cel·lular mediada per ROS (especies reactives d'oxigen). Aquesta implicació en el creixement i mort cel·lular, la converteix en una nova potencial diana per al tractament del càncer.⁸⁰

La glucosa, que és la principal font d'energia, un cop transportada a les cèl·lules és fosforilada per l'enzim hexoquinasa. La glucosa-6-fosfat obtinguda, es pot utilitzar per produir energia en forma d'ATP i NADH, per emmagatzemar energia en forma de glucogen o oxidar-se a través de la via de les pentoses fosfat (PPP) (**Figura 25**).⁸¹

⁷⁸ P. Liem Minh, Y. Sai-Ching Jim, L. Mong-Hong. *Cancer Biol. Med.* **2014**, *11*, 1-19

⁷⁹ C. Riganti, E. Gazzano, M. Polimeni, E. Aldieri, D. Ghigo. *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *53*, 421-436

⁸⁰ C. Obiol Pardo, G. Alcarraz Vizán, S. Díaz Moralli, M. Cascante, J. Rubio Martínez. *J. Mol. Graph. Model.* **2014**, *49*, 110-117

⁸¹ K. C. Patra, N. Hay. *Trends Biochem Sci.* **2014**, *39*, 347-354

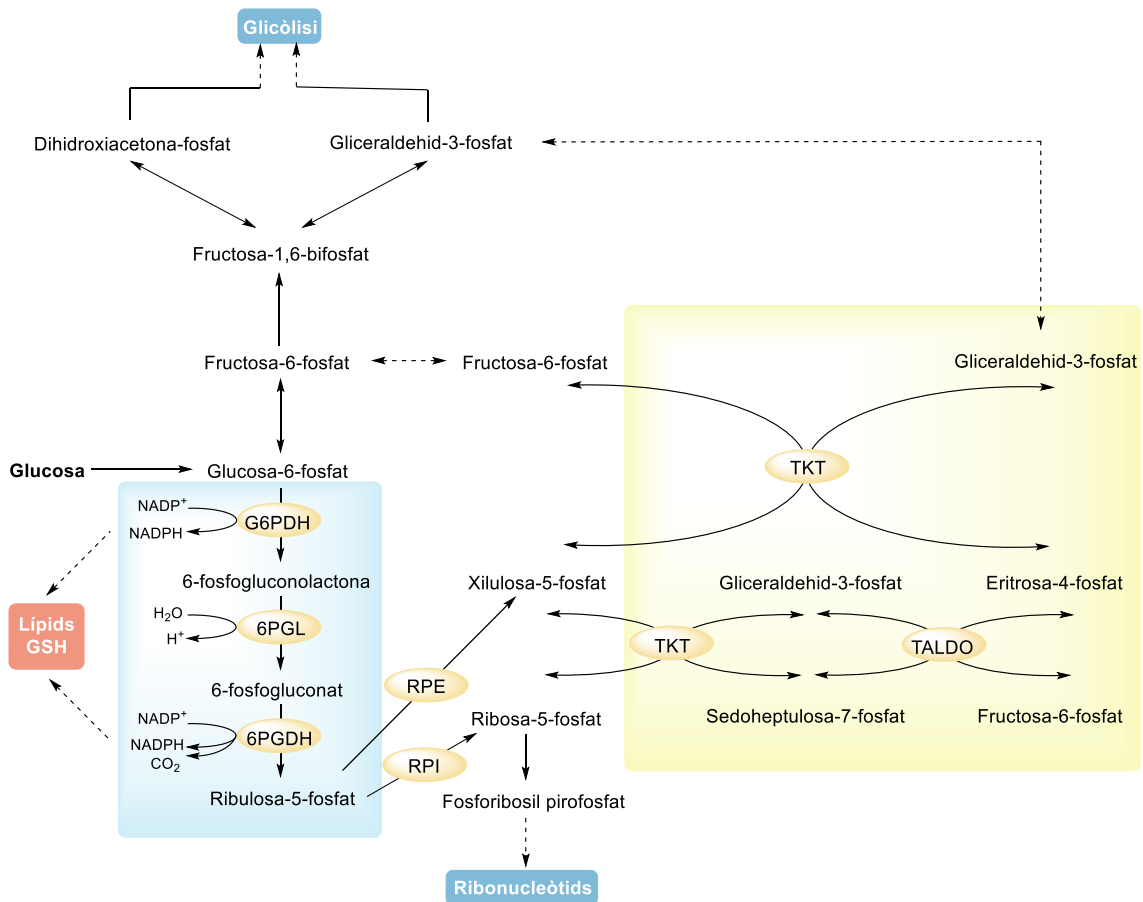


Figura 25. Via de les pentoses fosfat⁸¹

La via de les pentoses fosfat és una ruta important en el metabolisme de la glucosa, que s'ha vist que té un paper fonamental en el creixement del càncer i en la metàstasi. Aquesta es dona en el citosol cel·lular i es compon d'una etapa oxidativa inicial, de la qual la G6PDH és el primer enzim limitant, i una etapa no oxidativa, en la que la transcetolasa i la transaldolasa són els enzims claus. Els principals productes de la via de les pentoses fosfat són la ribosa-5-fosfat, que es requereix per a la síntesi d'àcids nucleics, i l'NADPH, generat a partir d'NADP⁺ per la G6PDH i el següent enzim de la via, la 6-fosfogluconat deshidrogenasa (6PGDH).

La branca oxidativa està formada per tres reaccions irreversibles. Durant la primera reacció, la glucosa-6-fosfat és oxidada a 6-fosfogluconolactona mitjançant la G6PDH i generant una molècula d'NADPH, que posteriorment s'hidrolitza a 6-fosfogluconat per la fosfogluconolactonasa (6PGL). La tercera reacció és la descarboxilació oxidativa del 6-fosfogluconat, catalitzada per la 6-fosfogluconat deshidrogenasa (6PGDH), que dona lloc a la ribulosa 5-fosfat amb la conseqüent generació d'una segona molècula d'NADPH.

La ribulosa 5-fosfat pot seguir diferents destins, completar la via oxidativa i donar lloc a la ribosa 5-fosfat per acció d'una isomerasa o, entrar a la via no oxidativa, on per una sèrie de transformacions regenera la glucosa-6-fosfat a partir de la fructosa 6-fosfat. Aquesta branca, a diferència de l'oxidativa, està formada per reaccions reversibles.

La glucosa-6-fosfat utilitzada en la ruta pot anar cap a la glucòlisi, ja que els sucres finals produïts per la via de les pentoses fosfat, el gliceraldehid-3-fosfat i la fructosa-6-fosfat, són intermediaris glucolítics.

Els enzims de la ruta estan regulats principalment de forma al·lostèrica pels seus substrats catalítics, així com per altres metabòlits. La reversibilitat de la branca no oxidativa de la via de les pentoses fosfat, i la regulació al·lostèrica dels enzims, permeten que la via s'adapti a les demandes metabòliques cel·lulars, redirigint el flux catalític cap a la generació de pentoses fosfat, per a la síntesi d'àcids nucleics, o d'NADPH, per a la síntesi d'àcids grassos, així com per a la supervivència cel·lular en condicions d'estrès.

1.2.3.1.1. Estructura de la G6PDH

L'estructura cristal·lina de la G6PDH es coneix a través de raigs X i està disponible al banc de dades PDB (*Protein Data Bank*). Actualment, trobem les corresponents a *Leuconostoc mesenteroides* (LmG6PDH), *Mycobacterium avium* (MaG6PDH), *Trypanosoma cruzi* (TcG6PDH) i humana (HsG6PDH).⁸²

La G6PDH humana activa es pot trobar en forma de dímer o tetràmer. L'estructura primària de la proteïna (monòmer) consta de 515 aminoàcids i un pes molecular de 59 kDa. El dímer està compost per dos monòmers idèntics anomenats β - α i β + α , units entre sí mitjançant una estructura d'hèlix α i presenten llocs d'unió per a la G6P (a voltant de Lys386) i l'NADP (al voltant de Lys205), aquest últim situat al plegament de Rossmann. A més, presenta un lloc d'unió al·lostèric per a l'NADP al voltant de l'extrem N-terminal, que només es troba en organismes superiors com l'ésser humà. Aquest lloc d'unió addicional al NAPD sembla que podria actuar estabilitzant el dímer, mantenint així la proteïna en la seva conformació activa, ja que l'activitat catalítica només s'inicia quan s'estableix una associació en estat d'equilibri entre la forma dimèrica i la tetramèrica (**Figura 26**). Per a que aquesta associació es doni, es requereix de la presència d'NADP, que exerceix un doble paper, estructural i com a coenzim. La relació de concentracions

⁸² G. F. Mercaldi, A. Dawson, W. N. Hunter, A. T. Cordeiro. *FEBS Letters*. **2016**, 590, 2776-2786

NADP/NADPH constitueix un mecanisme controlador de l'activitat de la G6PDH i, per tant, de la ruta pentosa fosfat.^{83,84}

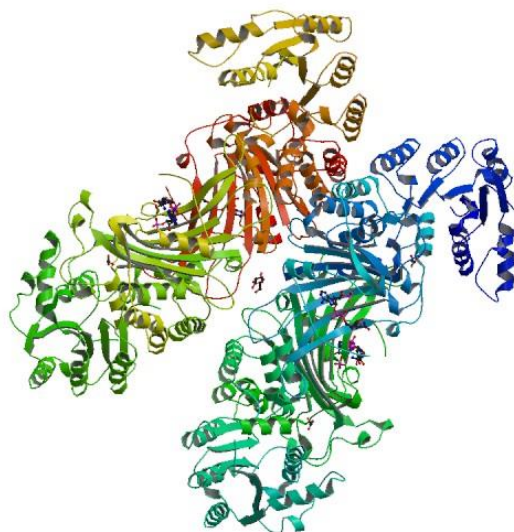


Figura 26. Estructura de la G6PDH humana en complex amb NADP estructural⁸⁵

1.2.3.1.2. Funcions⁸⁶

Com s'ha comentat anteriorment, la G6PDH constitueix l'enzim responsable de l'activitat catalítica del primer pas de la branca oxidativa de la ruta de les pentoses fosfat. L'oxidació irreversible de la glucosa-6-fosfat dona lloc a la 6-fosfogluconolactona en un procés dependent d' NADP^+ com a coenzim, generant NADPH. L'NADPH obtingut és indispensable per protegir les cèl·lules del dany oxidatiu i, com veurem més endavant, presenta un paper important en la progressió del tumor.

Les funcions principals de la G6PDH es deuen a la seva participació en els processos cel·lulars següents:

- Gènesi d'NADPH i àcids nucleics. La G6PDH participa en la ruta de les pentoses fosfat, una de les rutes metabòliques de major impacte en la proliferació cel·lular. Aquesta ruta, que consta de dos fases, la oxidativa i no oxidativa, produeixen sucres de 5 carbonis (pentoses) essencials per a la producció de nucleòtids i, finalment, de material genètic.
- L'NADPH que s'obté, participa en la biosíntesi de colesterol, d'àcids grassos i en la síntesi de l'òxid nítric (NO). A més, l'NADPH és un agent reductor

⁸³ A. Hirono, S. Miwa. *Haematologia (Budap.)* **1993**, 25, 85-97

⁸⁴ S. W. Au, S. Gover, V. M. Lam, M. J. Adams. *Structure* **2000**, 8, 293-303

⁸⁵ <http://www.rcsb.org/structure/1QKI> (Data: 25/07/19)

⁸⁶ J. F. Bonilla, M. C. Sánchez, L. Chuaire. *Colomb. Med.* **2007**, 38, 68-75

imprescindible, que juga un paper important en la mort cel·lular i intervé en multitud de processos fisiològics tals com la defensa antioxidant d'eritròcits, eritropoesi, modulació del creixement endotelial vascular que regula l'angiogènesi, fagocitosi i vascularització.

- Intervé en l'activitat de la metahemoglobina reductasa i en el control del nivell de glutatió reduït (GSH).

Aquestes funcions són les responsables de que es trobi amb nivells elevats en teixits on la via de les pentoses fosfat és molt activa com les glàndules adrenals, que participen activant respostes vinculades a l'estrès; el fetge i teixit adipós, on la síntesi d'àcids grassos és molt activa; o els glòbuls vermells, que es troben exposats a un elevat estrès oxidatiu induït per radicals lliures (**Taula 7**).

Taula 7. Teixits que expressen nivells elevats de G6PDH

Teixits	Funció
Glàndula adrenal	Síntesi d'esteroides
Fetge	Síntesi d'àcids grassos i colesterol
Testicles	Síntesi d'esteroides
Teixit adipós	Síntesi d'àcids grassos
Ovari	Síntesi d'esteroides
Glàndules mamàries	Síntesi d'àcids grassos
Eritròcits	Mantenir el glutatió reduït

A més, és essencial per a la supervivència de determinats paràsits. L'ambient reduït que confereix el GSH i l'NADPH que genera la G6PDH, fa possible el desenvolupament de *Plasmodium falciparum*. Aquest protozou, causant de la malària, colonitza els glòbuls vermells de l'ésser humà i és molt sensible a les condicions oxidants, les quals inhibeixen el seu desenvolupament i creixement. Un altre exemple de l'important paper que exerceix aquest enzim es troba en les formes sanguínies de *Trypanosoma brucei*, on l'esgotament de la G6PDH causa la mort del paràsit.⁸²

1.2.3.1.3. Regulació de la G6PDH

L'NADPH és un potent inhibidor competitiu de la G6PDH, de manera que l'activitat de l'enzim està regulada principalment per la relació NADPH/NADP⁺ (**Figura 27**). Quan aquesta relació disminueix, l'enzim augmenta la seva activitat per proporcionar més NADPH. Un clar exemple és quan es sotmet a la cèl·lula a l'acció d'oxidants.

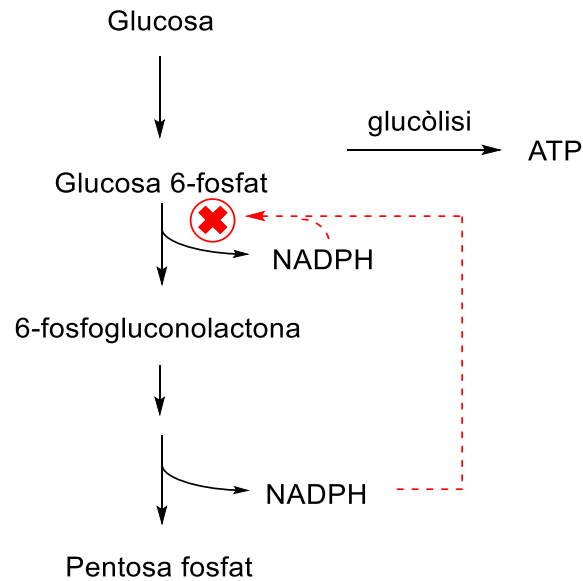


Figura 27. Regulació mitjançant nivells d’NADPH

Aquest NADPH, com s’ha comentat anteriorment, és essencial per al manteniment de l’equilibri redox cel·lular, així com per a la síntesi de diversos compostos lipídics i esterols. S’obté principalment a través de quatre enzims, la 6PGDH, la malat deshidrogenasa, la isocitrat deshidrogenasa i la G6PDH, sent aquesta última la responsable de proporcionar la major part de l’NADPH necessari per al manteniment d’uns bons nivells i, per tant, dels processos cel·lulars i metabòlics normals. Així mateix, l’NADPH és necessari, directa o indirectament, per al funcionament de diversos enzims, dels quals destaquen l’òxid nítric sintetasa, la dihidrofolat reductasa, les NADPH oxidases, el Citocrom P450 oxidoreductasa, i enzims implicats en la defensa antioxidant (catalasa i glutatió reductasa) i síntesi de lípids (HMG-CoA reductasa).⁸⁷

Actualment, es coneix que la G6PDH està àmpliament regulada per estímuls extracel·lulars i vies de senyalització que regulen l’expressió i modulen la seva activitat a diferents nivells: transcripcional, traduccional, post-traduccional i a nivell de localització intracel·lular. Tot i això, la regulació post-traduccional, que té lloc per fosforilació de l’enzim i unió directa a altres proteïnes, sembla ser la més significativa (**Taula 8**).

⁸⁷ R. C. Stanton. *IUBMB Life* **2012**, *64*, 362-369

Taula 8. Reguladors de l'activitat / localització de la G6PDH⁸⁰

Reguladors de l'activitat / localització de la G6PDH	
Reguladors positius	Reguladors negatius
PDGF	Aldosterona
EGF	AMPc
VEGF	PKA
HGF	CREM
Insulina	Àcid araquidònic
Vitamina D	p38 MAPK
PI3-K	p53
Fosfolipasa C- γ	TNF α
RAS-GTPasa	AMPK
PKG	
mTOR	
S6-cinasa	
Src (sarcoma)	
TIGAR	
Hsp27	
ATM	
SREBP	
Nrf2	

Les cèl·lules en estat de quiescència presenten la G6PDH al voltant del nucli unida a elements estructurals i, quan aquesta és estimulada, es transloca a la membrana plasmàtica. Alguns factors de creixement tals com el factor de creixement derivat de plaquetes (PDGF) i el factor de creixement epidèrmic (EGF), estimulen l'activació així com la translocació intracel·lular de l'enzim per la interacció amb els receptors de membrana amb activitat tirosina quinasa. Aquest efecte sembla estar mediat per les proteïnes transductores de senyal fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), la Fosfolipasa C- γ i les Ras-GTPases.⁸⁸ A més, el factor de creixement endotelial vascular (VEGF), a través de la via de senyalització pro-oncogènica Src, és capaç de produir la fosforilació directa de la G6PDH i induir la seva translocació.⁸⁰

D'altra banda, l'activació de la via de senyalització PI3K/Akt, activa l'mTORC1, responsable de l'activació del factor de transcripció SREBP1 i, per tant, de l'increment

⁸⁸ W. N. Tian, J. N. Pignatere, R.C. Stanton. *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 14798-14805

de la transcripció del gen que codifica la G6PDH. SREBP es troba també involucrat en la síntesi d'àcids grassos, ja que incrementa el flux de la via oxidativa de les pentoses fosfat per tal d'assegurar els nivells d'NADPH necessaris per a la formació dels lípids.⁸⁰

La regulació del gen que codifica la G6PDH també es veu afectat pel factor nuclear 2 (Nrf2). Aquest factor de transcripció, en resposta a l'estrès oxidatiu, activa la transcripció de la G6PDH, així com d'altres enzims de la via de les pentoses fosfat. L'expressió de Nrf2 és elevada per K-Ras i B-Raf, així com per la sobreexpressió de Myc, i el seu nivell es manté en les cèl·lules que mostren una hiperactivació de les vies de senyalització PI3K/Akt, com és el cas de les cèl·lules canceroses.⁸⁰

Un altre agent regulador de la G6PDH és TIGAR (regulador de la glucòlisi i apoptosi induïble per TP53), una senyal derivada de l'activació del gen supressor de tumors p53. L'activació de TIGAR dona lloc a una disminució dels nivells de ROS per mitjà de l'activació de la G6PDH i de la via de les pentoses fosfat. Tanmateix, p53 ha demostrat la inhibició de l'activitat de la G6PDH al impossibilitar l'acoblament dels monòmers que donen lloc al dímer actiu. D'altra banda, s'ha trobat que la proteïna p73, que està relacionada amb la p53, promou la proliferació cel·lular per inducció de l'expressió de la G6PDH.^{80,92,89}

Quan es produeix un dany en l'ADN o estrès oxidatiu, es mostra una elevació en l'activitat de l'atàxia telangiectàsia mutada (ATM). Aquesta quinasa, mitjançant la fosforilació de la proteïna de xoc tèrmic Hsp27, permet la interacció proteïna-proteïna que estimula l'activitat de la G6PDH.⁸⁰

Així com trobem reguladors positius, també trobem agents que disminueixen l'activitat de la G6PDH (reguladors negatius). En alguns tipus cel·lulars, s'ha demostrat que l'activació de la G6PDH és inhibida per l'augment de monofosfat d'adenosina cíclic (AMPc) i proteïna quinasa A (PKA). Nivells elevats d'AMPc estimulats per la glucosa, produeixen l'activació de PKA, proteïna responsable de la fosforilació dels residus de serina i treonina de la G6PDH i, per tant, de la inhibició de la seva activitat. A més a més, l'AMPc també és capaç de modular negativament la transcripció del gen que codifica per la G6PDH, a través de la fosforilació de la proteïna d'unió dels elements de resposta a AMPc (CREB).^{90,91}

⁸⁹ E. C. Cheung, R. L. Ludwig, K. H. Vousden. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2012**, *109*, 20491-20496

⁹⁰ P. Jiang, W. Du, M. Wu. *Protein Cell.* **2014**, *5*, 592-602

⁹¹ Z. Zhang, K. Apse, J. Pang, R. C. Stanton. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 40042-40047

Un altre regulador negatiu de la G6PDH és l'àcid araquidònic, un àcid gras poliinsaturat capaç de contrarestar l'estimulació de l'expressió de la G6PDH produïda per la insulina. L'àcid araquidònic produeix l'activació de la cinasa p38 MAPK, que per inducció de la fosforilació de la Ser³⁰⁷ de IRS-1, substrat primordial en la via de senyalització de la insulina, inhibeix la seva activació. D'altra banda, la fosforilació de la Ser³⁰⁷ interfereix també en l'activitat de la PI3K, bloquejant la seva activació per insulina com a conseqüència de la disminució en la fosforilació del residu Ser⁴⁷³ de Akt. S'ha trobat, que el factor de necrosis tumoral α (TNF α), un conegut activador de MAP quinases, també produeix una disminució de l'activitat de la G6PDH a través de la participació en aquesta via.⁹²

Sembla ser que l'aldosterona promou disfunció endotelial per reducció de l'expressió i activitat de la G6PDH. Això és degut a l'augment de l'expressió de l'element modulador de resposta a AMPc (CREM), que inhibeix la transcripció de G6PDH mediada per la unió a l'element de resposta a AMP (CREB), amb el resultant augment de l'estrès oxidatiu i disminució de la producció d'òxid nítric (NO).⁹³

1.2.3.1.4. Inhibidors de la G6PDH

Actualment, es considera la G6PDH com una proteïna diana per a la teràpia del càncer donat que un dels productes finals de la ruta de les pentoses fosfat, la ribosa-5-fosfat, és necessària per a la síntesi d'àcids nucleics i progressió tumoral. A més, com a conseqüència del metabolisme accelerat que presenten les cèl·lules canceroses, requereixen de nivells elevats d'NADPH per lluitar contra l'estrès energètic i oxidatiu al que estan sotmeses. Com ja s'ha comentat anteriorment, la major quantitat d'NADPH es genera en l'etapa on està involucrada la G6PDH, de la qual és l'enzim limitant.

Tot i l'interès generat per aquest camp d'investigació, avui dia encara no es disposa de compostos comercialitzats com a inhibidors de la G6PDH per al tractament del càncer. Antitumorals coneguts com el *metotrexat* i el *metamizole* inhibeixen la G6PDH, però no es coneixen els punts d'interacció amb l'enzim ni el grau d'unió. A més, aquests fàrmacs actuen per altres mecanismes més estudiats i millor coneguts.⁹⁴ La combinació de *cefaperazone/sulbactam* i *ampicillin/sulbactam*, inhibeixen l'enzim de manera competitiva i no competitiva, respectivament, però també existeix poca informació sobre

⁹² I. Talukdar, W. Szeszel-Fedorowicz, L. M. Salati. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 40660-40667

⁹³ J. A. Leopold, A. Dam, B. A. Maron, A. W. Scribner, R. Liao, D. E. Handy, R. C. Stanton, B. Pitt, J. Loscalzo. *Nat. Med.* **2007**, *13*, 189-197

⁹⁴ M. Cifti, I. Ozmen, M. E. Buyukokuroglu, S. Pence, O. I. Kufrevioglu, *Clin. Biochem.* **2001**, *34*, 297-302

el lloc d'unió i mecanisme d'acció.⁹⁵ Altres productes inhibidors de la G6PDH comercialitzats estan indicats per al tractament de parasitosis produïdes per alguns protozous del gènere *Trypanosoma* (*T. brucei* i *T. Cruzi*). Les diferències estructurals de l'enzim del paràsit respecte l'homòleg humà són les responsables de la major afinitat i activitat que presentin aquests compostos enfront la G6PDH del paràsit.^{82,96}

Per al desenvolupament de nous fàrmacs inhibidors de la G6PDH es segueix un procés llarg i exhaustiu, on els possibles compostos candidats han de passar diferents fases. El procés de selecció comença a partir d'una biblioteca de compostos assequibles comercialment on es realitza un cribratge d'aquells que compleixen les característiques establertes per estudis de modelització. Aquests estudis han permès establir els punts d'interacció amb la diana, a partir de la G6PDH humana cristal·litzada (**Figura 28**). Seguidament, els compostos escollits es sotmeten a una sèrie de filtres que seleccionen els millors candidats. Aquests filtres tenen en compte les característiques del farmacòfor teòric establert i, paràmetres fisicoquímics i electrònics. El limitat número de compostos que aconsegueixen passar aquest procés de selecció s'anomenen compostos guia i poden modificar-se químicament amb el fi de millorar algunes propietats (selectivitat, absorció, seguretat, estabilitat, etc.). Aquests compostos resultants es converteixen en candidats a fàrmacs i es sotmetran a les proves preclíniques, etapa següent en el desenvolupament de nous fàrmacs.

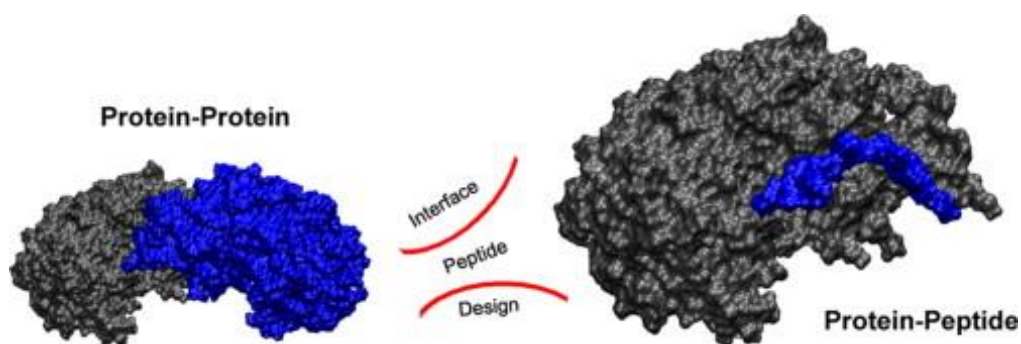


Figura 28. L'anàlisi computacional de la interfície proteïna-proteïna de la G6PDH permet dissenyar peptidus interfície basats en la seqüència de la proteïna⁸⁰

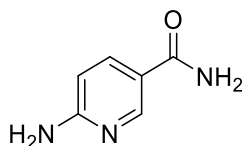
A continuació, es mostren els mecanismes d'acció dels inhibidors de la G6PDH disponibles i de les molècules que es troben encara en procés d'investigació.

⁹⁵ M. Cifti, I. M. E. Buyukokuroglu, O. I. Kufrevioglu, *J. Basic Clin. Physiol. Pharm.* **2001**, *12*, 305-313

⁹⁶ C. Ortiz, F. Moraca, A. Medeiros, M. Botta, N. Hamilton, M. A. Comini. *Molecules* **2016**, *21*, 368

a) 6-aminonicotinamida (6-AN)

La 6-aminonicotinamida (6-AN) és un inhibidor competitiu de la glucosa-6-fostat deshidrogenasa (G6PDH) i del 6-fosfogluconat (6PGD), per a la qual presenta una major afinitat. Mitjançant l'acció de l'NADP⁺ glicohidrolasa es converteix en 6-aminoNAD (6ANAD) i 6-aminoNADP (6ANADP), antimetabòlits amb capacitat per inhibir els processos químics on estan implicats els nucleòtids piridínics.⁹⁷



6-aminonicotinamida

Ha estat àmpliament utilitzada per inhibir la ruta de les pentoses fosfat en molts sistemes cel·lulars, i és degut al paper essencial d'aquesta via en la generació de poder reductor (NADPH) i intermediaris metabòlics (ribosa-5-fosfat) per a la síntesi de macromolècules, que la 6-AN mostra activitat anticancerígena. La susceptibilitat a l'estrès oxidatiu que ocasiona i la sensibilització de les cèl·lules a agents anticancerígens i a la radiació, fa que diversos estudis l'hagin considerat com un bon inhibidor en el tractament de diferents tipus de càncer en teràpia combinada.^{98,99,100} Tot i així, presenta efectes adversos importants, que inclouen lesions irreversibles del sistema nerviós central o deficiència de vitamines del grup B, que han fet que es limités el seu ús a la recerca.¹⁰¹

b) Nicotinamida (NAM)

La nicotinamida és la forma activa de la vitamina B₃ o niacina i un component dels coenzims nicotinamida adenina dinucleòtid (NAD) i nicotinamida adenina dinucleòtid fosfat (NADP). Aquests coenzims són els responsables de les reaccions de transferència d'energia i necessaris per a la respiració dels teixits, glucòlisis i metabolisme de lípids, aminoàcids, proteïnes i purines. La nicotinamida, també anomenada niacinamida, presenta accions antioxidants, immunoreguladores i activitats

⁹⁷ S. H. Almgudam, A. Trentini, M. Maritati, C. Contini, G. Rugna, T. Bellini, M. C. Manfrinato, F. Dallochio, S. Hanau. *Chem. Biol. Interact.* **2018**, 294, 167-177

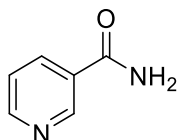
⁹⁸ R. Bhardwaj, P. K. Sharma, S. P. Jadón, R. Varshney. *Tumor Biol.* **2012**, 33, 1021-1030

⁹⁹ L. D. Nord, R. L. Stolfi, A. A. Alfieri, G. Netto, V. Reuter, S. S. Sternberg, J. R. Colofiore, J. A. Koutcher, D. S. Martin. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1997**, 40, 376-384

¹⁰⁰ I. I. Buddihardjo, D. L. Walker, P. A. Svingen, C. A. Buckwalter, S. Desnoyers, S. Eckdahl, G. M. Shah, G. G. Poirier, J. M. Reid, M. M. Ames, S. H. Kaufmann. *Clin. Cancer Res.* **1998**, 4, 117-130

¹⁰¹ F. P. Herter, S. G. Weissman, H. G. Thompson, G. Hyman, D. S. Martin. *Cancer Res.* **1961**, 21, 31-37

antiapoptòtiques i anticancerígenes. S'ha utilitzat com un agent de sensibilització química i radio a l'augmentar el flux sanguini del tumor, reduint així la hipòxia tumoral. A més, aquest agent inhibeix les polimerases de poli (ADP-ribose), enzims involucrats en la reincorporació de ruptures de la cadena d'ADN induïdes per radiació o quimioteràpia.¹⁰²



nicotinamida

La *nicotinamida* ha estat àmpliament utilitzada per tractar múltiples malalties com l'esquizofrènia, la psoriasis i l'artritis reumatoide.¹⁰³ S'ha comprovat que el tractament amb elevades dosis de *nicotinamida* prevé o retarda la diabetis tipus I i protegeix les cèl·lules β de la seva destrucció, així com també disminueix la producció d'agents proinflamatoris com el factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina 6, NO, PGE2 i la generació de ROS. Aquests efectes protectors s'atribueixen a la inhibició de la poli-ADP-ribosil polimerasa (PAPR) i en menor mida a la mono-ADP-ribosil transferasa (ADPRT), modificant les vies de mort cel·lular i els patrons d'expressió gènica que comporten una major supervivència de les cèl·lules β i una alteració de l'equilibri immunoregulador a l'afectar l'ectoenzim CD38 unit a l'ADP ribosil transferasa.^{104,105}

En relació amb la diabetis tipus II, la utilització del mononucleòtid de *nicotinamida* millora la sensibilitat a la insulina per mitjà de la disminució de l'expressió dels gens relacionats amb l'estrès oxidatiu, la resposta inflamatòria i l'activitat de les sirtuïnes (histones desacetilases NAD-dependents).

D'altra banda, com a precursor de l' NAD^+ i degut a l'augment de la seva disponibilitat, activa indirectament la proteïna quinasa activada per AMP (AMPK) per mitjà de la via de les sirtuïnes i amb la conseqüent inhibició de les proteïnes implicades en el metabolisme lipídic, com HSL, ACC i FAS. Això comporta una millora del metabolisme oxidatiu i

¹⁰² <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/nicotinamide> (Data: 20/08/18)

¹⁰³ A. Lenglet, S. Liabeuf, P. Guffrov, A. Fournier, M. Brasero, Z. A. Massy. *Drugs* **2013**, *13*, 165-173

¹⁰⁴ H. Kolb, V. Burkart. *Diabetes Care*. **1999**, *22*, 16-20

¹⁰⁵ R. Biedron, M. Ciszek, M. Tokarczyk, M. Bobek, M. Kurnyta, E. M. Slominska, R. T. Smolenski, J. Marcinkiewicz. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. **2008**, *56*, 127-134

protecció contra les anormalitats metabòliques induïdes per dietes elevades en greixos.^{106,107}

Pel que fa a l'activitat sobre la G6PDH, la *nicotinamida* és un inhibidor no competitiu de l'enzim. S'uneix de manera alostèrica a la G6PDH, afectant la seva afinitat pel l'NADP⁺. Estudis recents demostren que l'acció de NAM sobre la G6PDH inhibeix l'acumulació de lípids i la producció de ROS al regular l'expressió de gens adipogènics i la resposta d'enzims antioxidants en els adipòcits. Aquest efecte pot ser d'interès terapèutic en el tractament i la prevenció de la obesitat i les malalties associades a aquesta.¹⁰⁸

També presenta beneficis en trastorns cardiovasculars com la insuficiència cardíaca, complicacions diabètiques, cardiomiopaties, isquèmia o aterosclerosi, ja que la *nicotinamida* incrementa els nivells d'NAD⁺, ATP i enzims antioxidants, reduint la necrosi i els nivells de ROS i nitrogen que es generen en els cardiomiòcits i cèl·lules endotelials.¹⁰⁹

c) Dihidroepiandrosterona (DHEA)

La *dihidroepiandrosterona* (DHEA) és una hormona esteroide natural sintetitzada principalment en la zona reticular del còrtex adrenal, els nivells de la qual augmenten de forma ràpida a la pubertat, fins assolir valors màxims als 25-30 anys. A partir d'aquest moment els nivells comencen a disminuir, mostrant-se una disminució de fins el 90% en persones d'edat avançada.

La DHEA és un substrat per a la síntesi d'andrògens i estrògens, tot i que també actua en el SNC com a agent neuroprotector i estimulador del sistema immunològic. Diversos estudis epidemiològics li confereixen activitat protectora enfront de malalties cardíques i increment en la longevitat atribuïble a l'acció vasodilatadora, antienvelliment, antiinflamatòria i antiateroscleròtica.¹¹⁰

També se li atribueixen efectes antiproliferatius i protectors davant de determinats tumors, com el càncer de mama, fetge i coll uterí, per l'acció sobre la G6PDH,

¹⁰⁶ C. Cantó, R. H. Houtkooper, E. Pirinen, D. Y. Youn, M. H. Oosterveer, Y. Cen, P. J. Fernández Marcos, H. Yamamoto, P. A. Andreux, P. Cettour Rose, K. Gademann, C. Rinsch, K. Schoonians, A. A. Sauve, J. Auwerx. *Cell. Metab.* **2012**, *15*, 838-847

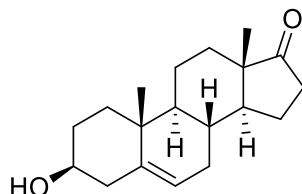
¹⁰⁷ R. Jokinen, S. Pirnes-Karhu, K. H. Pietiläinen, E. Pirinen. *Redox. Biol.* **2017**, *12*, 246-263

¹⁰⁸ N. Torres Ramírez, L. A. Baiza Gutman, R. García Macedo, C. Ortega Camarillo, A. Contreras Ramos, R. Medina Navarro, M. Cruz, M. A. Ibáñez Hernández, M. Díaz Flores. *Life Sci.* **2013**, *93*, 975-985

¹⁰⁹ P. Pacher, C. Szabó. *Cardiovasc. Drug. Rev.* **2007**, *25*, 235-260

¹¹⁰ J. M. Mendivil Dacal, V. M. Borges. *Actas urológicas españolas* **2009**, *33*, 390-401

considerant-se un potent inhibidor de l'oxidació de la glucosa-6-fosfat.¹¹¹ Aquesta inhibició, de caràcter no competitiu, es produeix mitjançant la unió de la DHEA al complex ternari que es forma per a l'obtenció del 6-fosfogluconat, integrat per la glucosa-6-fosfat, el coenzim NADP i la G6PDH.¹¹²



dihidroepiandrosterona

Com ja s'ha esmentat anteriorment, la inhibició de la G6PDH comporta l'acumulació d'espècies reactives d'oxigen (ROS), detenció del cicle cel·lular i apoptosi. Aquest augment de l'estrès oxidatiu, juntament amb la disminució de la inflamació, serien els responsables de l'activitat anticancerígena de la DHEA.¹¹³

Tot i els efectes positius que presenta, l'ús terapèutic de DHEA està limitat per les elevades dosis requerides i pels seus efectes secundaris sobre les hormones sexuals, ja que la DHEA es metabolitza en andrògens actius com són la *testosterona* i *dihidrotestosterona*.¹¹⁴

d) Nous inhibidors derivats de la DHEA¹¹⁵

Per tal de millorar alguna de les propietats i solucionar un dels principals problemes que presenta DHEA relacionat amb el seu metabolisme, s'han proposat nous inhibidors derivats.

Aquests han sorgit en base a estudis de relació estructura-activitat (REA) que indiquen els requeriments estructurals necessaris per obtenir l'activitat inhibidora de la G6PDH, així com també les modificacions que poden incrementar-la o disminuir-la (**Figura 29**).

¹¹¹ M. Di Monaco, A. Pizzini, V. Gatto, L. Leonardi, M. Gallo, E. Brignardello, G. Boccuzzi. *British J. Cancer* **1997**, *75*, 589-592

¹¹² G. Gordon, M. C. Mackow, H. R. Levy. *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, *318*, 25-29

¹¹³ A. G. Schwartz, L. L. Pashko. *J. Cell. Biochem. Suppl.* **1995**, *22*, 210-217

¹¹⁴ J. Preuss, A. D. Richardson, A. Pinkerton, A. Hedrich, E. Sergienko, S. Rahlfs, K. Becker, L. Bode. *J. Biomol. Screen.* **2013**, *18*, 286-297

¹¹⁵ N. M. Hamilton, M. Dawson, E. E. Fairweather, N. S. Hamilton, J. R. Hitchin, D. I. James, S. D. Jones, A. M. Jordan, A. J. Lyons, H. F. Small, G. J. Thomson, I. D. Waddell, D. J. Oqilvie. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 4431-4445

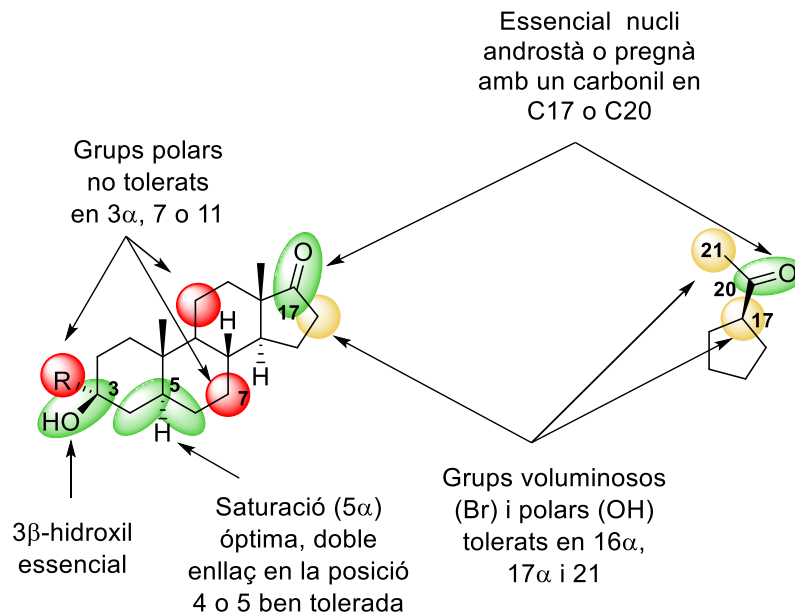


Figura 29. Possibles modificacions estructurals de la *dihidroepiandrosterona*¹¹⁵

En relació amb l'activitat inhibidòria, es requereix que el nucli sigui un androstà-5-è o pregnà-5-è amb un alcohol en posició 3 β , així com una funció cetona en posició 17, en el cas del primer nucli (androstà) o 20 en el cas del segon nucli (pregnà). La saturació del nucli, donant lloc a l'estereoquímica 5 α resulta positiva per a l'activitat, a diferència de l'oxidació o inversió de l'alcohol en posició 3 β , així com la introducció de grups polars (cetones o alcohols) en les posicions 7 i 11, que la reduirien. Els alcohols en posició 16 α , 17 α i 21 són ben tolerats i la incorporació d'un grup voluminos, com el Br en posició 16 α , podria optimitzar l'activitat.

A partir de les modificacions, per processos de semi-síntesi del nucli esteroide, s'han dissenyat els nous inhibidors derivats de DHEA (**Figura 30**).



Derivat nucli androstà	Derivat nucli pregnà
R = -NH-CO-NH-R'	R = -NH-SO ₂ R'
R = -NH-COOR'	R' = -CH ₃
R = -NH-SO ₂ R'	R' = -CH ₂ OH

Figura 30. Nous inhibidors derivats de la *dihidroepiandrosterona*

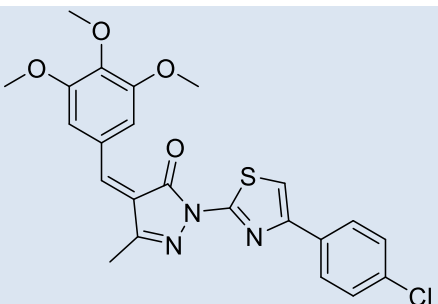
La substitució de l'alcohol en posició 3 β per altres donadors de pont d'hidrogen com sulfonamides, urees i carbamats, i de la cetona de les posicions 17 i 20 per altres acceptors de ponts d'hidrogen, pot impossibilitar el metabolisme cap a andrògens o progestàgens que presenta DHEA i milloren la seva estabilitat metabòlica. D'altra banda, afegint nous substituents en les posició 3 β , 17 i 20, s'augmenta la polaritat, solucionant el problema de la baixa solubilitat que mostra el compost inicial.

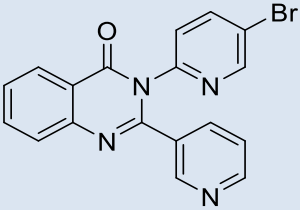
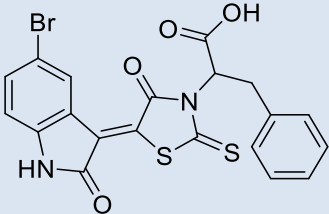
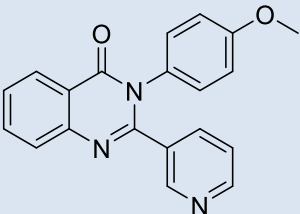
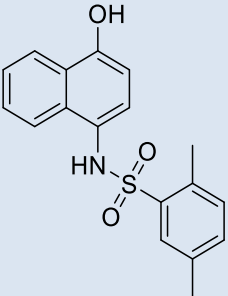
Aquests compostos presenten selectivitat envers la G6PDH, que juntament amb les bones propietats fisicoquímiques, els hi atorga els requisits necessaris per poder-se convertir, en un futur pròxim, en nous fàrmacs o noves eines per a la investigació en aquest camp de tractament.

e) Nous inhibidors derivats de cribratges d'alt rendiment (HTS)¹¹⁴

A partir d'una biblioteca de compostos de LOPAC, Spectrum i DIVERSet i seguint cribratges d'alt rendiment (HTS), s'han identificat varies molècules amb capacitat inhibidora de la G6PDH. Entre aquestes, s'han seleccionat aquelles que presenten una inhibició de la hG6PDH $\geq 50\%$ i valors de $IC_{50} < 4 \mu M$. En comparació amb els inhibidors de hG6PDH coneguts i anteriorment descrits, la *dihidroepiandrosterona* i *6-aminonicotinamida*, aquests nous inhibidors són de 100 a 1000 vegades més potents i mostren diferents mecanismes d'inhibició de l'enzim (**Taula 9**).

Taula 9. Determinació del mecanisme d'inhibició dels nous inhibidors de la G6PDH

	Tipus d'inhibició		Reversibilitat
	G6P	NADP ⁺	
 <p>CB63 $IC_{50} = 0,6 \pm 0,0 \mu M$</p>	Competitiva	No competitiva / Mixta	Si

 <p>CB70 IC₅₀ = 2,6 ± 1,1 μM</p>	Competitiva	Mixta	Si
 <p>CB72 IC₅₀ = 3,1 ± 0,8 μM</p>	Competitiva	Competitiva	Si
 <p>CB104 IC₅₀ = 3,0 ± 1,2 μM</p>	Competitiva	Mixta	Si
 <p>CB83 IC₅₀ = 0,37</p>	-	-	-

Dels compostos seleccionats, CB63 presenta una major afinitat per la G6PDH si el comparem amb els inhibidors DHEA i 6AN amb IC₅₀ = 483 ± 202 μM i IC₅₀ >3 mM, respectivament. La inhibició és temps-depenent, coincidint amb els compostos CB104 i CB83, i tant la unió com la dissociació de l'inhibidor amb l'enzim, es produeixen de manera reversible en tots els compostos assajats. Els estudis de reversibilitat mostren un increment de l'activitat de la G6PDH a mesura que augmenta la concentració de CB72. L'explicació d'aquest fet és la mimetització que possiblement pateix CB72 amb

l'estructura de l'NADP⁺, que estabilitzaria l'enzim i provocaria una acció preventiva en quant a la pèrdua d'activitat durant el temps.

Pel que fa a la viabilitat cel·lular en les línies cel·lulars assajades de carcinoma mamari MCF10-AT1 i cèl·lules normals MCF10-A, aquestes últimes utilitzades com a control, CB63 i CB72 no presenten activitat inhibidora sobre el creixement cel·lular i en CB104 és molt feble. En canvi, CB83 ha demostrat efectes en la supervivència cel·lular d'ambdues línies, sent superior per MCF10-AT1 (IC₅₀ ~ 25 µM) que sobre MCF10-A (IC₅₀ > 50 µM). Els estudis de permeabilitat i solubilitat als que ha estat sotmès CB83 demostren una permeabilitat de membrana moderada i una baixa solubilitat. Es creu que aquestes característiques són les responsables de la falta d'activitat de CB63 i CB72 en aquest assaig. No es tenen dades dels efectes de CB72 en la viabilitat cel·lular.

CB63, CB70 i CB83 demostren inhibició de la G6PDH de *Plasmodium falciparum*, mostrant-se una afinitat superior en aquesta respecte la humana en CB63. Aquesta selectivitat per la G6PDH del paràsit faria possible la seva utilització com antiparasitari, ja que reduiria la toxicitat. L'IC₅₀ = 1,75 µM correspon al compost CB83 per al *Plasmodium falciparum*.

f) Tienopirimidines i Quinazolinones¹¹⁶

Els inhibidors de la G6PDH, des de fa temps són un objectiu en la recerca per al desenvolupament de nous fàrmacs antiparasitaris per al tractament de *Trypanosoma brucei* i *Trypanosoma cruzi*, responsables de la malaltia de la son (Àfrica) i la malaltia de Chagas (Amèrica), respectivament. Tot i que aquests estudis es centren en desenvolupar molècules més selectives enfront del paràsit, els resultats obtinguts poden ser de gran aplicació per a la síntesi d'altres derivats amb més afinitat per l'enzim humà.

Així, s'han descobert dues noves famílies, les tienopirimidines i quinazolones, que presenten una bona activitat inhibidora enzimàtica i que podrien tenir aplicació en el tractament de les malalties esmentades anteriorment. A partir dels estudis de relació estructura-activitat s'ha pogut deduir l'estructura requerida per a l'activitat enfront l'enzim G6PDH humà.

Es necessària la presència d'un grup carboxamida sobre el C6 i un grup hidrofòbic sobre l'N3 per tal de que les tienopirimidines presentin activitat inhibidora enfront de l'enzim G6PDH dels paràsits. Altres requisits estructurals que afavoreixen la inhibició enzimàtica són l'addició d'una cadena alifàtica llarga sobre l'N3 i les insaturacions sobre aquesta,

¹¹⁶ G. F. Mercaldi, A. T. Ranzani, A. T. Cordeiro. *J. Biomol. Screen.* **2014**, *19*, 1362-1371

tot i que la posició òptima de la insaturació i el nombre de carbonis ideal es desconeix. Per últim, l'addició de grups hidrofòbics grans no interfereix en l'activitat sempre i quan estiguin situats com a mínim a una distància de tres carbonis respecte l'N3 (**Figura 31**).

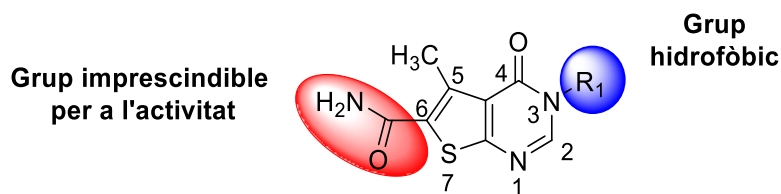


Figura 31. Principals relacions estructura-activitat observades en les tienopirimidines

Pel que fa a les quinazolinones, aquestes presenten uns models diferents (**Figura 32**). L'addició de substituents voluminosos sobre el C7 està contraindicada ja que això disminueix la seva activitat inhibidòria. El substituent alquílic màxim tolerat és un grup metil o dimetil, tot i que aquests repercuteixen en un augment de l'IC₅₀, en comparació amb els compostos no substituïts.

La cetona de la posició C5 resulta essencial donat que la supressió d'aquesta produeix compostos inactius. Aquest fet indicaria la necessitat d'un grup acceptor de pont d'hidrogen per a que la molècula sigui activa.

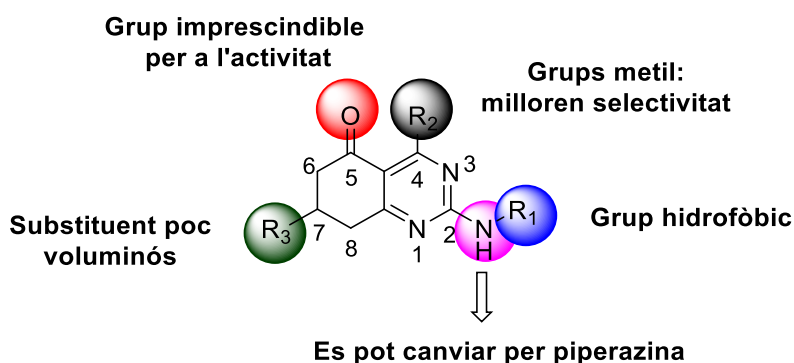


Figura 32. Principals relacions estructura-activitat observades en les quinazolinones

La substitució sobre el C4 és de gran importància en l'efecte inhibitori de la molècula sobre l'enzim humà, però no sobre el del paràsit. Per incrementar l'afinitat pel paràsit, s'ha vist que la metilació del C4 incrementa la selectivitat envers la G6PDH dels paràsits.

Per últim, l'addició de substituents hidrofòbics sobre l'amina del C2 resulta imprescindible per mantenir l'activitat. La majoria de compostos contenen una anilina sobre el C2 i, l'absència d'aquest grup, porta a la formació d'un compost inactiu. Si es té en compte la substitució de l'anilina en les posicions *orto*, *meta* i *para*, s'observa que la presència de substituents en posició *orto* disminueix l'activitat inhibidòria de la

molècula. L'addició dels grups metil, metoxi o fluor en posició *para* millora l'activitat respecte la G6PDH del paràsit i també incrementa l'activitat del compost envers la G6PDH humana. Aquest fet es repeteix també pels substituents en posició *meta*, però només pels grups metils.²⁴

g) Polidatina

La *polidatina* (3,4',5-trihidroxiestilben-3-β-D-glucòsid; trans-resveratrol-3-β-mono-D-glucòsid o piceid) és un compost natural que es troba en el suc del raïm i l'arrel de la planta *Polygonum cuspidatum*. Es tracta d'un precursor del *resveratrol*, on la posició 3 de l'anell d'estilbè està ocupada per un anell de glucopiranòsid (**Figura 33**). Aquest glucòsid de resveratrol, ha demostrat propietats antioxidants i antiinflamatòries, així com un paper neuro-, nefro- i hepatoprotector. Diversos estudis suggereixen que la *polidatina* pot tenir propietats farmacològiques similars a les descrites per al *resveratrol*, com anticancerígenes, inhibidores de l'agregació plaquetària i de l'oxidació de lipoproteïnes de baixa densitat. Tanmateix, juntament amb altres polifenols, ha demostrat induir l'apoptosi en cèl·lules de carcinoma.^{117,118,119}

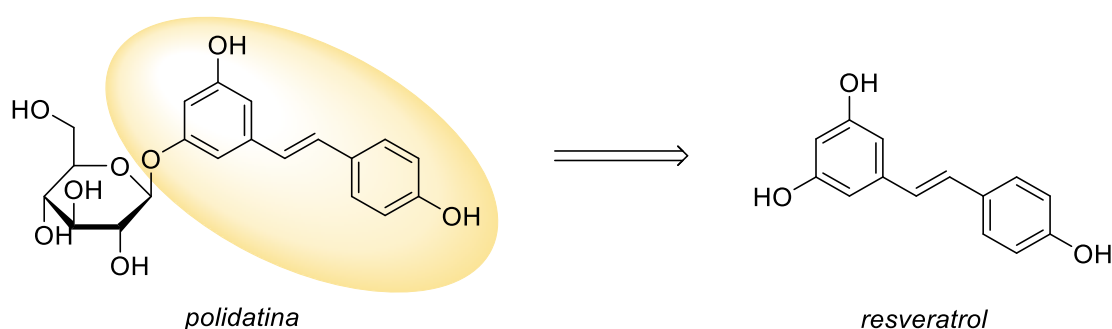


Figura 33. Estructura de la *polidatina* i del *resveratrol*

En quant a l'activitat sobre la G6PDH, la *polidatina* ha demostrat la seva inhibició, causant l'acumulació de ROS i un fort augment de l'estrès del reticle endoplasmàtic, provocant la mort cel·lular i inhibint la proliferació i la invasió de les cèl·lules canceroses tant *in vitro* com *in vivo*.

¹¹⁷ F. Oliviero, A. Lisa, A. Scanu, P. Spinella, G. Ravagnan, A. López-Reyes, L. Punzi, Y. Zamudio-Cuevas. *Investigación en Discapacidad* **2017**, *6*, 12-16

¹¹⁸ S. De Maria, I. Scognamiglio, A. Lombardi, N. Amodio, M. Caraglia, M. Carteni, G. Ravagnan, P. Stiuso. *J. Trans. Med.* **2013**, *11*, 264

¹¹⁹ L. Mele, F. Paino, F. Papaccio, T. Regad, D. Boocock, P. Stiuso, A. Lombardi, D. Liccardo, G. Aquino, A. Barbieri, C. Arra, C. Coveney, M. La Noce, G. Papaccio, M. Caraglia, V. Tirino, V. Desiderio. *Cell Death Dis.* **2018**, *9*, 572

La *polidatina* es pot administrar via oral o intravenosa, ja que els estudis farmacocinètics demostren una bona absorció i distribució als teixits per aquestes vies. Pel que fa a la toxicitat, aquesta va ser avaluada en assajos clínics de fase II i en models d'animals, en els quals no es van observar efectes tòxics cardiovasculars, hepàtics, de medul·la òssia i renals importants a les dosis requerides.¹¹⁹

S'ha comprovat un efecte sinèrgic en la inducció de citotoxicitat en cèl·lules canceroses en combinació amb altres agents antitumorals com *cisplatí* o *afatinib*. Aquests resultats, juntament amb la bona tolerabilitat i propietats farmacocinètiques, converteixen la *polidatina* en una bona eina per limitar el creixement del càncer i la seva disseminació.

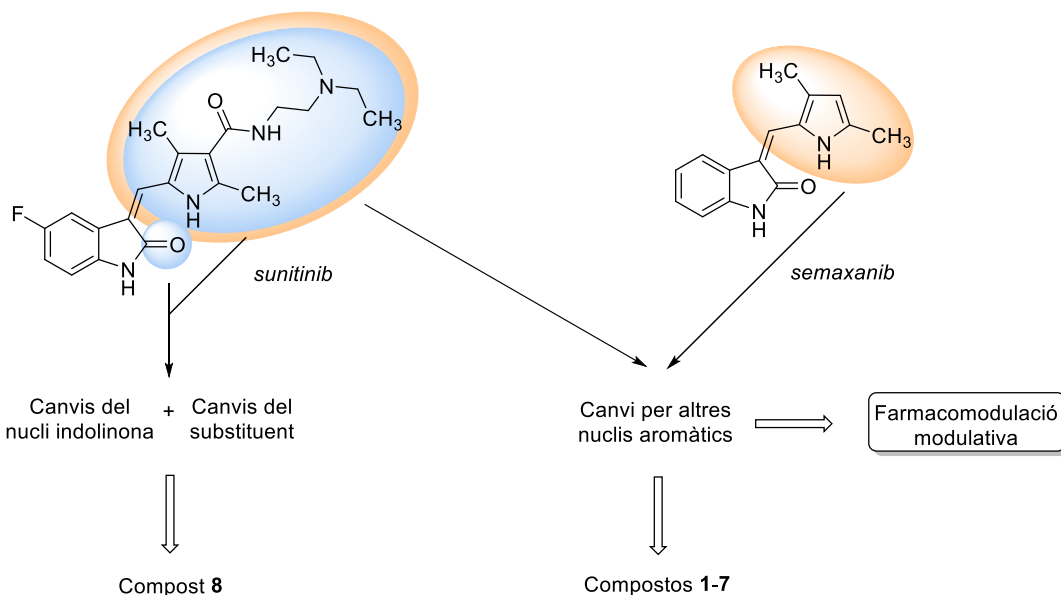
2. OBJECTIUS

2.1. Primer objectiu

En la bibliografia s'indica que el *sunitinib* és un fàrmac d'estructura petita (PM = 398,47) que va ser aprovat per la FDA en el 2006 per al tractament del carcinoma renal i pels tumors de l'estroma gastrointestinal resistent a l'*imatinib*.¹²⁰ Estructuralment es tracta d'una arilmetilenindolinona comercialitzada pels laboratoris Pfizer (Sutent®). L'activitat citotòxica del *sunitinib* s'atribueix a la inhibició de la tirosina-quinasa. En realitat es pot dir que es tracta d'un inhibidor multiquinasa. Així, manifesta activitat sobre receptors de creixement relacionats amb plaquetes (PDGF-R) i receptors de creixement de l'endoteli vascular (VEGF-R). També es coneix la inhibició d'altres quinases com RET, CSF-1R i flt3.¹²¹

El *semaxanib* (laboratoris Sugen) està estructuralment relacionat amb el *sunitinib* però el mecanisme d'acció es deu majoritàriament a la inhibició de VEGF-R2. Aquest fàrmac ha mostrat utilitat per al tractament del càncer de còlon i del càncer de pulmó a nivell experimental.¹²²

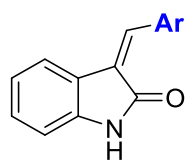
La preparació dels compostos **1-7** amb estructura d'arilmetilenindolinona i del derivat **8** formen part del primer objectiu d'aquest treball.



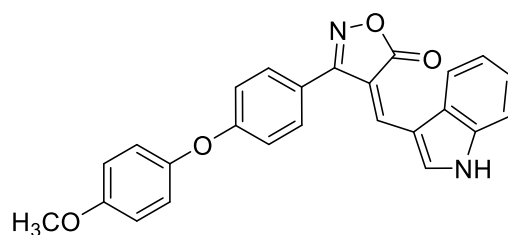
¹²⁰ R. Quek, S. George. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* **2009**, 23, 69-78

¹²¹https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20161109136193/anx_136193_es.pdf (Data: 12/09/19)

¹²² P. M. Hoff, R. A. Wolff, K. Bogaard, S. Waldrum, J. L. Abbruzzese. *Jap. J. Clin. Oncol.* **2006**, 36, 100-103



1-7



8

Compostos	Ar	Compostos	Ar
1		5	
2		6	
3		7	
4			

2.2. Segon objectiu

Mantenint-se en l'eix principal del treball, que està enfocat a la recerca i estudi de nous compostos amb potencial activitat antitumoral, i posant l'interès sobre la ruta de les pentoses fosfat, s'arriba al paper de la G6PDH, enzim encarregat de catalitzar la primera reacció de la ruta de les pentoses fosfat i que presenta un paper reductor al convertir l' NADP^+ en NADPH. La ruta de les pentoses fosfat exerceix un paper important en la regulació del creixement de les cèl·lules cancerígenes donat que és la via de síntesi de la ribosa (ARN) i desoxiribosa (ADN). De fet, s'ha trobat que hi ha una relació directa entre els nivells de G6PDH i diferents tipus de càncers.

Relacionat amb aquest tema de recerca, el nostre grup va iniciar una col·laboració anys enrere amb el grup de recerca del professor Jaime Rubio, de la Facultat de Química de la UB, i amb la professora Marta Cascante, de la Facultat de Biologia també de la UB. Mentre que el Dr. Rubio duia a terme l'estudi de modelització molecular, el grup de la Dra. Cascante s'ha encarregat de l'avaluació biològica i el nostre grup de la realització de la síntesi química.

El treball va començar amb la creació d'una base de dades de productes assequibles comercialment dels quals vam estudiar les interaccions amb la G6PDH per modelització molecular (**Figura 34**).

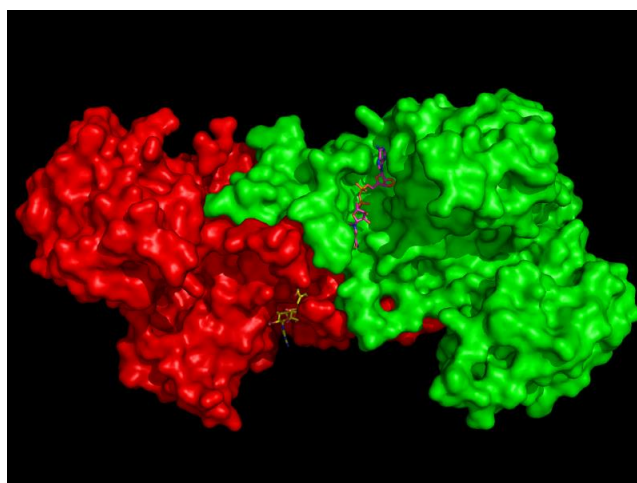
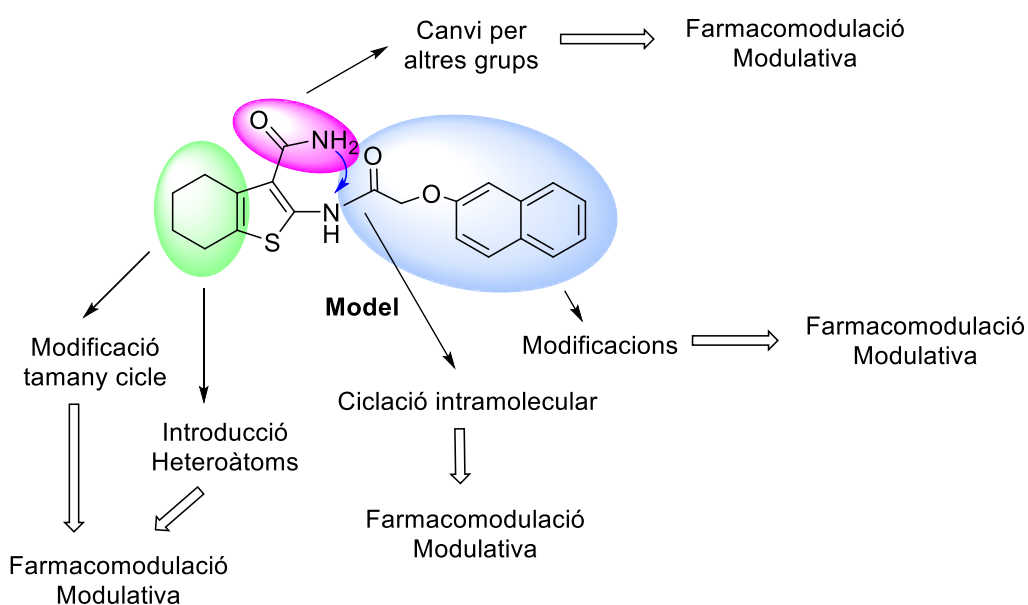
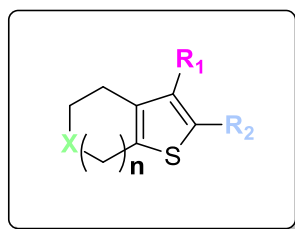


Figura 34. Superfície dels dímers de la proteïna G6PDH

D'aquest estudi es va seleccionar un compost assequible comercialment que inhibia la G6PDH amb una $IC_{50} = 15 \mu M$.



La preparació dels compostos **9-31**, dissenyats a partir de modelització que ha implicat canvis estructurals considerats farmacomodulacions modulatives, constitueixen aquest segon objectiu.

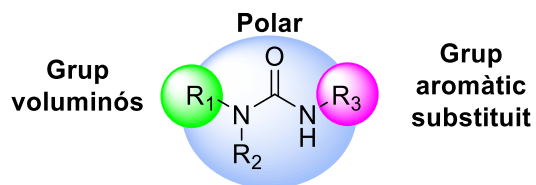


Compostos	X	n	R ₁	R ₂
9	C	1	-CN	
10	C	1	-CN	
11	C	1	-CN	
12	C	1	-CN	
13	C	1	-CN	
14	C	1	-CN	
15	C	1	-CN	
16	C	1	-COOEt	
17	C	1	-COOEt	
18	C	1	-COOEt	
19	C	1	-COOEt	

20	C	1	-CONH ₂	
21	C	1	CONH ₂	
22	C	1	CONH ₂	
23	C	1	CONH ₂	
24	C	1	CONH ₂	
25		1	-CN	
26		1	-CN	
27		1	-CN	
28		1	R ₁ -R ₂ =	
29		1	-COOEt	
30		1	-COOEt	
31	C	0	-COOEt	

2.3. Tercer objectiu

En relació amb l'objectiu anterior i, amb a finalitat d'esbrinar els punts d'interacció a la G6PDH, es varen dissenyar i dur a terme la síntesi de les urees **32-38**.

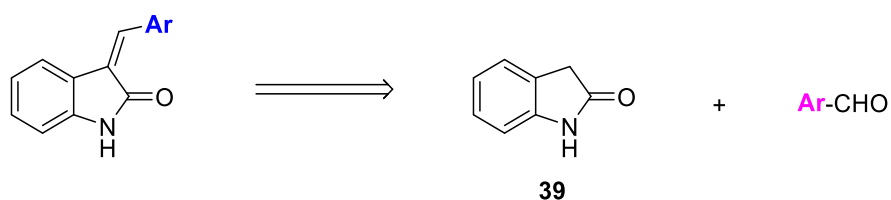


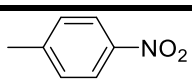
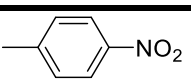
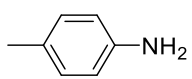
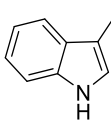
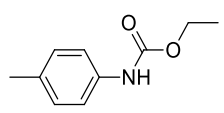
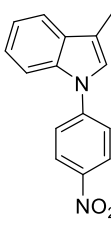
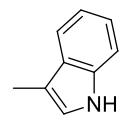
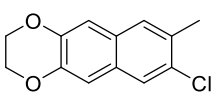
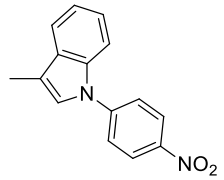
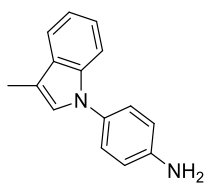
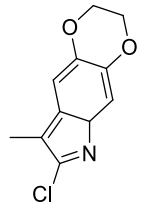
Compostos	R ₁	R ₂	R ₃
32		CH ₃	
33		H	
34		H	
35		H	
36		H	
37	R ₁ -R ₂ =		
38	R ₁ -R ₂ =		

3. DISCUSSIÓ TEÒRICA

3.1. Preparació de benzilidenindolin-2-ones i derivats (1-8)

3.1.1. Anàlisi retrosintètica de les benzilidenindolin-2-ones (1-7)

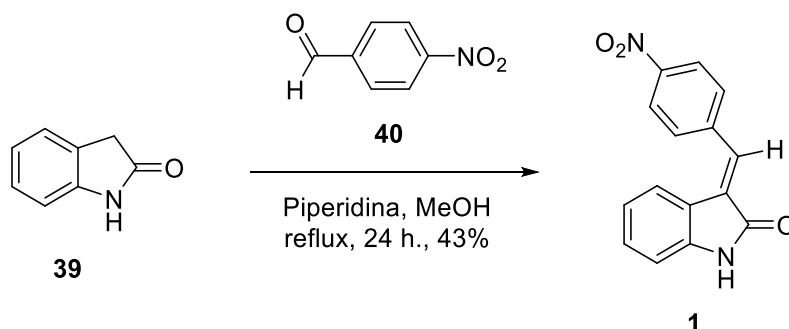


Compostos	Ar	Compostos	Ar
1		40	
2		41	
3		42	
4		43	
5			
6			
7			

3.1.1.1. Preparació d'(*E*)-3-(4-nitrobenziliden)-1*H*-indolin-2-ona (1)

El nucli d'oxindole es troba en nombrosos compostos que presenten activitats biològiques. D'entre ells destaca l'activitat anticancerígena,¹²³ antimalàrica,¹²⁴ antimicrobiana¹²⁵ i anti-HIV.¹²⁶

En aquest treball es parteix del nucli d'oxindole **39** que per condensació amb el corresponent aldehyd condueix a la benzilidenindolinon-2-ona esperada **1** (**Esquema 1**).



Esquema 1

La condensació es duu a terme en el si de metanol i en presència de piperidina a reflux, obtenint-se el compost **1** amb un 43% de rendiment després de la purificació per cromatografia de columna. Es tracta d'una condensació aldòlica en medi bàsic, encara que cal remarcar que certs autors l'anomenen reacció de tipus Knoevenagel.¹²⁷

Un possible mecanisme per a aquesta condensació aldòlica s'indica en l'esquema següent (**Esquema 2**).

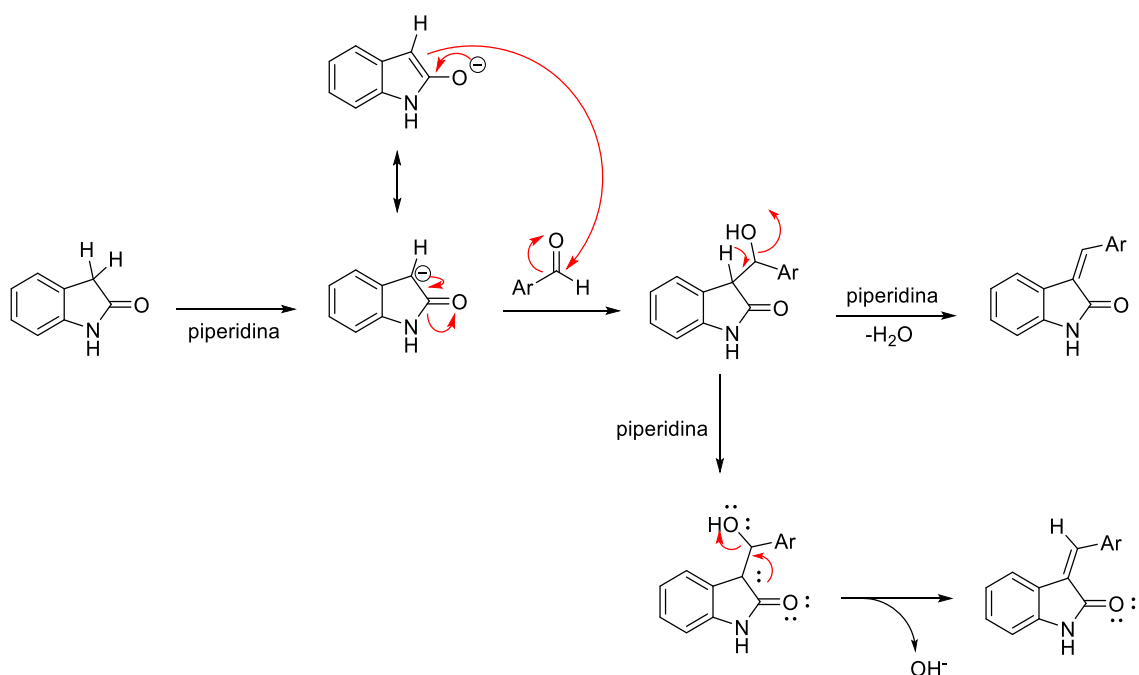
¹²³ B. Yu, D. Q. Yu, H. M. Liu. *Eur. J. Med.* **2015**, *70*, 9735-9757

¹²⁴ S. Praveen Kumar, J. Gut, R. C. Guedes, P. J. Rosenthal, M. M. M. Santos, R. Moreira. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 927-933

¹²⁵ H. Singh, J. Sindhu, J. M. Khurana, C. Sharma, K. R. Aneja. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 145-154

¹²⁶ M. Eissenstat, T. Guerassina, S. Gulnik. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 5078-5083

¹²⁷ G. N. Walker, R. T. Smith, B. N. Weaver. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *8*, 626-637

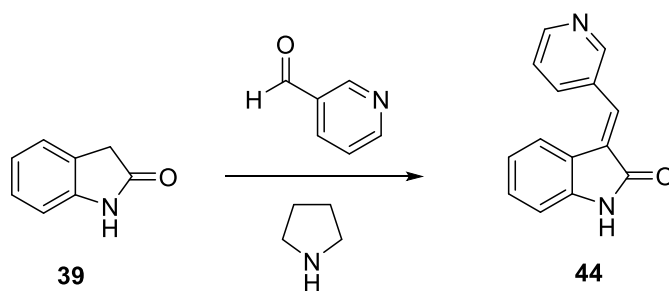


Esquema 2

La piperidina actua com a base i desprotona el carboni α del grup carbonil de l'oxindole, l'anió resultant ataca al grup aldehyd i seguit de deshidratació es converteix en la benzilidenindolin-2-ona.

Si bé la condensació aldòlica constitueix una de les reaccions més importants de la química orgànica per a la formació d'enllaços C-C, el mecanisme ha estat sempre discutit i especialment respecte a l'eliminació d'aigua o bé d'hidròxid en l'etapa final.¹²⁸

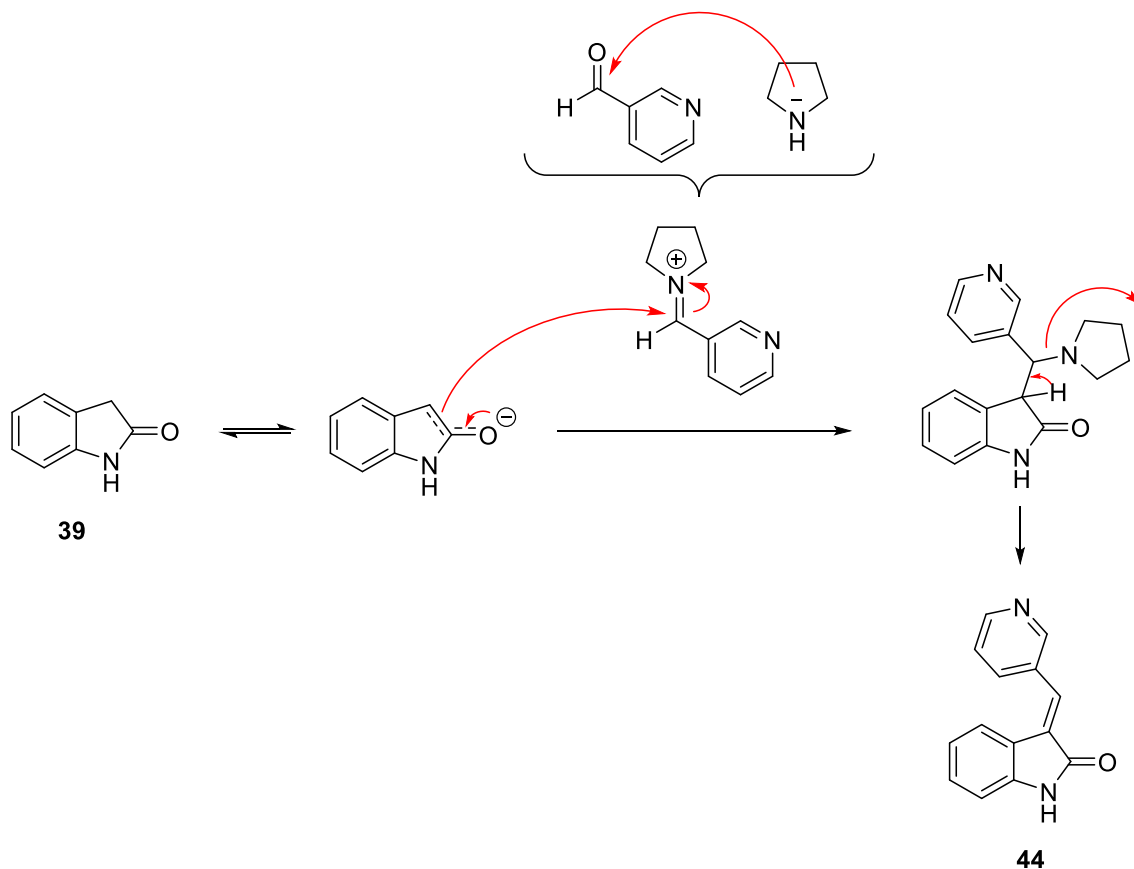
L'any 1965, Walker i col. descriuen la preparació de piridilmetilen-indolinones per condensació de la 2-indolinona amb la 3-piridinacarbaldhid en presència de pirrolidina, amina secundària que actua com a base (**Esquema 3**). Els autors consideren que la pirrolidina reacciona amb l'aldehyd i condueix a una base de Schiff intermèdia (sal d'imini).¹²⁷



Esquema 3

¹²⁸ C. L. Perrin, K. L. Chang. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 5631-5635

Posteriorment, l'anió de la indolinona ataca l'imina i, després de l'eliminació de la pirrolidina, s'obté el compost **44** (Esquema 4).



Esquema 4

Respecte a l'estereoquímica dels compostos obtinguts, alguns autors manifesten i justifiquen la formació d'una mescla d'estereoisòmers (*Z* i *E*) o bé ressalten la formació d'un dels estereoisòmers de forma majoritària (Figura 35).¹²⁹

En el nostre cas, i d'acord amb la bibliografia consultada al respecte, s'obté l'isòmer de configuració (*E*). Hartmann i col.¹³⁰ indiquen que la determinació de la configuració (*Z/E*) es pot obtenir per tècniques d'RMN de protó. L'anisotropia diamagnètica del grup carbonil fa que el protó vinílic de l'isòmer *E* apareixi més desapantallat que el corresponent a l'isòmer (*Z*).

A més, per tècniques d'RMN que posen de manifest l'efecte NOE (efecte nuclear OVERHAUSER), ha estat possible confirmar l'estereoquímica (*E*) de les arilmetilidenindolin-2-ones preparades en aquest treball.

¹²⁹ K. W. Blake, B. Jaques. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1973**, 12, 1660-1663

¹³⁰ H. Bayer, C. Batzl, R. W. Hartmann, A. Mannschreck. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 2685-2691

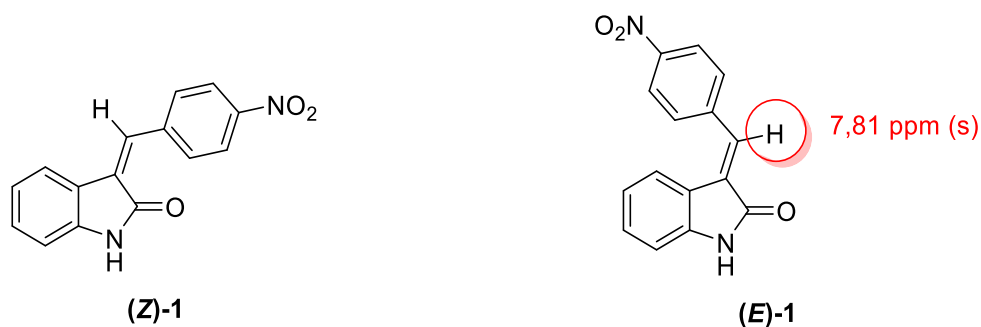
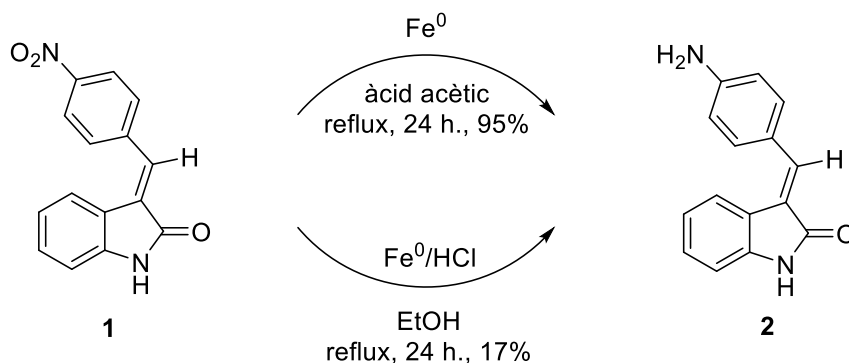


Figura 35. (Z) i (E) estereoisòmers d'1

3.1.1.2. Preparació d'(*E*)-3-(4-aminobenziliden)-1*H*-indolin-2-ona (**2**)

La reducció del nitroderivat **1** condueix a la corresponent anilina **2** (**Esquema 5**).

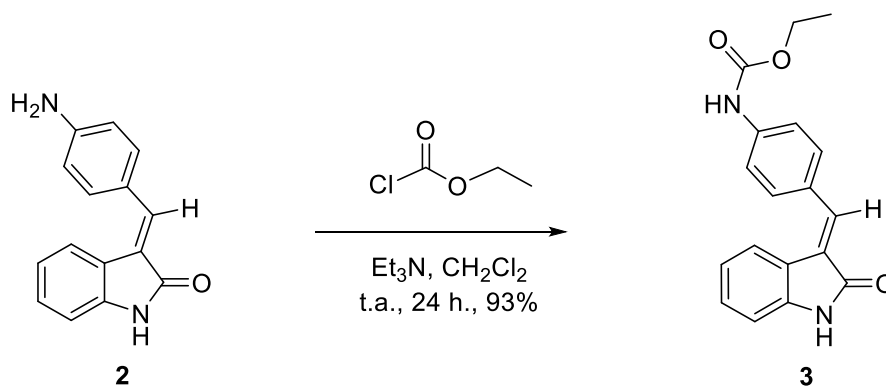


Esquema 5

En primer lloc, es va assajar la reducció amb Fe(0) en el si d'etanol i en presència d'àcid clorhídric i es va obtenir **2** amb un 17% de rendiment. Per tal d'optimitzar aquesta transformació es van modificar lleugerament les condicions, substituint l'etanol i l'àcid clorhídric per l'àcid acètic, obtenint-se l'arilmetilenindolin-2-ona **2** amb un 95% de rendiment.

3.1.1.3. Preparació d'(*E*)-(4-((2-oxoindolin-3-idilen)metil)fenil)carbamat d'etil (**3**)

L'arilmetilenindolin-2-ona **2** per tractament amb el cloroformat d'etil, en el si de diclorometà i en presència de trietilamina a temperatura ambient, condueix al carbamat **3** amb un 93% de rendiment (**Esquema 6**).



Esquema 6

La presència d'un singlet a 7,70, d'un quadruplet a 4,10 i d'un triplet a 1,40 ppm assignables als protons metilènics, CH₂-O i metil, respectivament, permeten confirmar l'estructura proposada per a **3** (**Figura 36**).

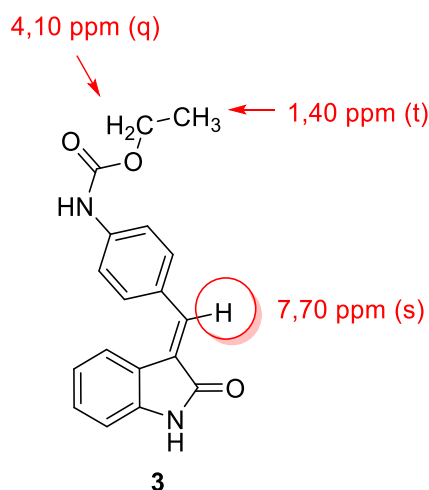
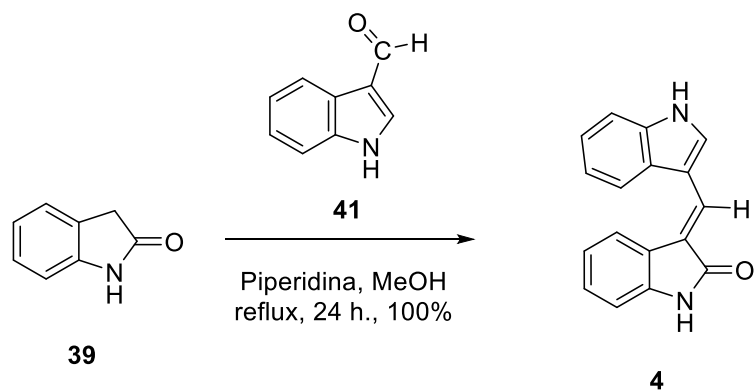


Figura 36. Dades d'RMN-¹H de **3**

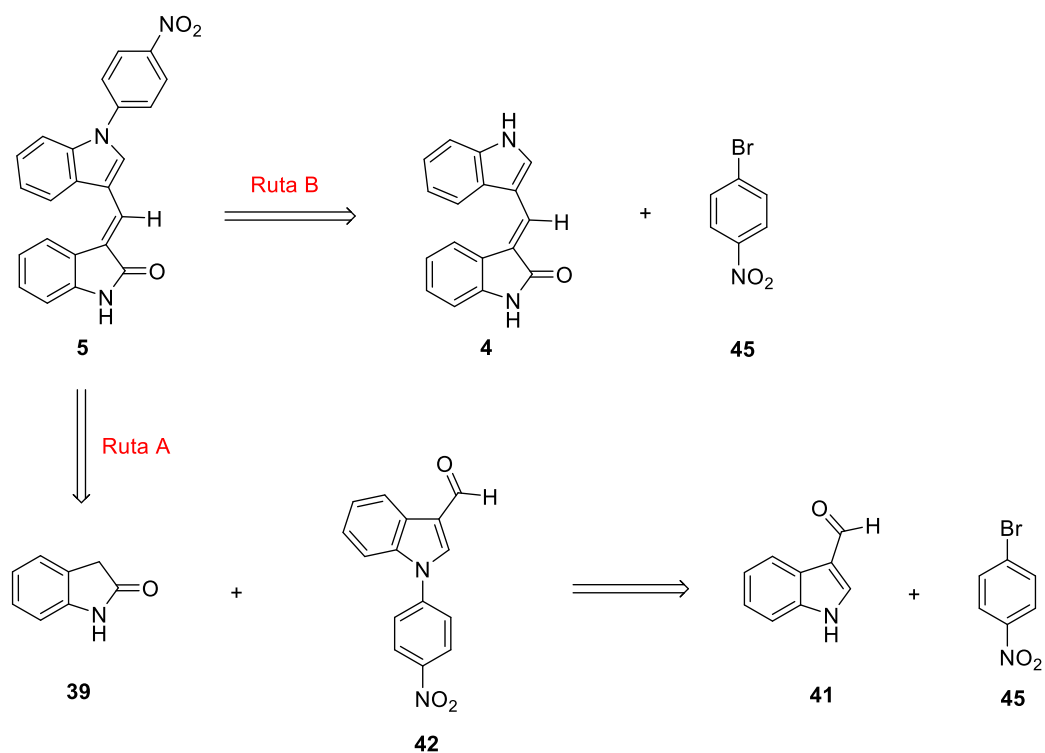
3.1.1.4. Preparació d'(*E*)-3-((1*H*-indol-3-il)metilen)indolin-2-ona (**4**), (*E*)-3-((1-(4-nitrofenil)-1*H*-indol-3-il)metilen)indolin-2-ona (**5**) i (*E*)-3-((1-(4-aminofenil)-1*H*-indol-3-il)metilen)indolin-2-ona (**6**)

Seguint el procediment establert anteriorment per a la benzilidenindolinona **1** a partir de l'oxindole **39**, en aquest cas s'obté el derivat **4** amb un rendiment del 100% (**Esquema 7**).



Esquema 7

Per a la preparació de la indolinona **5** s'estableixen les següents anàlisis retrosintètiques A i B (**Esquema 8**).



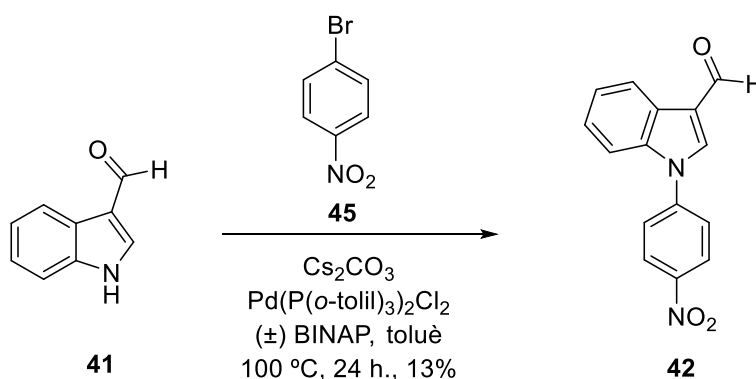
Esquema 8

Per a la preparació de l'*N*-arilderivat **5** es consideren dues alternatives, per un costat es va realitzar l'arilació de **4** amb el 4-bromonitrobenzè (**45**) i, per l'altre banda, es va considerar dur a terme primerament l'*N*-arilació de l'indole-3-carbaldehid (**41**) i posteriorment la condensació aldòlica.

L'*N*-arilació dels derivats indòlics és de gran interès dins dels compostos amb potencial aplicació terapèutica i s'ha realitzat en diferents condicions. En aquest cas es va seguir el protocol posat a punt pel nostre grup de recerca.^{131,132}

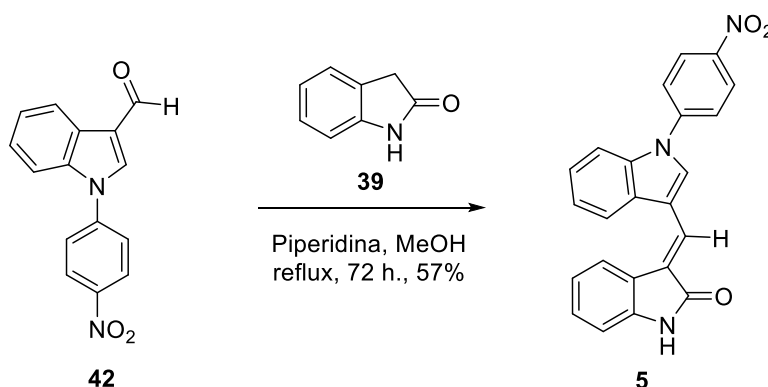
La transformació consisteix en una reacció d'acoblament creuat entre el derivat indòlic i el bromoaril corresponent. S'utilitza el Pd(P(*o*-tolil)₃)₂Cl₂ com a catalitzador i (±)-BINAP com a lligand, en presència de carbonat de cesi com a base i en el si de toluè, escalfant a 100 °C durant 24 h.

Seguint la ruta A, en primer lloc es va procedir a l'*N*-arilació de l'indole-3-carbaldehid (**41**) amb el 4-bromonitrobenzè (**45**) seguint les condicions de reacció d'acoblament catalitzada per Pd, que va conduir a l'aldehid **42** amb un 13 % de rendiment (**Esquema 9**).



Esquema 9

Posteriorment, la condensació aldòlica de l'aldehid **42** amb l'oxindole **39**, emprant les condicions posades a punt en aquest mateix treball i descrites anteriorment, permeten accedir a **5** amb un rendiment del 57% (**Esquema 10**).

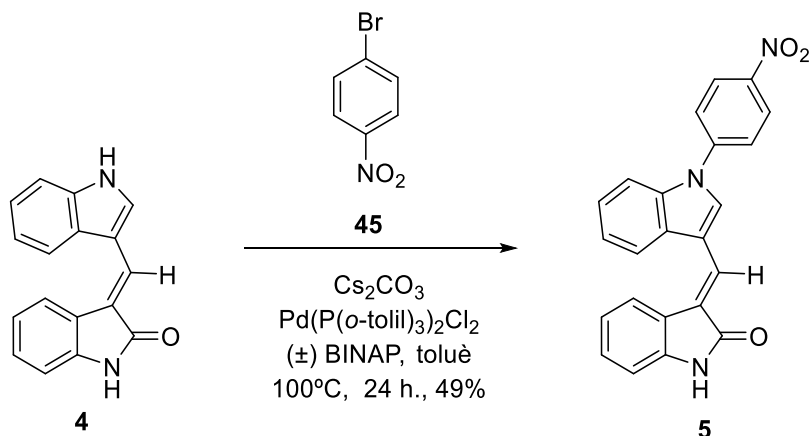


Esquema 10

¹³¹ M. Romero, Y. Harrak, J. Basset, J. A. Orúe, M. D. Pujol. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1955-1956

¹³² M. Romero, Y. Harrak, J. Basset, L. Ginet, P. Constans, M. D. Pujol. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9010-9016

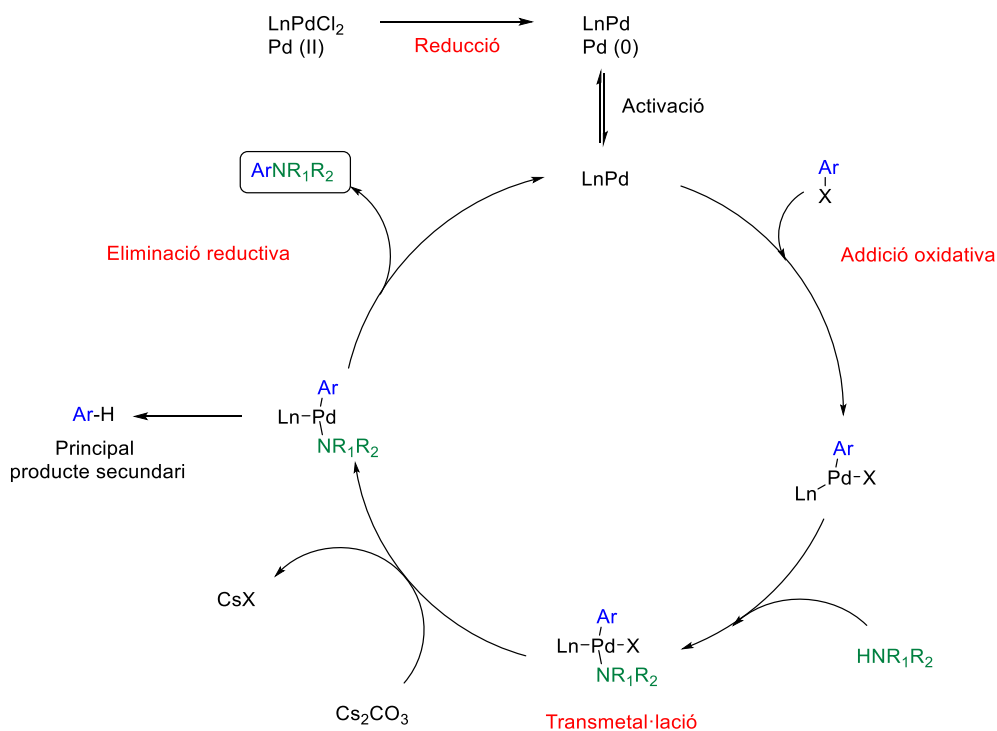
A continuació, i seguint la ruta B, es duu a terme el tractament de la indolinona **4**, obtinguda anteriorment, amb el 4-bromonitrobenzè (**45**) seguint les condicions de la reacció d'acoblament creuat esmentades anteriorment, que condueix a **5** amb un rendiment del 49% (**Esquema 11**).



Esquema 11

Seguint aquesta ruta sintètica (ruta A), s'obté **5** amb un rendiment global del 7,4% (13%, 57%), mentre que la ruta alternativa (ruta B), que duu a terme l'*N*-arilació en l'última etapa, condueix a **5** amb un rendiment global del 49% (100%, 49%).

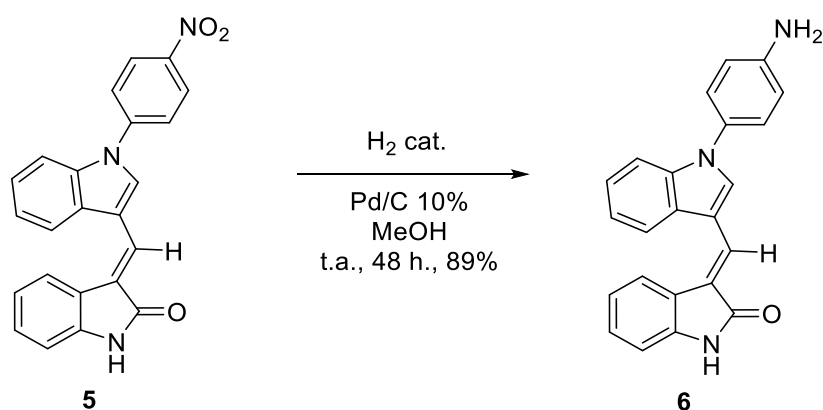
Un mecanisme proposat per a l'*N*-arilació dels derivats indòlics amb el 4-bromonitrobenzè s'indica a continuació (**Esquema 12**).



Esquema 12

Es produeix una addició oxidativa d'ArX que dóna lloc a un complex de Pd tetraèdric. En el segon punt, s'uneix el derivat nitrogenat HNR_1R_2 al complex anterior. A continuació, la base produeix la desprotonació i s'elimina l'halogenur en forma d'halogenur de cesi. Finalment, l'eliminació reductiva condueix a l'anilina esperada i es recupera el lligand i el pal·ladi.

La reducció quimiosselectiva del nitroderivat **5**, mitjançant hidrogenació catalítica catalitzada amb Pd-C al 10% p/p, condueix a l'anilina corresponent **6** amb un rendiment del 89% (**Esquema 13**).



Esquema 13

Els senyals de l'espectre d'RMN de protó permeten confirmar l'estructura proposada per a **5** i **6** (**Figura 37**).

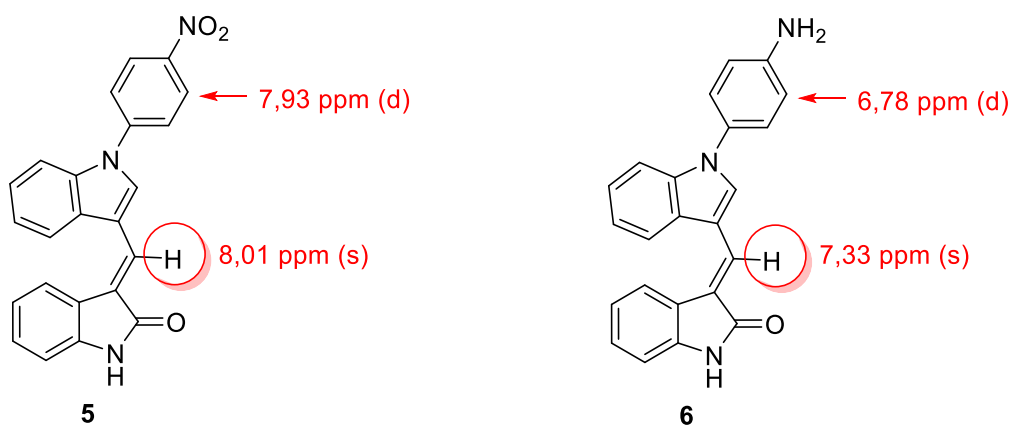
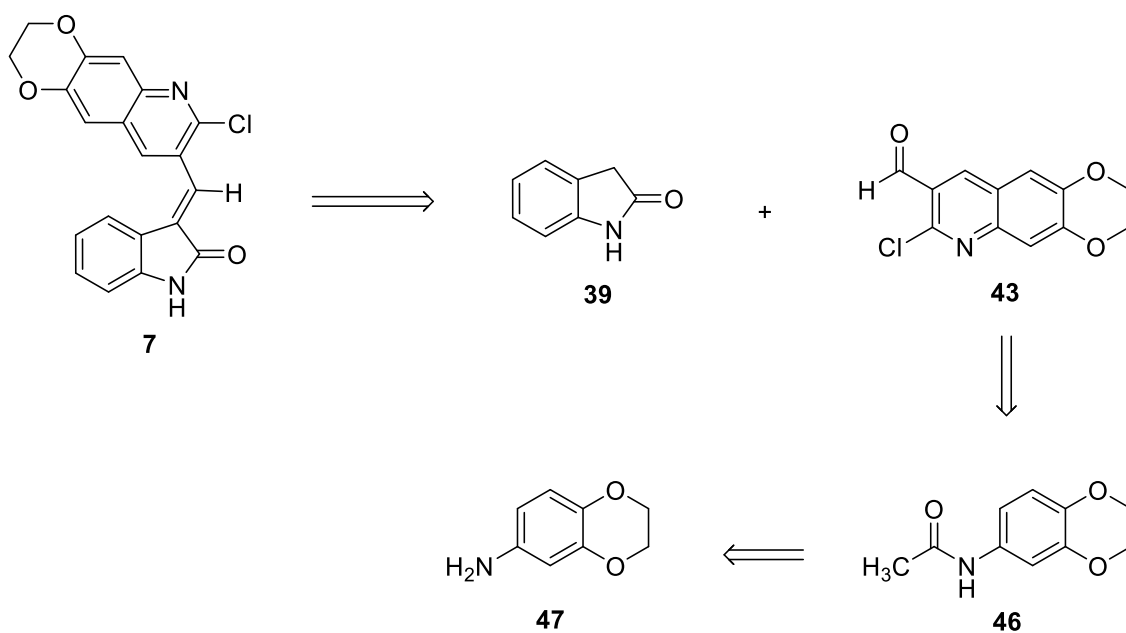


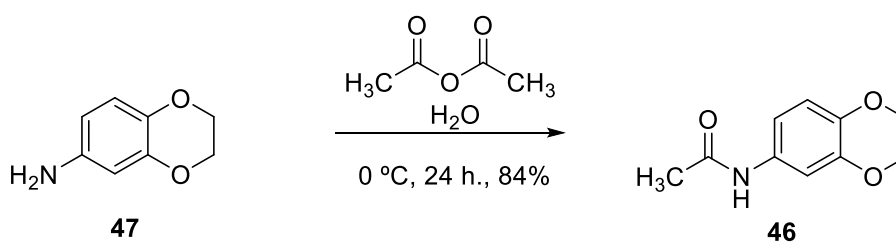
Figura 37. Dades d'RMN- ^1H per a **5** i **6**

3.1.1.5. Preparació d'(*E*)-3-((7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-*g*]quinolina-8-il)metilen)indolin-2-ona (**7**)

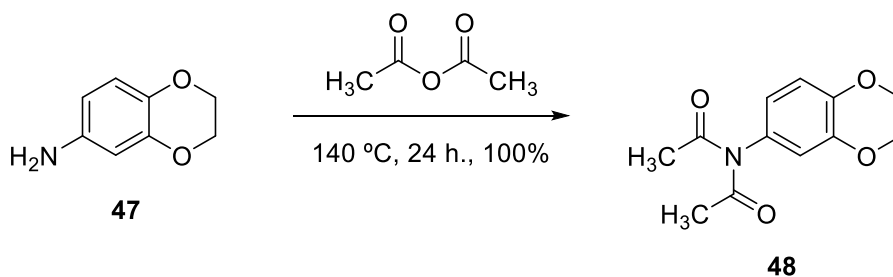
Per a la preparació de **7** es planteja l'anàlisi retrosintètica descrita a continuació (**Esquema 14**).



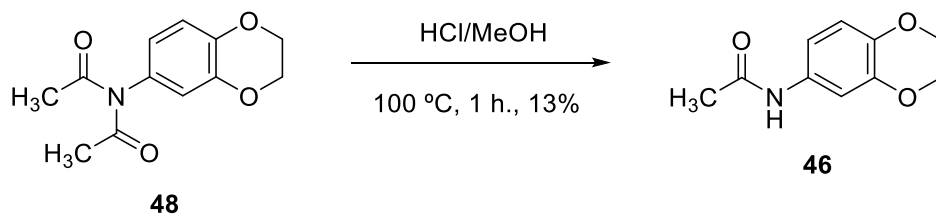
L'acetilació del 6-amino[1,4]benzodioxà (**47**), assequible comercialment, amb anhídrid acètic condueix al producte monoacilat **46** amb rendiments elevats (84%) quan la reacció es duu a terme a temperatura ambient (**Esquema 15**).



Mentre que la mateixa transformació condueix exclusivament al producte *N*-diacilat **48** quan la reacció té lloc a temperatures superiors a 100 °C (**Esquema 16**).

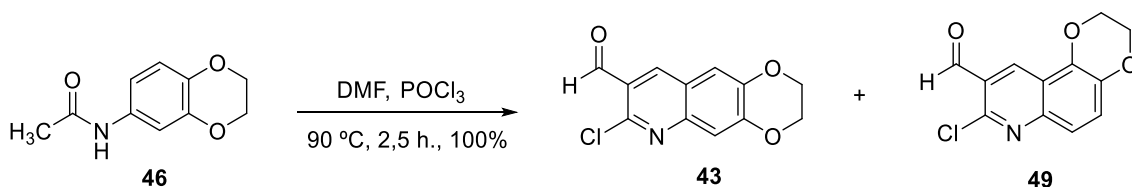


Es va assajar la hidròlisi parcial del derivat diacilat emprant HCl 2N en el si de metanol, però, en les condicions assajades, només es va aconseguir el producte desitjat amb un 13% de rendiment (**Esquema 17**).



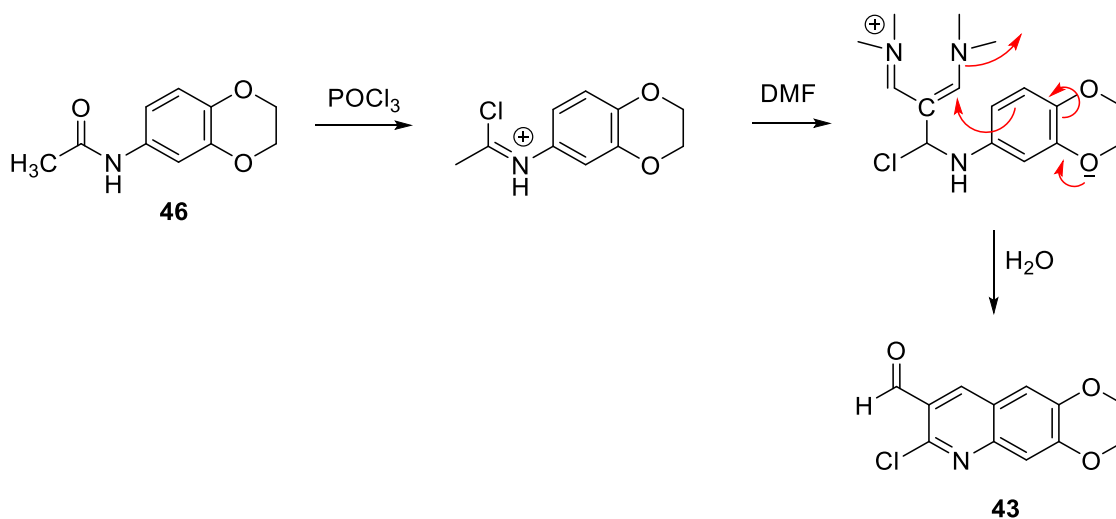
Esquema 17 (Hidròlisi)

A continuació, l'acetamida (**46**) es va tractar amb DMF i POCl₃, emprant les condicions clàssiques de la reacció de Vilsmeier-Haack¹³³ (**Esquema 18**).



Esquema 18 (Vilsmeier)

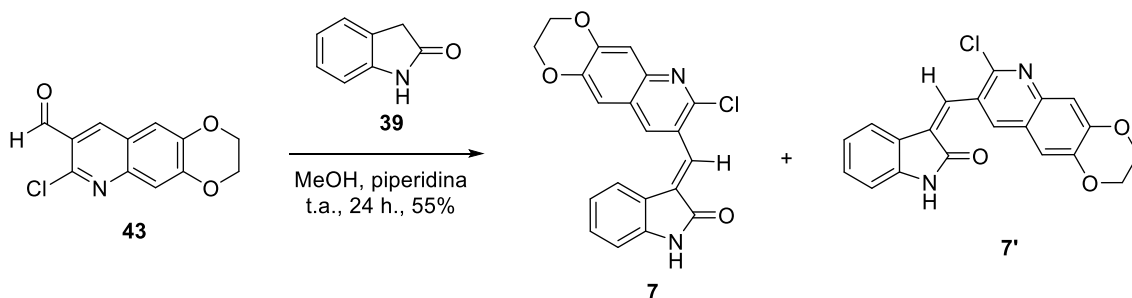
Un possible mecanisme per a la formació de la dioxinoquinolina **43** es descriu a continuació (**Esquema 19**). Es forma un imino-clorur intermedi que reacciona amb dos unitats de DMF seguit de ciclació intramolecular.



Esquema 19. Mecanisme Vilsmeier

¹³³ O. Meth-Cohn, B. Narine, B. Tarnowski. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, 1520-1528

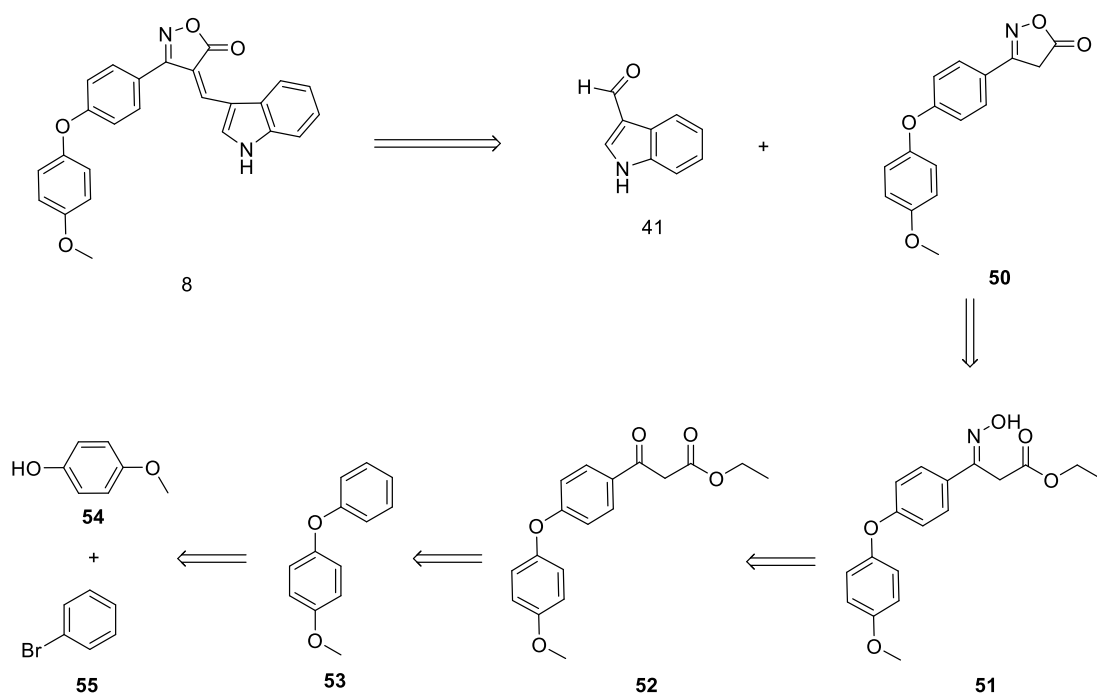
Finalment, la condensació de l'aldehid **43** amb l'oxindole (**39**), en el si de metanol i en presència de piperidina, condueix a **7** amb un rendiment del 55% (**Esquema 20**).



Esquema 20

3.1.2. Preparació de 4-((1*H*-indol-3-il)metilen)-3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)isoxazole-5(4*H*)-ona (**8**)

L'anàlisi retrosintètica del derivat indòlic **8** s'indica a continuació (**Esquema 21**).

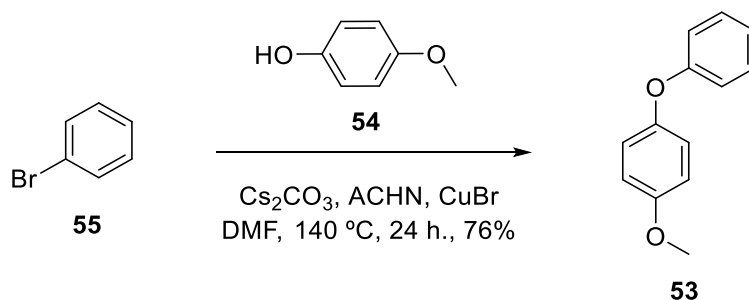


Esquema 21

El diarilèter **53** s'aconsegueix per tractament del bromofenil (**55**) amb el *p*-metoxifenol (**54**), emprant les condicions de la reacció d'acoblament creuat posades a punt pel nostre grup de recerca.¹³⁴ En aquest cas, es va emprar CuBr com a catalitzador, ACHN (1,1'-azobis(ciclohexacarbonitril)) com a lligand, carbonat de cesi com a base i DMF com

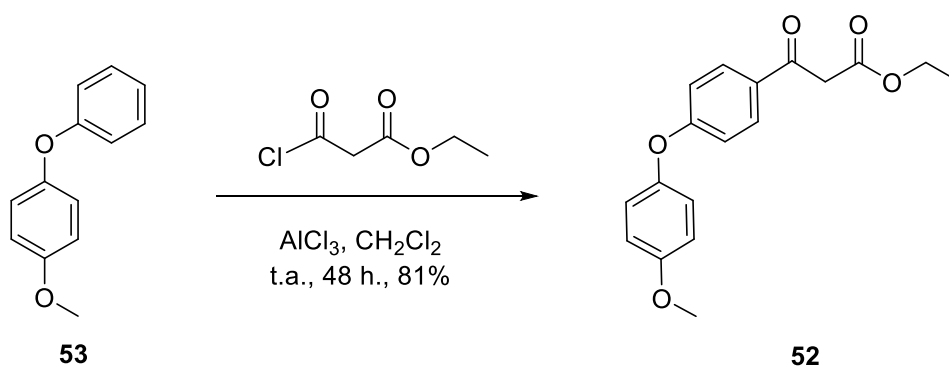
¹³⁴ L. Navarro, M. D. Pujol. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 1812-1815

a dissolvent. Sota aquestes condicions s'obté el diarilèter esperat **53** amb un 76% de rendiment (**Esquema 22**).



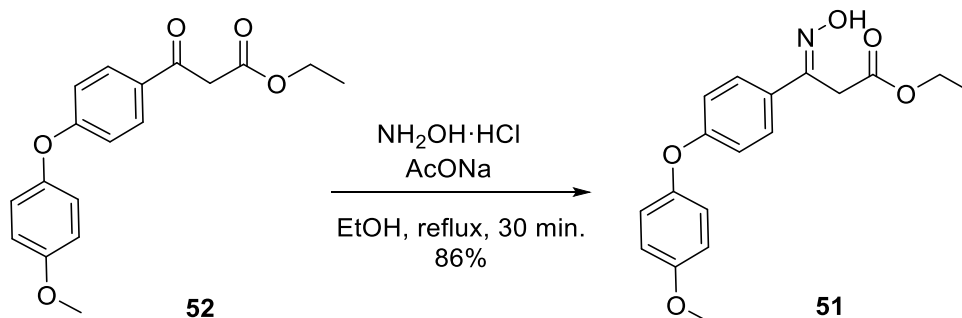
Esquema 22

Tot seguit es procedeix a l'acilació de **53** amb el monoclorur del malonat d'etil, en el si de diclorometà, i emprant AlCl_3 com a catalitzador en condicions clàssiques d'acilació de tipus Friedel-Crafts. Després de 48 h a temperatura ambient s'obté **52** amb un 81% de rendiment (**Esquema 23**).



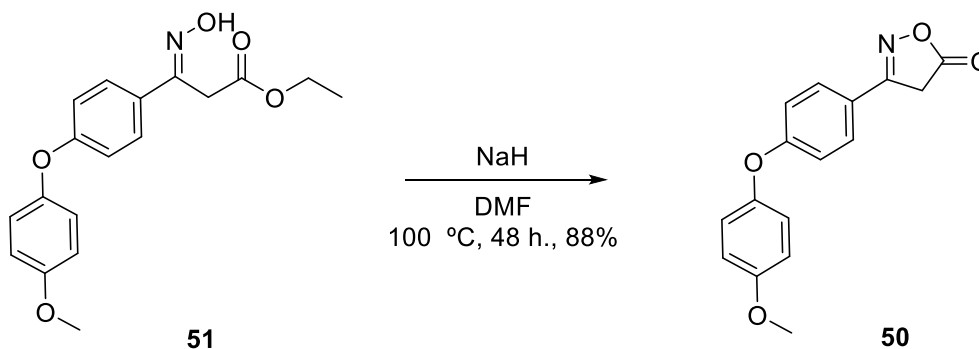
Esquema 23

El tractament del ceto-èster **52** amb hidroxilamina en presència d'acetat sòdic i en condicions clàssiques, condueix a l'oxima **51** amb un 86% de rendiment. La reacció es va realitzar a temperatura ambient i no s'observen productes procedents de reaccions secundàries (**Esquema 24**).



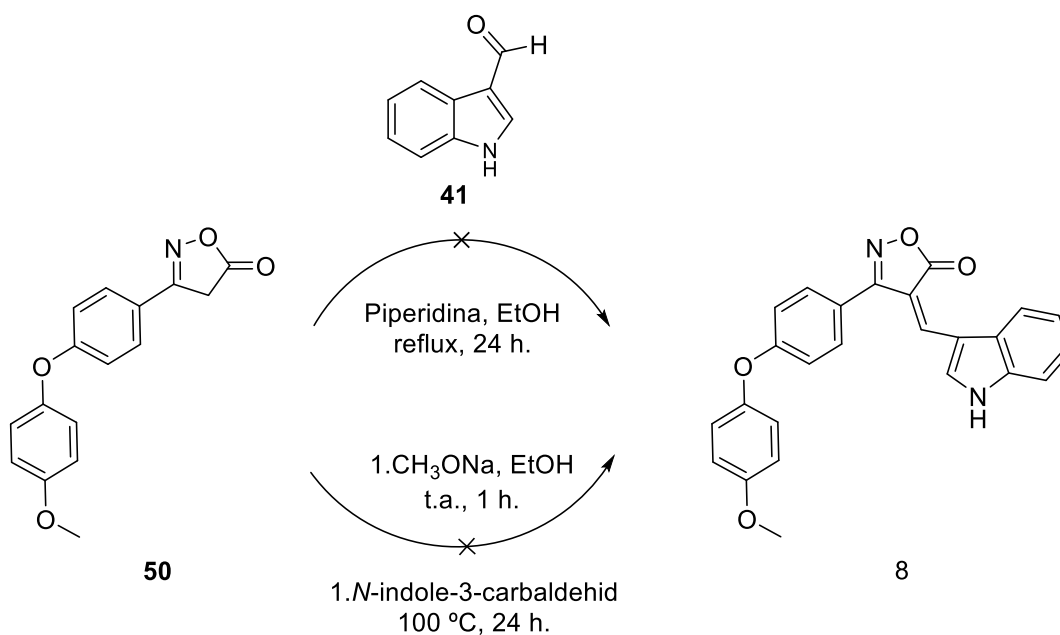
Esquema 24

El tractament de l'oxima **51** amb NaH, en el si de DMF, condueix a l'oxazolona **50** amb un 88% de rendiment. L'addició del grup hidroxil de l'oxima al grup carbonil de l'èster etílic i posterior eliminació del grup etoxil, permet la ciclació intramolecular (**Esquema 25**).



Esquema 25

Finalment, es va assajar la condensació aldòlica entre **50** i el 3-indolecarbaldehid (**41**), aplicant diferents condicions de reacció, però en cap dels casos fou possible aïllar el derivat indòlic **8** esperat (**Esquema 26**).



Esquema 26

3.2. Preparació de sistemes tiofen-condensats 9-29

El nucli de tiofè, condensat amb cicloalquils i derivats, no és massa freqüent dins la química orgànica general i tampoc en la química terapèutica al comparar-lo amb els nuclis heterocíclics nitrogenats i/o oxigenats.

En realitat això comporta que es disposi de menys metodologia per a la seva preparació química.

En aquest treball es considera d'interès la preparació de nuclis que contenen sofre com els indicats en la **Figura 38**.

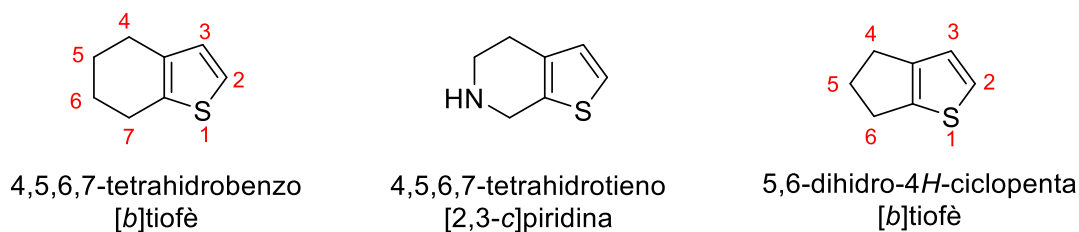
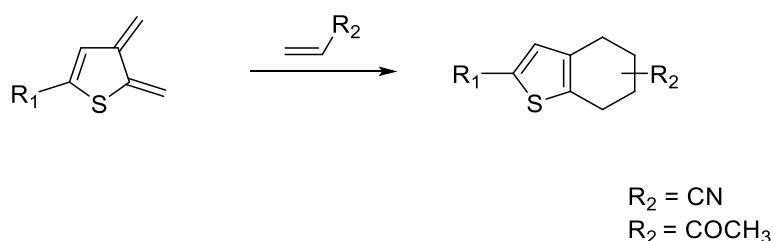


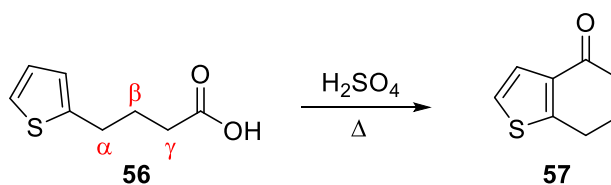
Figura 38. Nuclis que contenen sofre

Chadwick i col.¹³⁵ van aportar una metodologia per a la preparació de cicloalquiltiofens que transcorre mitjançant una cicloadició de Diels-Alder entre el diè 2,3-dimetilen-2,3-dihidrotiofè i l'acrilonitril o bé la metil vinil cetona que actuen com a dienòfils (**Esquema 27**).



Esquema 27

Frisch i col.¹³⁶ varen recórrer a la ciclació de l'àcid γ -(2-tienil)butíric amb àcid sulfúric concentrat (**Esquema 28**).



Esquema 28

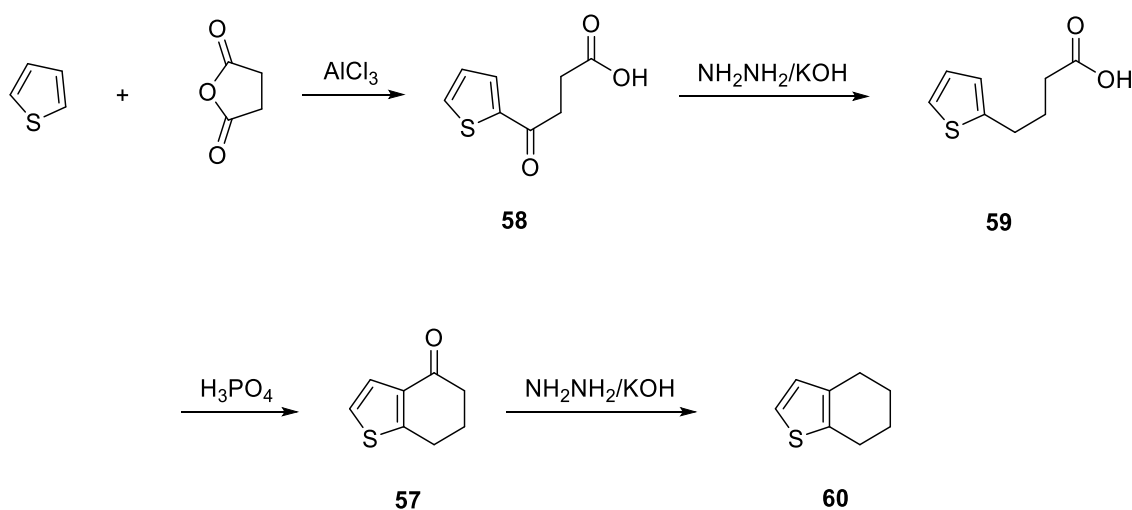
Encara que la metodologia més citada és la descrita per Cagmiant i col.¹³⁷ Aquesta ruta de 4 etapes implica: a) acilació del tiofè, b) reducció de la cetona mitjançant condicions

¹³⁵ J. D. Chadwick. *A. Plant. Tetrahedron Lett.* **1987**, *48*, 6085-6088

¹³⁶ M. C. Kloetzel, J. E. Little, D. M. Frisch. *J. Org. Chem.* **1953**, *18*, 1501-1515

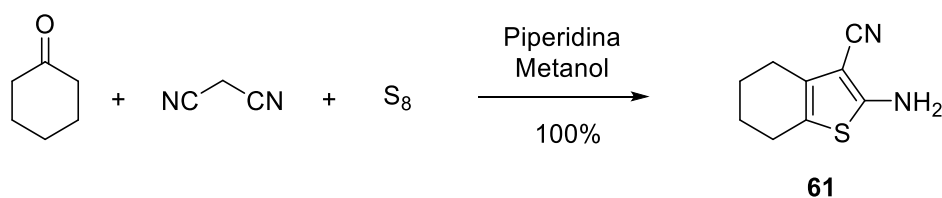
¹³⁷ I. Cauquil-Caubere, J. M. Kamenka. *Eur. J. Med. Chem.* **1988**, *33*, 867-877

de Wolff-Kischner, c) ciclació intramolecular emprant àcid fosfòric i d) nova reducció de la cetona **57** amb hidrazina i hidròxid potàssic, emprant de nou condicions de Wolff-Kischner (**Esquema 29**).



Esquema 29

Tenint en compte els antecedents bibliogràfics indicats, en aquest treball es va optar per una reacció multicomponent que consta de ciclohexanona, malononitril i sofre en la proporció 1:1:3, respectivament. En aquestes condicions s'obté el tetrahydrobenzotiofè **61** amb rendiments quantitius (100%) (**Esquema 30**).

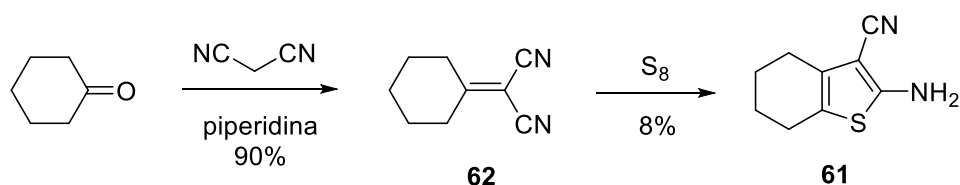


Esquema 30

Cal indicar que és de gran importància el tipus de sofre emprat. En el nostre cas es va emprar sofre ròmbic, anomenat també sofre alfa. Es tracta de molècules cícliques de S₈, cristal·litzat en forma ròmbica amb temperatures de transició de 95,6 °C.¹³⁸

Aquesta mateixa transformació es va realitzar en dues etapes successives, condensació entre la ciclohexanona i el malononitril per a donar el ciclohexilidendinitril **62** i posterior addició de sofre que condueix a **61** (**Esquema 31**).

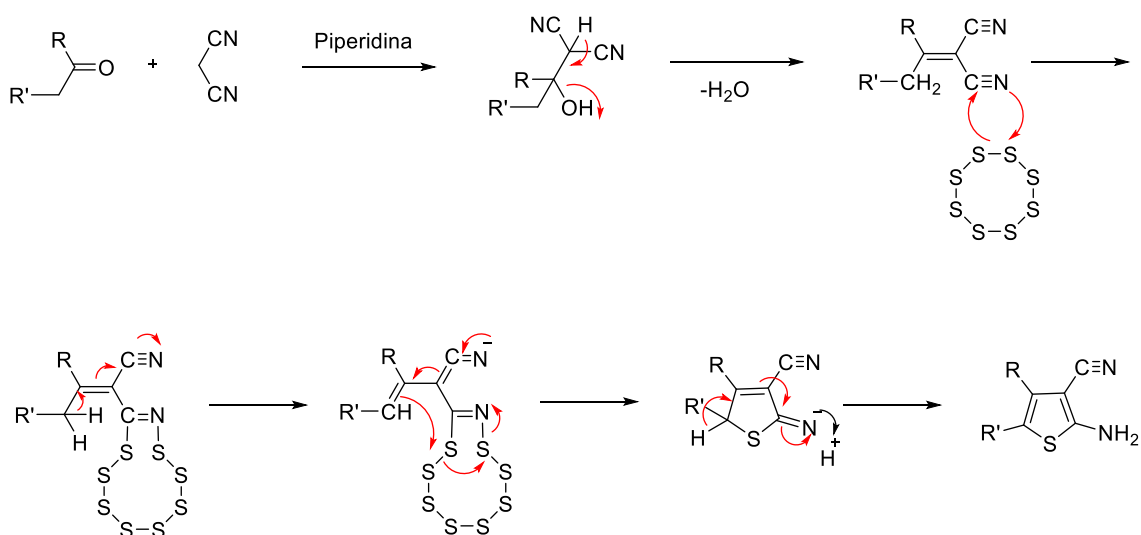
¹³⁸ <https://www.textoscientificos.com/quimica/inorganica/azufre/diferencias-azufre-oxigeno>
(Data: 25/07/18)



Esquema 31

En la primera etapa té lloc una condensació de Knoevenagel, que condueix a l'intermediari **62** amb rendiments elevats. En canvi, la següent etapa d'addició de sofre presenta més problemes i constitueix una limitació donat que s'obté **61** amb rendiments inferiors al 10%.

Per aquesta transformació es detalla a continuació un possible mecanisme¹³⁹ recollit en l'**Esquema 32**.

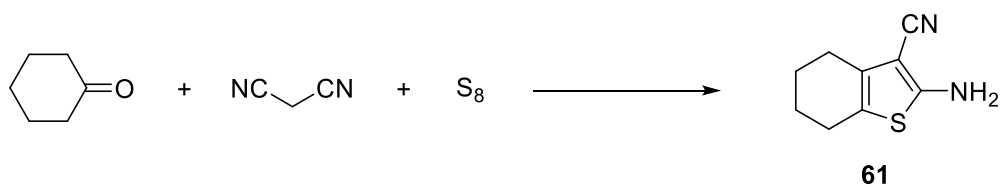


Esquema 32

Es va dur a terme un estudi d'aquesta reacció multicomponent per a la preparació de tetrahydrobenzotiofens, variant les condicions. En primer lloc, es va assajar agitar a temperatura ambient, amb un agitador magnètic, la mescla de ciclohexanona, malononitril i sofre ròmbic durant 1 h i, en aquestes condicions, s'obté el producte esperat amb rendiments quantitius (**Taula 10, entrada 1**).

¹³⁹K. Gewald, E. Schinke, H. Böttcher. *Chem. Ber.* **1966**, 99, 94-100

Taula 10. Condicions de la reacció multicomponent per a obtenir **61**



Entrada	Temperatura	Tècnica	Temps	Rendiment (%)
1	t.a.	Clàssica	1 h	100
2	t.a.	Ultrasons	15 min	95
3	t.a.	Microones	1 min	100

També es va considerar la realització de la reacció amb l'ajut d'ones vibratòries d'ultrasons. La font d'ultrasons més comunament disponible i més econòmica per introduir sons de freqüència en una reacció és el bany d'ultrasons, en el qual el transductor (component electromecànic encarregat de generar els ultrasons) està fixat a la base d'un bany omplert d'aigua. Els banys d'ultrasons treballen amb freqüències entre 30 i 50 KHz.¹⁴⁰ L'aplicació de sons de freqüència per a millorar reaccions químiques s'anomena sonoquímica.

En el nostre cas es va optar per la immersió, dins del bany d'ultrasons, d'un matràs que contenia la mescla de components de la reacció, durant 15 minuts a temperatura ambient. Es va obtenir el derivat tiofènic esperat amb un 95% de rendiment (**Taula 10, entrada 2**).

Sens dubte, una de les tècniques que més ha aportat a la química orgànica aquest darrer temps, ha estat l'aplicació de les irradiacions de microones a diferents tipus de reaccions químiques. L'assistència de microones a les reaccions químiques aporta un gran nombre d'avantatges, per un costat empra petites quantitats de dissolvent, redueix el nombre de reaccions secundàries i, sobretot, redueix considerablement el temps de reacció.¹⁴¹

¹⁴⁰ B. I. Kharisov, V. O. Méndez. *Ingenierías* **1999**, 2, 13-21

¹⁴¹ a) D. Bogdal, M. Lukasiwicz, A. Pielichowski, A. Miciak, Sz. Bednarz. *Tetrahedron* **2003**, 59, 649-653. b) E. Buxaderas, D. A. Alonso, C. Nájera. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 5864-5870. c) G. G. Brogini, V. Barbera, E. M. Beccalli, U. Chiacchio, A. Fasana, S. Galli, S. Gazzola. *Adv. Synth. Catal.* **2013**, 355, 1640-1648. d) H. H. Nguyen, M. J. Kurth. *Org. Lett.* **2013**, 15, 362-365. e) W. Qian, L. Zhang, H. Sun, H. Jiang, H. Liu. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, 354, 3231-3236. f) M. M. Baghbanzadeh, C. Pilger, C. O. Kappe. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 8138-8142. g) J. F. Cívicos, D. A. Alonso, C. Nájera. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353, 1683-1687. h) E. M. Beccalli, A. Bernasconi,

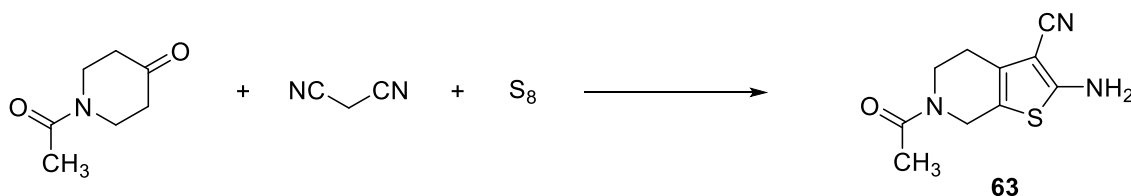
En molts casos permet dur a terme reaccions inèdites i, en d'altres, fa possible reaccions que no serien possibles amb les tècniques clàssiques habituals d'un laboratori de química orgànica.

En aquest treball, els assajos es van realitzar dins d'un tub especial per a aquest tipus de reaccions i es van dur a terme dins d'un forn CEM Discover LabMate. La temperatura externa es va mesurar, en tot moment, mitjançant un sensor d'IR. La pressió es va mantenir constant a 50 W durant tot l'experiment. Quan la mescla de components (ciclohexanona, malononitril i sofre) es va sotmetre a aquestes condicions es va obtenir el producte desitjat amb rendiments quantitius (100%) (**Taula 10, entrada 3**).

Cal remarcar que encara que els tres procediments emprats transcorren amb rendiments similars, a la pràctica seria aquest tercer mètode el d'elecció donat que proporciona el derivat tiofènic amb més elevat grau de puresa i facilita el seu aïllament del medi de reacció.

Aquest mateix estudi es va aplicar a la preparació de la 6-acetil-2-amino-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carbonitril (**63**) (**Taula 11**) i 3-ciano-6-benzil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]-pirimidin-2-amina (**64**) (**Taula 12**).

Taula 11. Condicions de la reacció multicomponent per a obtenir **63**

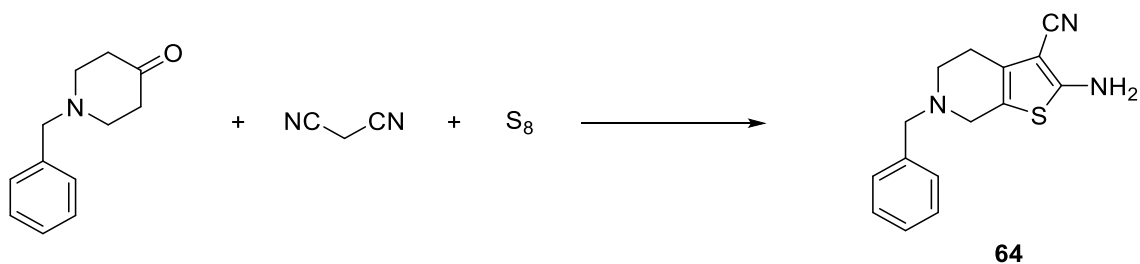


Entrada	Temperatura	Tècnica	Temps	Rendiment (%)
1	t.a.	Clàssica	1 h	85
2	t.a.	Ultrasons	15 min	90
3	t.a.	Microones	1 min	82

Seguint els procediments establerts anteriorment per al derivat tiofènic **61**, mitjançant condicions clàssiques de reacció, ultrasons i microones obtenim **63** amb rendiments lleugerament inferiors. En aquest cas, el mètode que permet l'obtenció de **63** amb major grau de puresa resulta ser el que requereix l'assistència d'ones vibratòries d'ultrasons.

E. Borsini, G. Brogini, M. Rigamonti, G. Zecchi. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 6923-6932. i) D. Liptrot, G. Alcaraz, B. Roberts. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, 352, 2183-2188

Taula 12. Condicions de la reacció multicomponent per a obtenir **64**

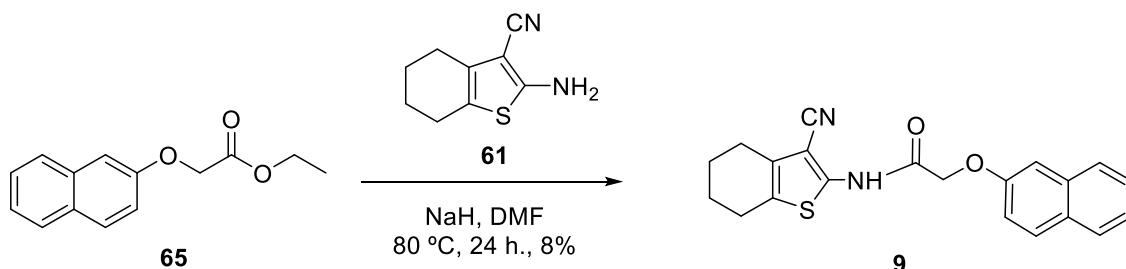


Entrada	Temperatura	Tècnica	Temps	Rendiment (%)
1	t.a.	Clàssica	1 h	65
2	t.a.	Ultrasons	15 min.	52
3	t.a.	Microones	1 min.	48

Mentre que aquestes mateixes condicions permeten l'obtenció de **61** i **63** amb bons rendiments, l'obtenció de **64** no es veu tan afavorida, sent el mètode clàssic el d'elecció en aquest cas amb un rendiment del 65%. La presència de l'amina terciària de la cetona no afavoreix el transcurs de la reacció, degut al caràcter bàsic i nucleòfil d'aquest grup.

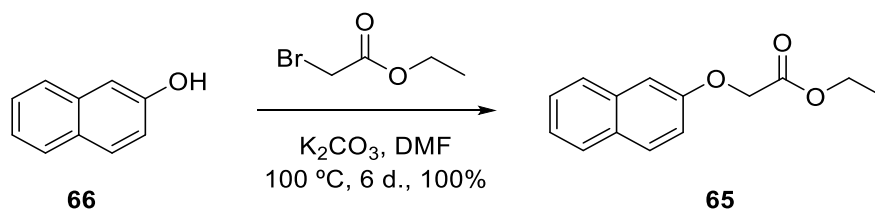
3.2.1. Preparació d'*N*-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*b*]tiofen-2-il)-2-(naftalen-2-iloxi)acetamida (**9**)

El tractament del 2-amino-3-ciano-4,5,6,7-tetrahydrobenzotiofè (**61**) amb el 2-naftoxiacetat d'etil (**65**), en presència d'NaH i en el si de DMF, condueix al derivat **9** amb un rendiment del 8%. La formació de l'amida **9** es va intentar optimitzar canviant les condicions, allargant el temps de reacció, la temperatura i, fins i tot, la base emprada (NaNH₂, *t*-BuOK), però en cap dels casos es va aconseguir una millora considerable (**Esquema 33**).



Esquema 33

L'èster **65** es va obtenir amb rendiment quantitatiu mitjançant l'alquilació del 2-naftol (**66**) amb 2-bromoacetat d'etil, en medi bàsic (K_2CO_3) i en el si de DMF (**Esquema 34**).



Esquema 34

El singulet a 4,84 ppm i el multiplet entre 1,83-1,86 ppm assignables al grup CH_2-O i als metilens de les posicions 5 i 6, permeten confirmar l'estructura proposada per al compost **9** (**Figura 39**).

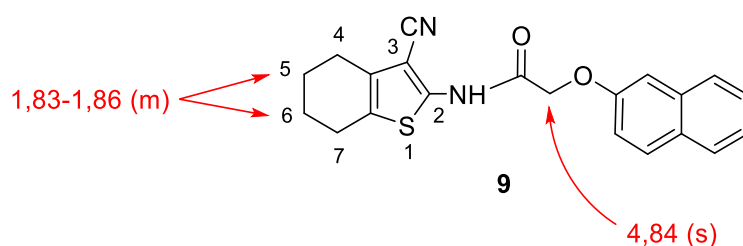
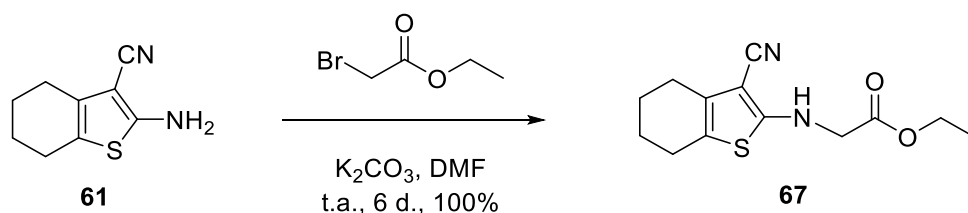


Figura 39. Dades d'RMN- ^1H del compost **9**

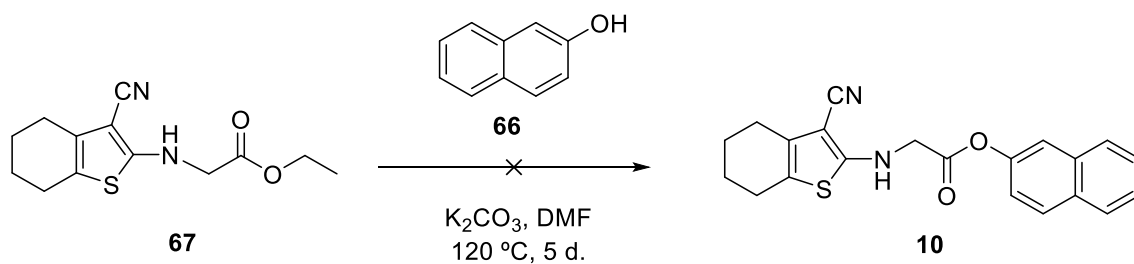
3.2.2. Preparació de (3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-2-il)glicinat de 2-naftil (**10**)

El derivat tiofènic **61** s'alquila, amb rendiment quantitatiu, per tractament amb el 2-bromoacetat d'etil en condicions clàssiques (K_2CO_3 , DMF) (**Esquema 35**).



Esquema 35

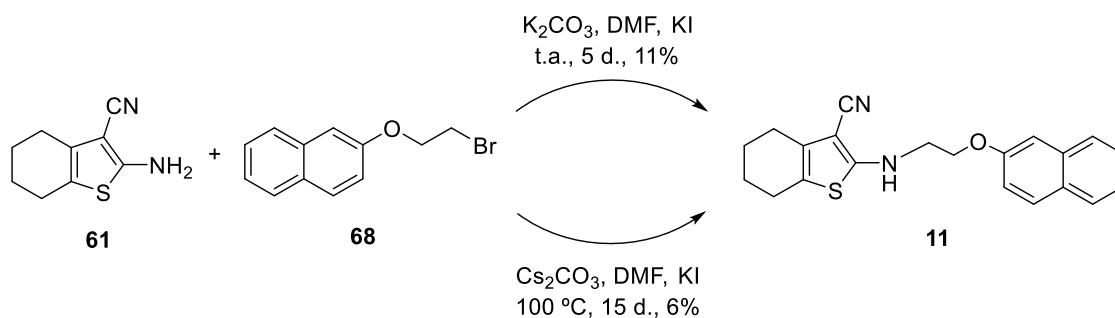
A continuació, l'èster etílic intermediari **67** es tracta amb el 2-naftol (**66**), en presència de carbonat potàssic i en el si de DMF. Tot i escalfant a altes temperatures i aplicant petits canvis, no es va obtenir el producte desitjat **10** en les condicions emprades (**Esquema 36**).



Esquema 36

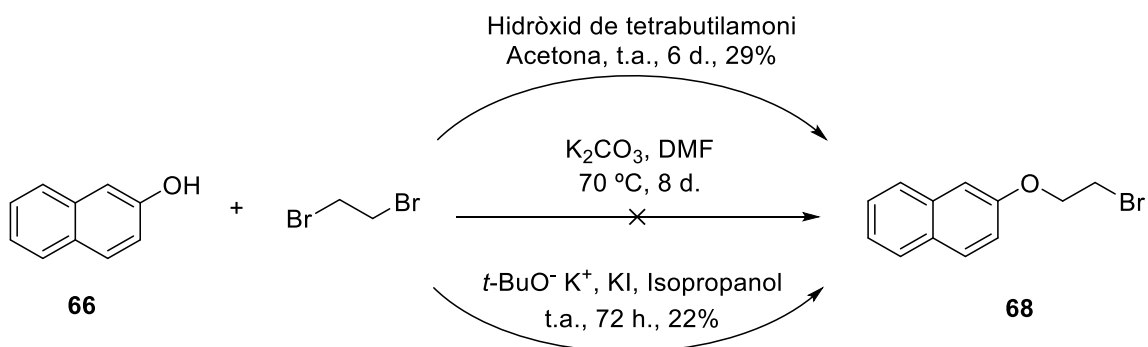
3.2.3. Preparació de 2-((2-naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carbonitril (**11**)

El naftil derivat **11** s'obté mitjançant l'alquilació del 2-amino-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzotiofè (**61**) amb el 2-bromoetoxinaftalè (**68**). Es va assajar l'alquilació emprant K_2CO_3 com a base i deixant la mescla de reacció en agitació a temperatura ambient, obtenint-se el producte desitjat amb un 11% de rendiment. Alternativament, es va assajar emprant Cs_2CO_3 com a base i escalfant a 100 °C, però només es va aïllar amb un 6% de rendiment el producte esperat **11** (Esquema 37).



Esquema 37

El bromo-èter **68** es va preparar per alquilació del 2-naftol (**66**) amb el dibromoetà emprant diferents condicions. Quan es va emprar com a base el K_2CO_3 , en el si de DMF, no es va aconseguir el producte esperat **68**. Emprant *t*-BuOK en isopropanol s'obté l'èter **68** amb un 22%, mentre que la utilització d'hidròxid de tetrabutilamoni condueix amb un rendiment lleugerament superior a l'èter **68** (29%) (Esquema 38).



Esquema 38

Els triplets de l'espectre d'RMN-¹H a 3,71 i a 4,42 ppm, assignables als metilens units a nitrogen i a oxigen, respectivament, permeten confirmar l'estructura proposada per a l'èter **11** (Figura 40).

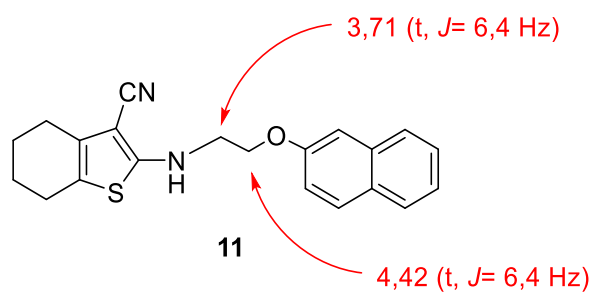
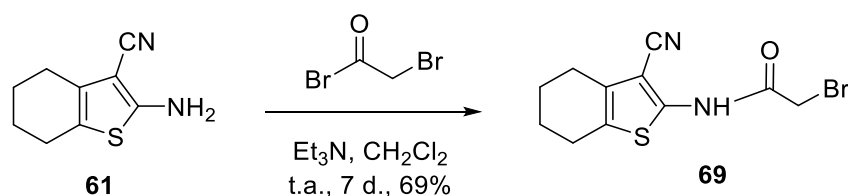


Figura 40. Dades d'RMN-¹H del derivat **11**

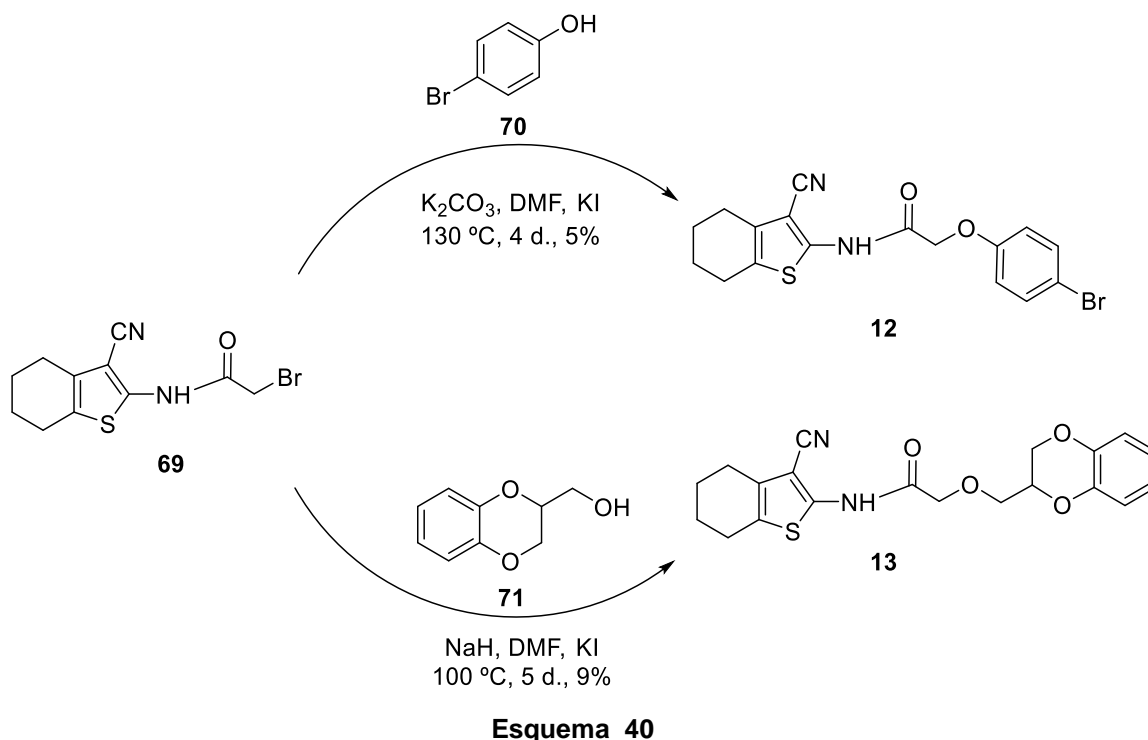
3.2.4. Preparació de 2-(4-bromofenoxi)-*N*-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*b*]tiofen-2-il)acetamida (**12**) i *N*-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*b*]tiofen-2-il)-2-((2,3-dihidrobenzo[*b*][1,4]dioxin-2-il)metoxi)acetamida (**13**)

Els amino-èters **12** i **13** s'obtenen a partir de la bromoamida intermediària **69**, la qual es prepara per acilació del derivat tiofènic **61** amb bromur de 2-bromoacètic emprant condicions clàssiques de reacció. Es va emprar trietilamina com a base per captar l'àcid bromhídric format en la reacció i diclorometà com a dissolvent (**Esquema 39**).



Esquema 39

A continuació, l'alquilació del fenol **70** amb la bromoacetamida **69** condueix a l'amida **12** amb un 5% de rendiment (**Esquema 40**).



Emprant NaH com a base, en el si de DMF, l'alquilació del 2-hidroximetil-1,4-benzodioxà (**71**) permet l'obtenció de l'amida **13** amb un 9% de rendiment (**Esquema 40**).

Les dades de l'espectre d'RMN de protó amb singulet a 5,01 (CH₂-O-) i els dobles a 6,89 i 7,42 ppm, corresponents als protons de les posicions α i β de l'anell benzènic, permeten confirmar l'estructura proposada per a **12**. Mentre que el singulet a 3,58 (CH₂-O-), conjuntament amb el multiplet a 6,85-6,87, on ressonen els protons de l'anell benzènic, confirmen l'estructura de l'amida **13** (**Figura 41**).

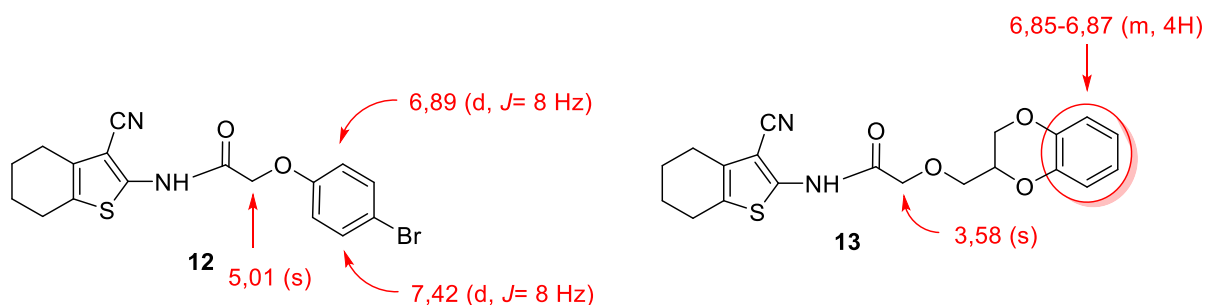
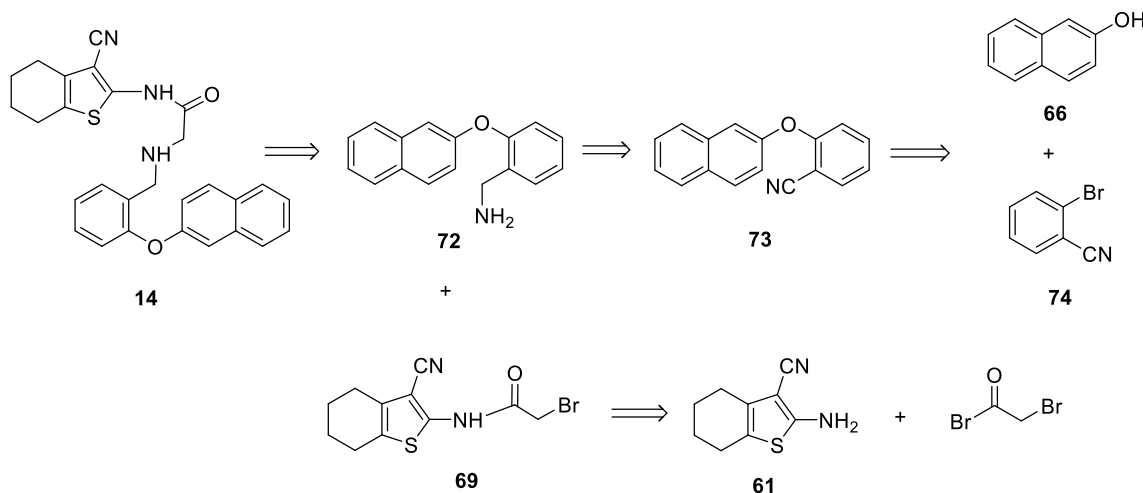


Figura 41. Dades d'RMN-¹H per a **12** i **13**

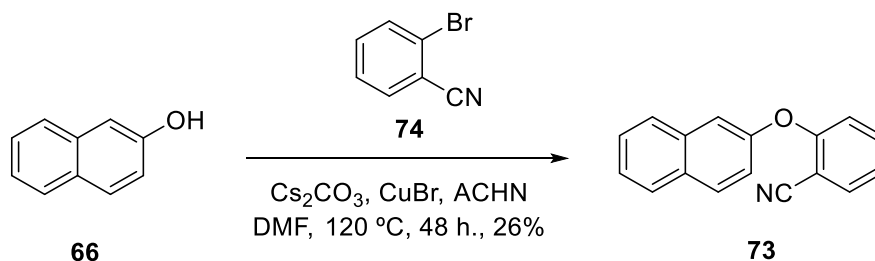
3.2.5. Preparació d'*N*-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-2-il)-2-((2-(naftalen-2-iloxi)benzil)amino)acetamida (**14**)

Per a la preparació de l'amida **14** es planteja la següent anàlisi retrosintètica (**Esquema 41**).



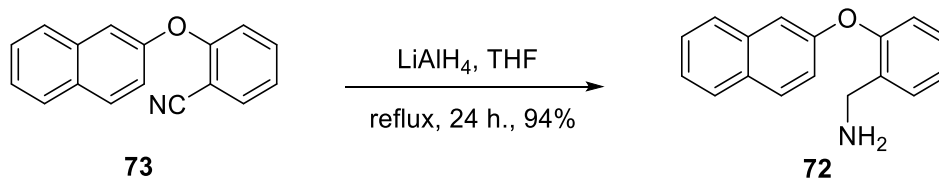
Esquema 41

L'arilació del 2-naftol (**66**) amb el 2-bromobenzonitril (**74**), emprant les condicions posades a punt en el nostre laboratori,¹³⁴ condueix al diarilèter **73** amb un 26% de rendiment (**Esquema 42**). Es tracta d'una reacció d'acoblament creuat catalitzada per bromur de coure (I).



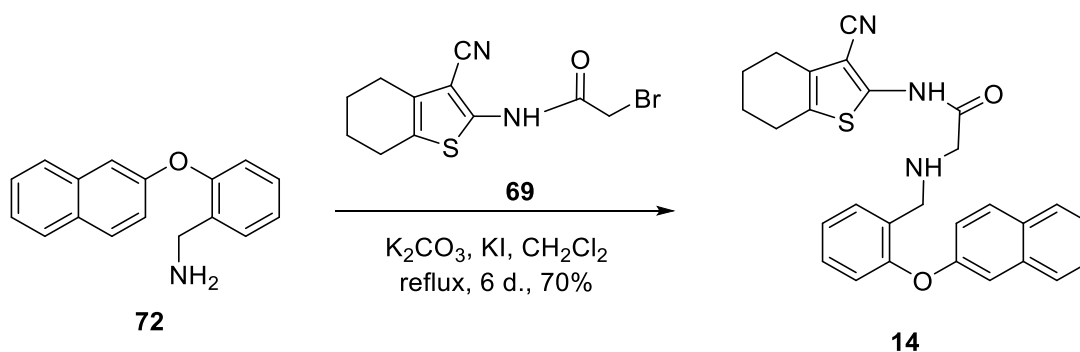
Esquema 42

A continuació, la reducció del grup nitril de **73** amb LiAlH_4 , en el si de tetrahidrofur, permet aïllar amb excel·lent rendiment l'amina primària **72** (rendiment del 94%) (**Esquema 43**).



Esquema 43

Finalment, l'alquilació de l'amina **72** amb la 2-bromo-acetamida **69**, en presència de K_2CO_3 com a base i KI, i en el si de diclorometà, condueix a l'amino-amida **14** amb un 70% de rendiment (**Esquema 44**).



Esquema 44

Els singulets a 3,55 i a 3,97 ppm de l'espectre d'RMN- ^1H , assignables als metilens α -carbonílic i benzílic, respectivament, permeten confirmar l'estructura proposada per l'aminoamida **14** (**Figura 42**).

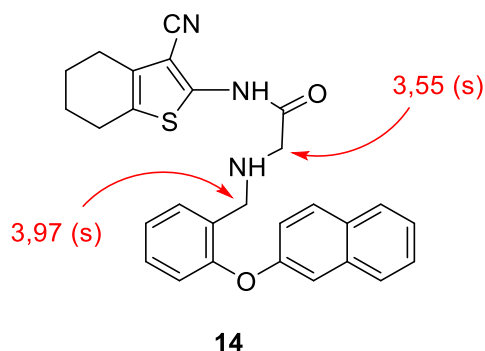
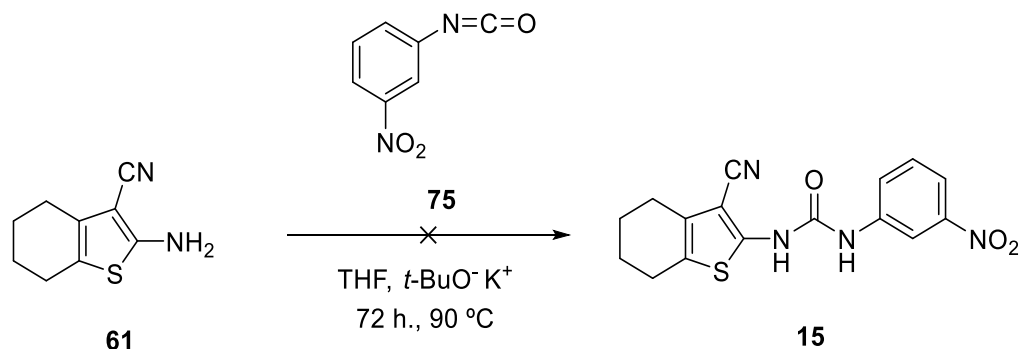


Figura 42. Dades d'RMN- ^1H de l'aminoamida **14**

3.2.6. Preparació d'1-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-2-il)-3-(3-nitrofenil) urea (**15**)

L'addició de 2-amino-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzotiofè (**61**), preparat prèviament en aquest treball, a l'isocianat **75** en el si de tetrahidrofuran i en presència de *tert*-butòxid

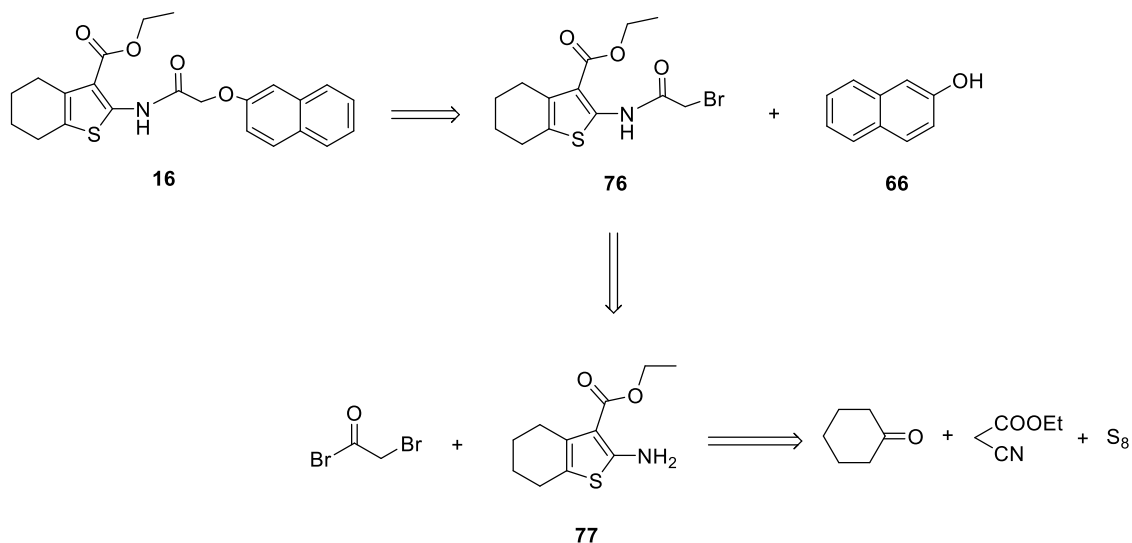
potàssic, no permet l'obtenció de la ciano-urea esperada **15**, fet atribuïble a problemes de solubilitat en les condicions assajades (**Esquema 45**).



Esquema 45

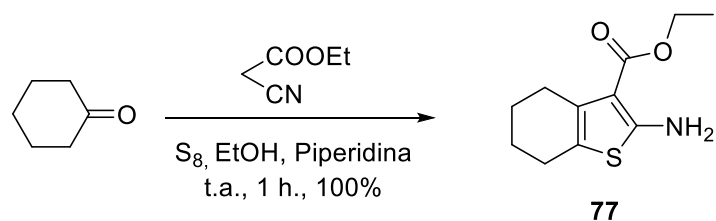
3.2.7. Preparació de 2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (**16**)

L'anàlisi retrosintètica plantejada per a la preparació de l'èster **16** s'indica a continuació (**Esquema 46**).



Esquema 46

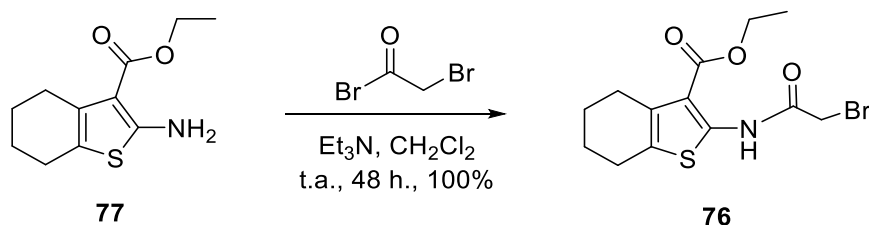
L'èster intermediari **77** es va preparar mitjançant una reacció multicomponent a partir de la ciclohexanona, el cianoacetat d'etil i S_8 , en les condicions indicades anteriorment en aquest treball per a la preparació dels anàlegs que presenten grup nitril enlloc de l'èster etílic (**Esquema 47**).



Esquema 47

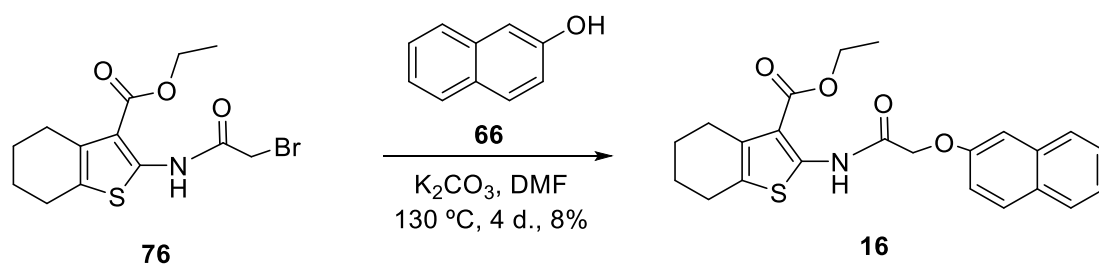
En aquestes condicions es va obtenir l'èster tiofènic **77** amb rendiments quantitius.

Tot seguit, es va realitzar l'acilació de **77** emprant bromur de 2-bromoacetil en el si de diclorometà i en presència de trietilamina, obtenint l'amida esperada **76** amb rendiment del 100% (**Esquema 48**).



Esquema 48

Per últim, es duu a terme l'alquilació del 2-naftol (**66**) en el si de DMF i emprant K_2CO_3 per a la captació de l'àcid bromhídric format en la reacció. Aquesta reacció constitueix l'etapa clau per a la determinació del rendiment global de la síntesi de **16**. Com en casos anteriors, aquestes reaccions d'alquilació no superen el 10% de rendiment (**Esquema 49**).



Esquema 49

Els senyals de l'espectre d'RMN- ^1H que apareixen a 1,37 (t) i 4,36 (q), assignats als protons del grup CH_3 i $\text{CH}_2\text{-O}$ de l'èster, el singulet a 4,83, assignable al metilenoxi de la cadena i, el singulet a 7,18 ppm, atribuït al protó de la posició de l' α -naftol, permeten confirmar l'estructura proposada per l'amida **16** (**Figura 43**).

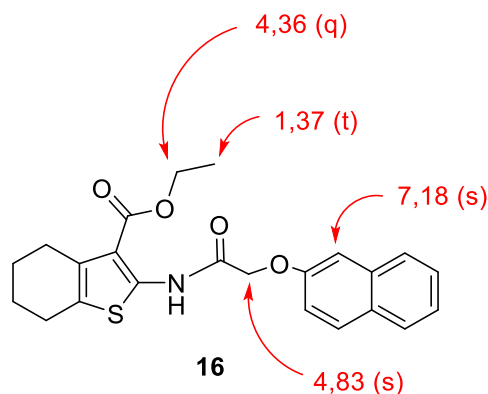
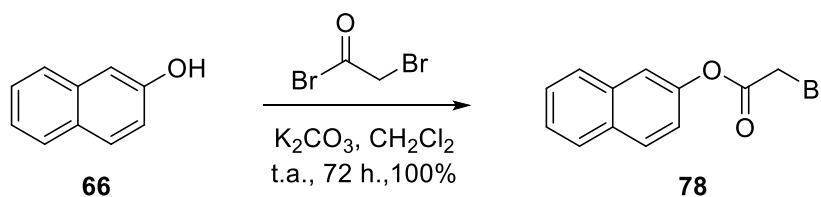


Figura 43. Dades d'RMN-¹H de l'amida **16**

3.2.8. Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)-2-oxoetil)amino)-4,5,6,7-tetrahidro benzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (**17**)

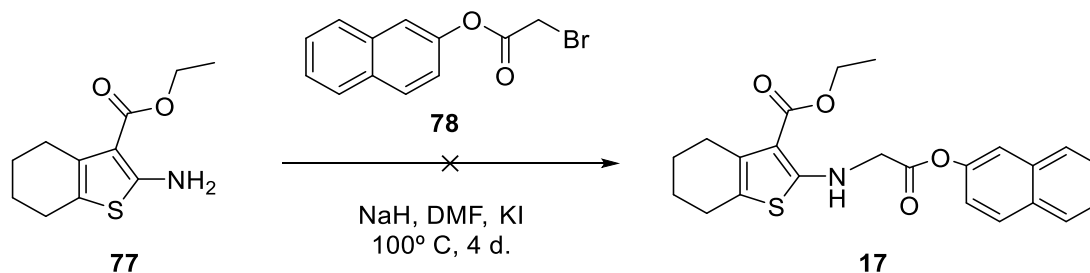
Per a la síntesi de l'èster **17** es va preparar prèviament el 2-bromoacetat de 2-naftol (**78**) per acilació amb el bromur de 2-bromoacetil (**Esquema 50**).



Esquema 50

Sota les condicions clàssiques emprades (K_2CO_3 i diclorometà) s'obté amb excel·lent rendiment l'èster intermediari **78**.

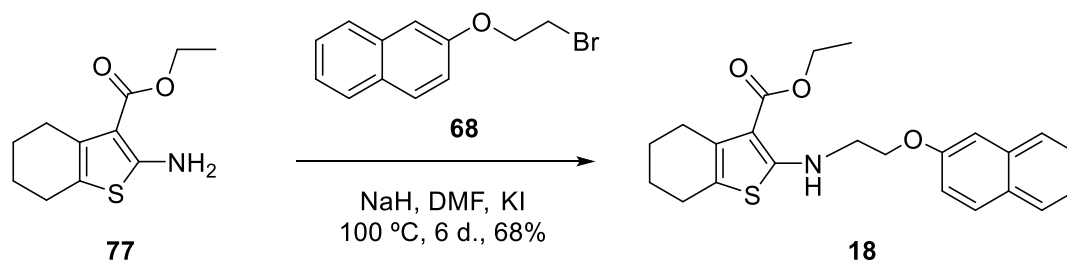
A continuació, es va dur a terme l'alquilació del 2-amino-3-etoxicarbonil-4,5,6,7-tetrahidrobenzotiofè (**77**), emprant DMF com a dissolvent, NaH com a base i en presència de KI, que facilita la substitució nucleòfila. Després d'escalfar a 100 °C durant 4 dies no es va observar la presència de l'èster etílic **17** esperat en aquestes condicions (**Esquema 51**).



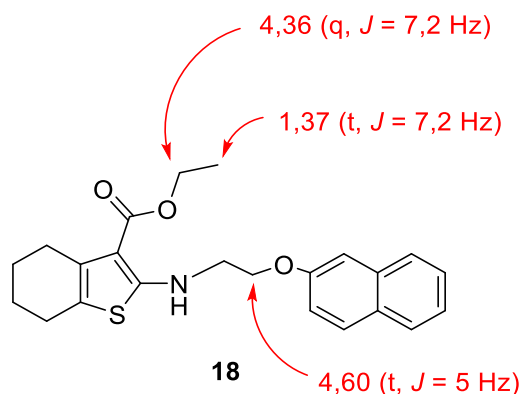
Esquema 51

3.2.9. Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (18)

Seguint el procediment emprat anteriorment per a la preparació d'11, però utilitzant en aquest cas NaH, com a base, s'obté l'aminoèter esperat 18 amb rendiments del 68%, superiors als obtinguts per a la síntesi d'11 (Esquema 52).

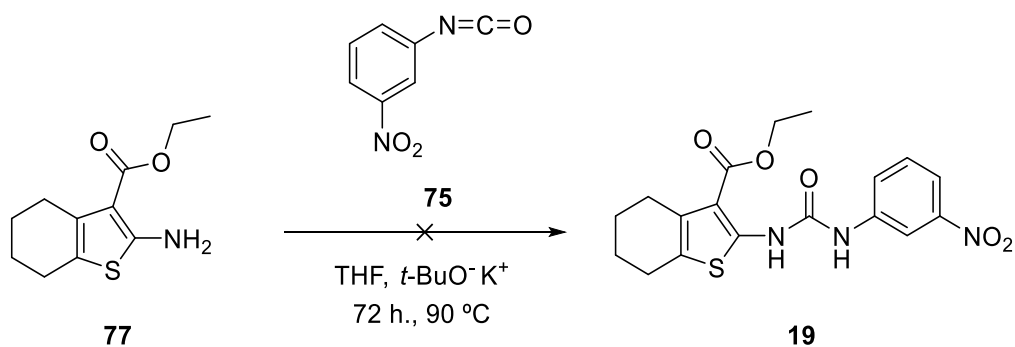


Les dades de l'espectre d'RMN-¹H com són el triplet a 1,37 (CH₃-), quadruplet a 4,36 (CH₂-O) i triplet a 4,60 ppm (CH₂-O), permeten confirmar l'estructura proposada per a l'èster 18 (Figura 44).



3.2.10. Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (19)

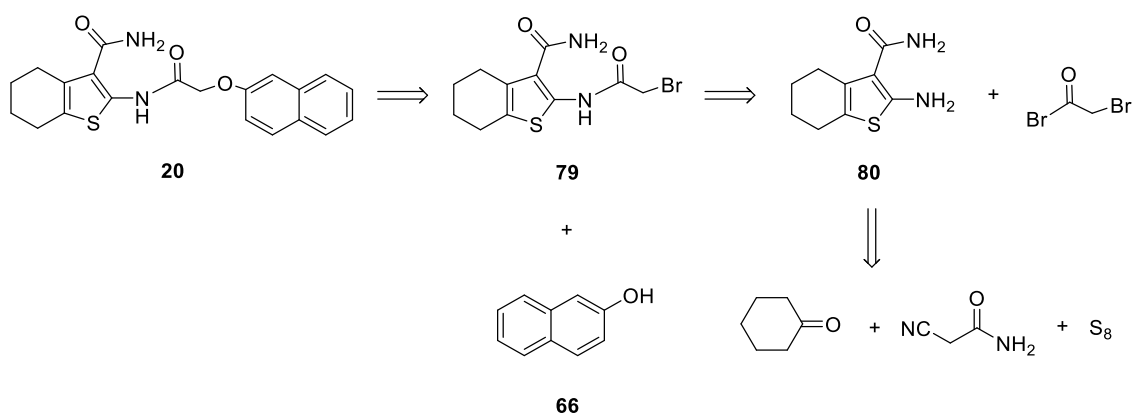
L'addició de 2-amino-3-etoxicarbonil-4,5,6,7-tetrahidrobenzotiofè (77), preparat prèviament en aquest treball, a l'isocianat 75 en el si de tetrahidrofuran i en presència de *tert*-butòxid potàssic, no permet l'obtenció de la urea esperada 19, així com tampoc va ser possible, utilitzant les mateixes condicions, l'obtenció de 15 (Esquema 53).



Esquema 53

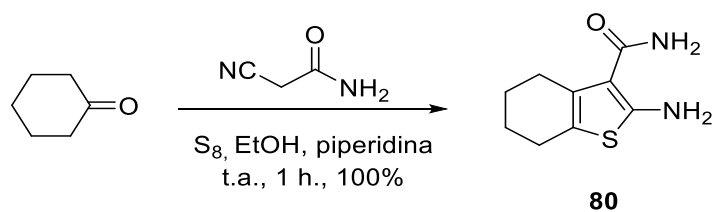
3.2.11. Preparació de 2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo [b]tiofè-3-carboxamida (**20**)

Per a la preparació de la diamida **20** es va plantejar l'anàlisi retrosintètica que s'indica a l'**Esquema 54**.



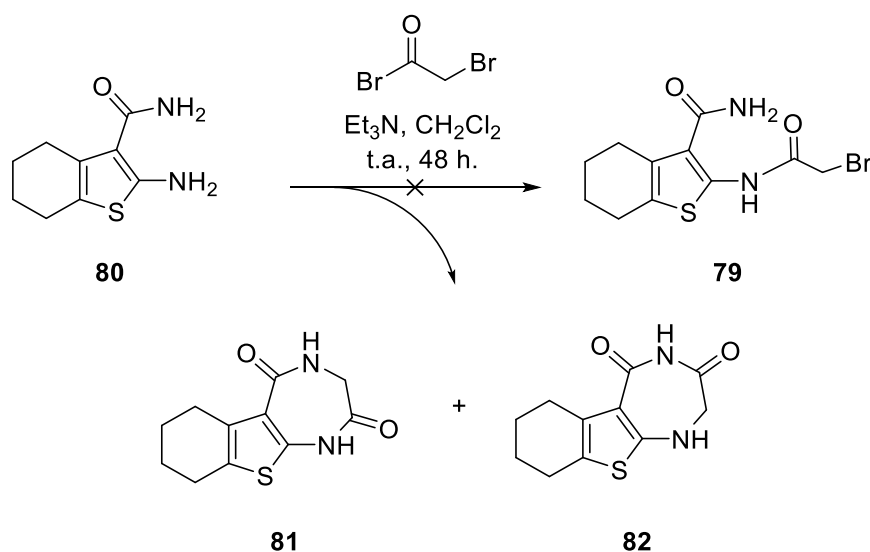
Esquema 54

L'amida intermediària **80** es va preparar per condensació de la ciclohexanona i la cianoacetamida en presència de sofre ròmbic, en el si d'etanol, i emprant piperidina com a base. D'aquesta reacció multicomponent s'obté **80** amb excel·lent rendiment (100%) (**Esquema 55**).



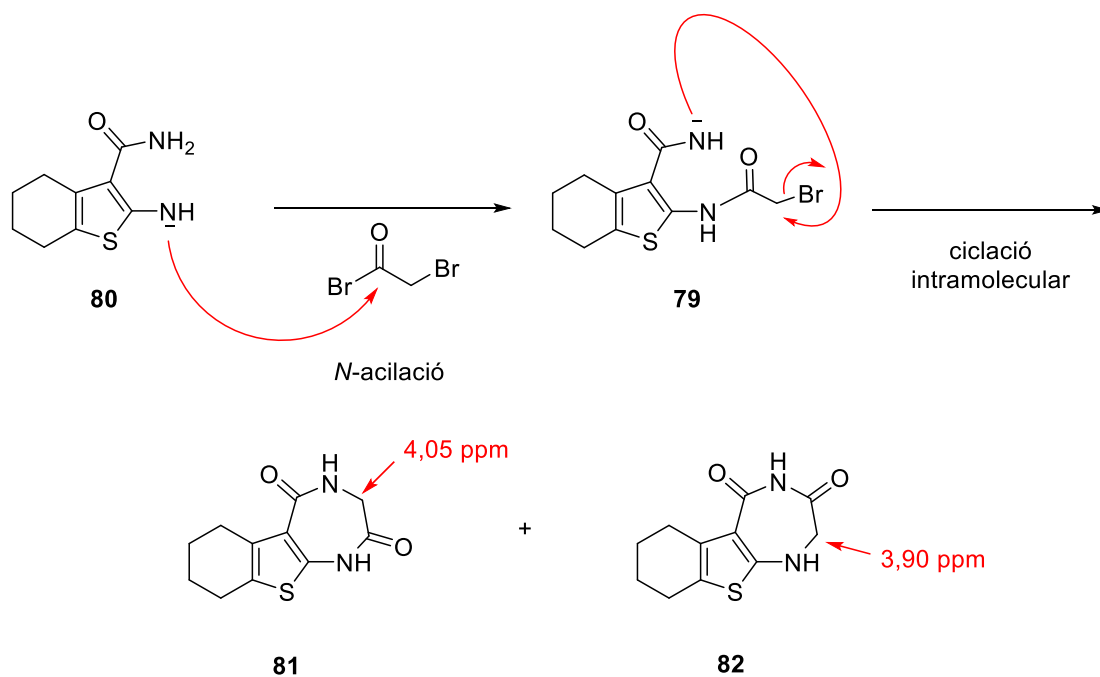
Esquema 55

A continuació, es va assajar l'acilació de **80** amb el bromur de 2-bromoacetil, emprant les condicions clàssiques (Et_3N i diclorometà), que no va conduir a l'amida **79** esperada sinó que va permetre aïllar els derivats cíclics **81** i **82** (**Esquema 56**).



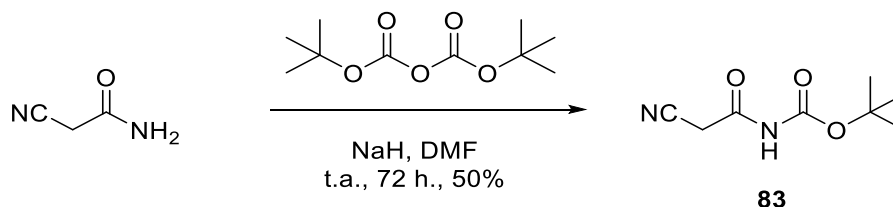
Esquema 56

Mentre que **82** procedeix de l'acilació del grup $-\text{NH}_2$ de l'amida, seguit de la ciclació intramolecular per alquilació del grup amino de la posició 2, el compost **81** procedeix de l'acilació de l'amina de la posició 2 del derivat tiofènic, seguida de la ciclació intramolecular. S'obté la mescla en una proporció de 3:1 de **81** respecte a **82** (**Esquema 57**).



Esquema 57

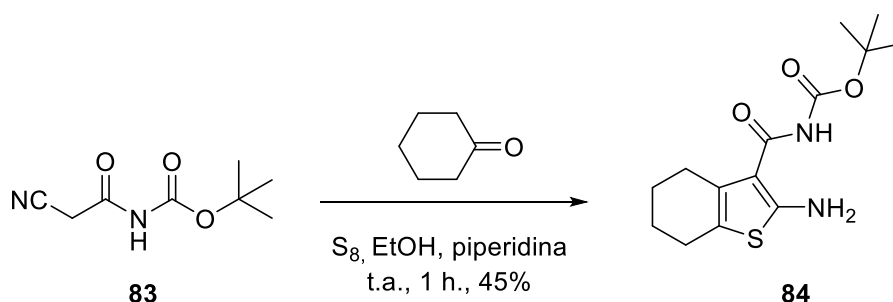
Els resultats obtinguts ens va portar a considerar la protecció de l'aminoamida intermediària **80**. Per això, es va preparar prèviament l'*N*-BOC cianoacetamida (**83**) per tractament de la 2-cianoacetamida amb el dicarbonat de di-*tert*-butil (BOC) en el si de DMF i en presència d'NaH com a base (**Esquema 58**).



Esquema 58

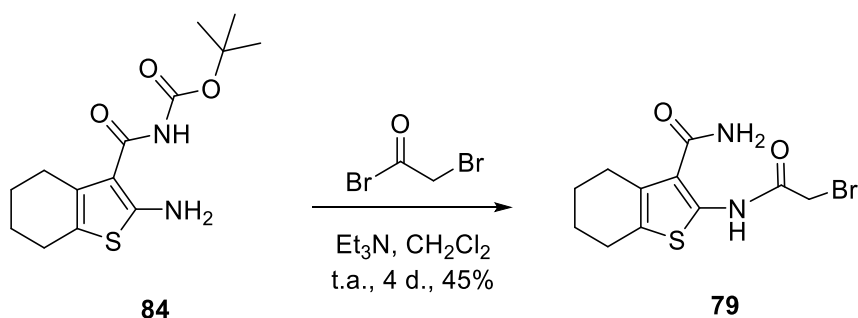
En aquestes condicions s'obté amb un 50% de rendiment l'*N*-BOC cianoacetamida (**83**).

Tot seguit, l'*N*-BOC cianoacetamida (**83**) es sotmet a una reacció multicomponent a la que s'hi afegeix la ciclohexanona i el sofre ròmbic, per a obtenir el derivat protegit **84** amb un 45% de rendiment (**Esquema 59**).



Esquema 59

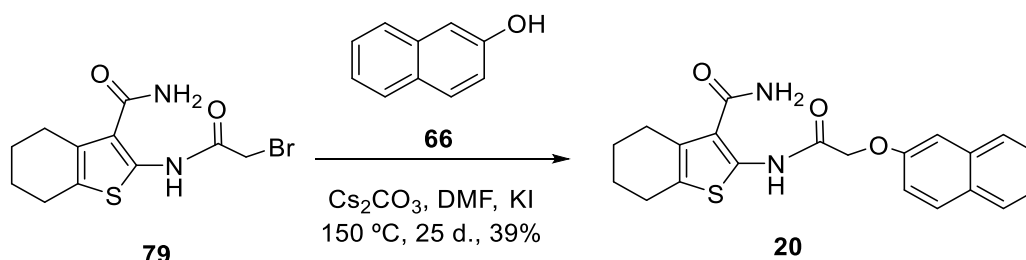
L'acilació del derivat tiofènic **84** amb el bromur de 2-bromoacetil, en el si de diclorometà i en presència de trietilamina, condueix a l'amida **79** amb un 45% de rendiment (**Esquema 60**).



Esquema 60

Cal remarcar que en les condicions emprades s'obté l'amida no protegida, degut a la pèrdua del grup protector BOC, però en aquest cas no es detecta el compost procedent de la ciclació intramolecular **81**. Els resultats obtinguts fan pensar que en primer lloc es procedeix a l'acilació i posteriorment a l'*N*-desprotecció.

A continuació es duu a terme l'alquilació del 2-naftol (**66**) amb la 2-bromoacetamida (**79**) que condueix a la diamida esperada **20** amb un 39% de rendiment (**Esquema 61**).



Esquema 61

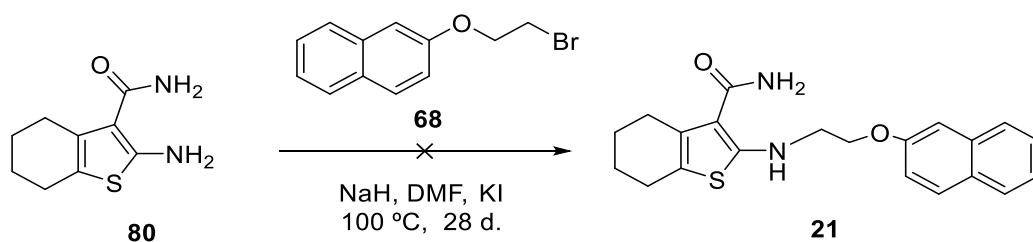
Els desplaçaments per als grups metilens $-\text{CH}_2-\text{Br}$ de **79** a 3,86 ppm i el de $-\text{CH}_2-\text{O}-$ de **20** a 4,79 ppm, en l'espectre d'RMN- ^1H , ens permeten confirmar l'obtenció de l'amida **20** a partir del bromo-derivat **79** (**Figura 45**).



Figura 45. Dades d'RMN- ^1H per als compostos **20** i **79**

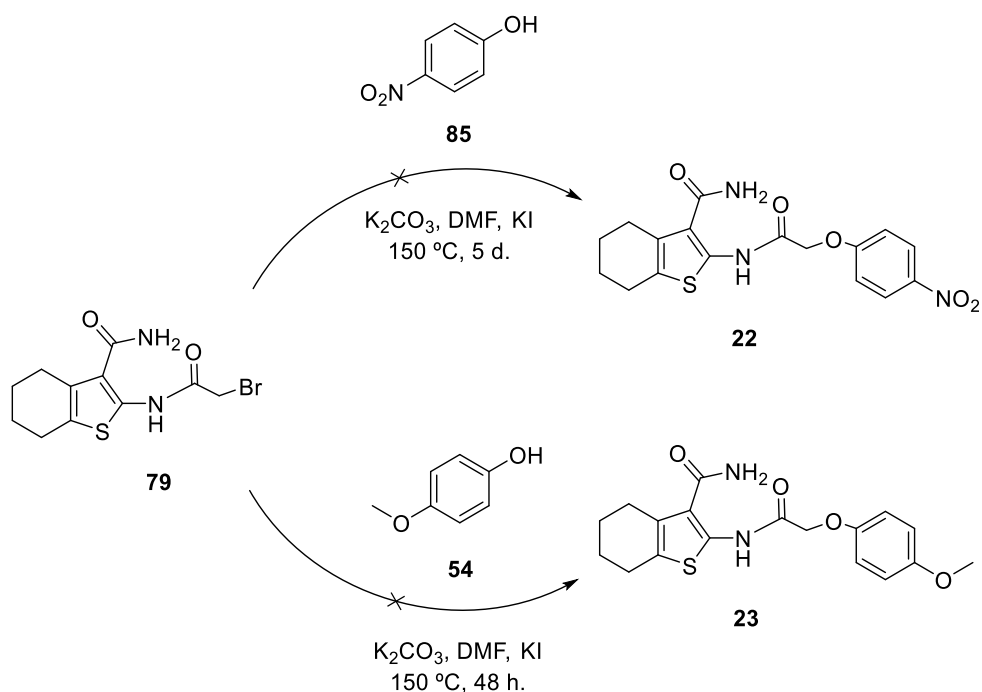
3.2.12. Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofè-3-carboxamida (**21**), 2-(2-(4-nitrofenoxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofè-3-carboxamida (**22**) i de 2-(2-(4-metoxifenoxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofè-3-carboxamida (**23**)

El tractament de l'aminoamida **80** amb el bromo-èter **68**, preparat prèviament en aquest treball, sota les condicions d'alquilació (NaH, DMF, KI) no permet l'obtenció de l'èter esperat **21**. Malgrat modificar les condicions i allargar considerablement el temps de reacció, no fou possible detectar la seva formació (**Esquema 62**).



Esquema 62

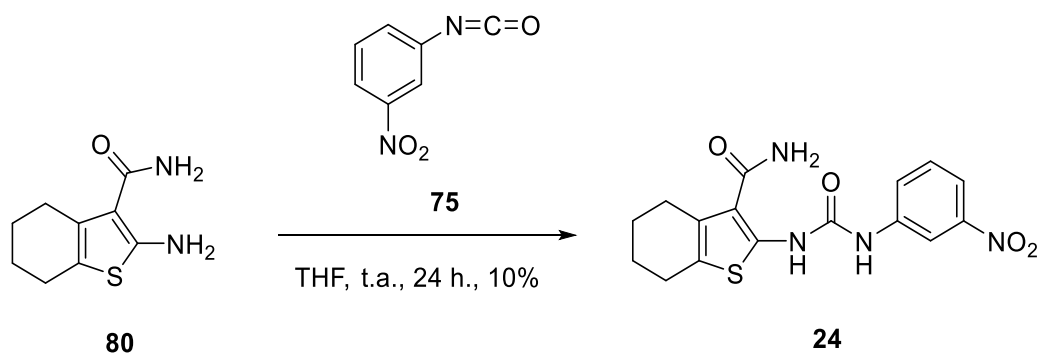
Tanmateix, es va assajar l'alquilació de fenols que presentin en *para* un grup atraient d'electrons, com el *p*-nitrofenol i el *p*-metoxifenol, que presenta en *para* un substituent donador d'electrons, però en cap dels casos es van poder aïllar els amido-èters esperats **22** i **23** (Esquema 63).



Esquema 63

3.2.13. Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxamida (**24**)

La amido-urea **24** es va obtenir per addició de l'aminoamida **80** a l'isocianat **75**, en el si de tetrahidrofurà. En aquestes condicions es va obtenir **24** amb un rendiment del 10% (Esquema 64).



Esquema 64

A l'espectre d'RMN-¹H apareix un singlet a 8,54, atribuïble al protó de la posició C-2', i dos multiplets que ressonen a 2,58 i 2,68 ppm, assignables als protons de les posicions C-7 i C-4, respectivament. Aquestes dades, juntament a d'altres resultats analítics, permeten confirmar l'estructura proposada per a la urea **24** (Figura 46).

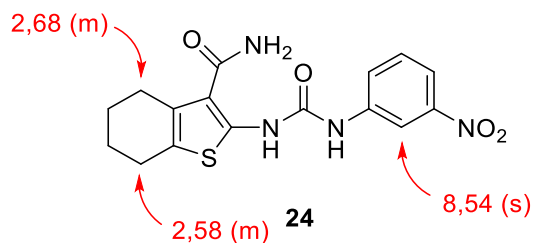
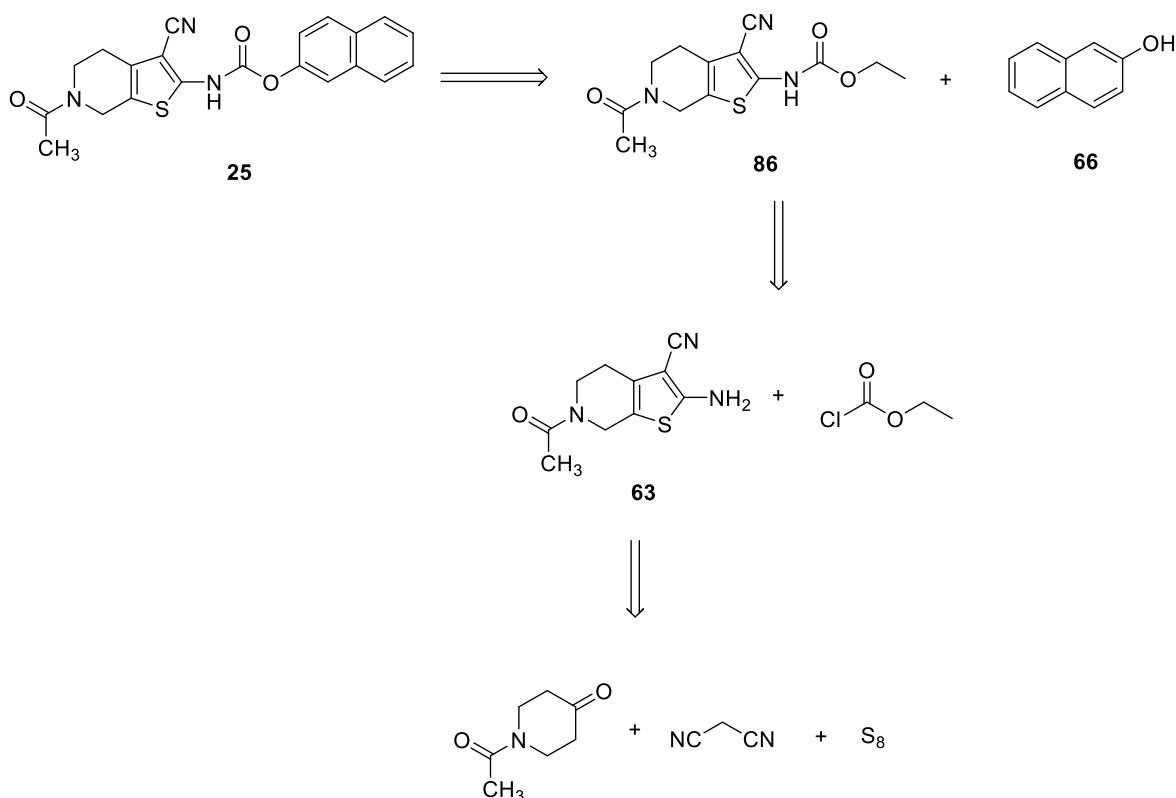


Figura 46. Dades d'RMN-¹H de **24**

3.2.14. Preparació de (6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-*b*]piridin-2-il)carbammat de 2-naftil (**25**)

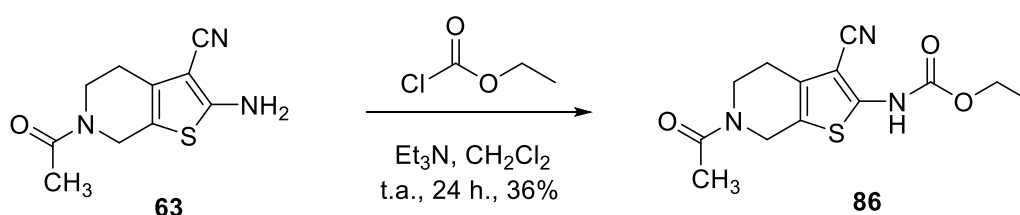
La síntesi del carbamat **25** es va plantejar d'acord a la següent anàlisi retrosintètica (Esquema 65).



Esquema 65

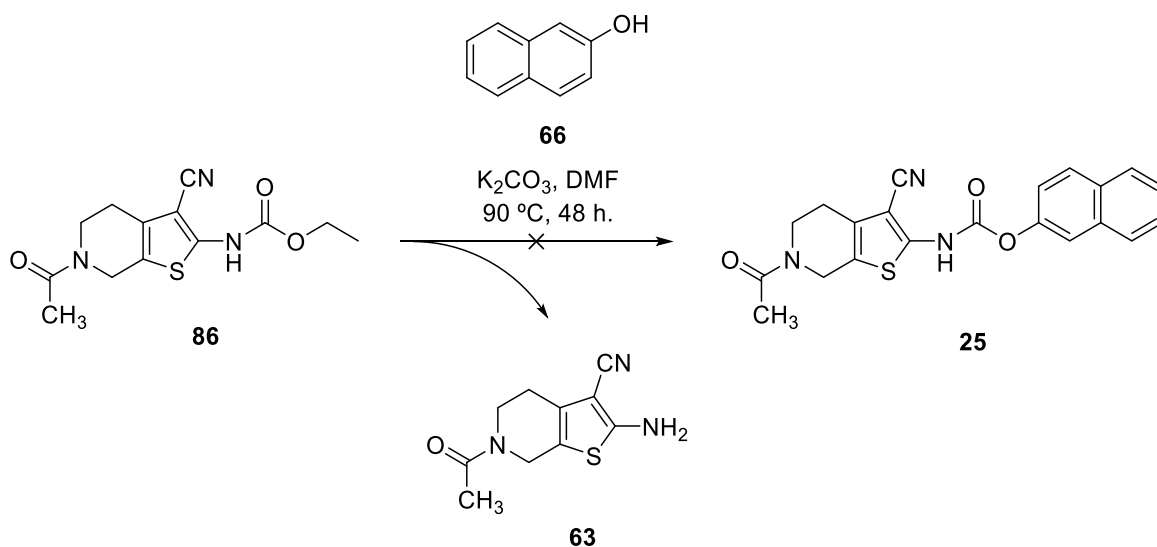
El derivat benzotiofè **63** es va obtenir a partir de l'*N*-acetilpiperidona per condensació amb el malononitril i amb el sofre ròmbic, seguint les condicions posades a punt en aquest treball, amb rendiments quantitius tal i com s'ha indicat a l'apartat 3.2.

Tot seguit, es duu a terme l'acilació de **63** amb el cloroformat d'etil, en el si de CH₂Cl₂ i en presència de trietilamina com a base, que condueix al carbamat **86** amb un 36% de rendiment (**Esquema 66**).



Esquema 66

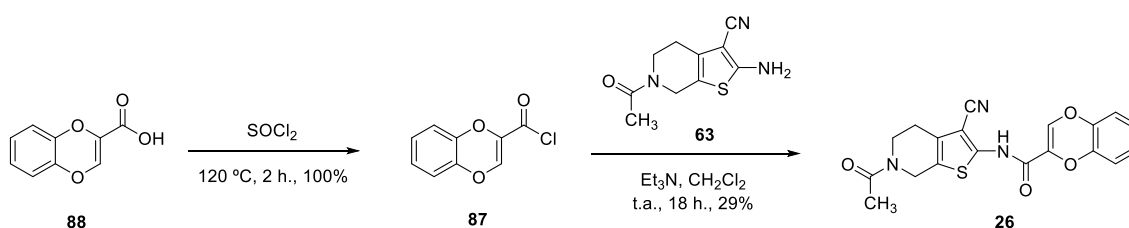
A continuació, es va assajar l'addició del 2-naftol (**66**) al carbamat **86** en medi bàsic i en el si de DMF però, en aquestes condicions, no fou possible aïllar el carbamat esperat **25** (**Esquema 67**).



Els resultats obtinguts indiquen que la transformació de tipus transesterificació no va tenir lloc i, en el seu lloc, es recupera el 2-naftol (**66**) i **86**, a més del derivat tiofènic **63** procedent de la hidròlisi del carbamat **86**.

3.2.15. Preparació d'*N*-(6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-*c*]piridin-2-il)benzo[*b*][1,4]dioxina-2-carboxamida (**26**)

La ciano-amida **26** es va obtenir mitjançant l'acilació de la ciano-amina **63** amb el clorur de l'àcid 1,4-benzodioxin-2-carboxílic en condicions clàssiques (Et_3N , CH_2Cl_2). El clorur de l'àcid carboxílic **87** es prepara *in situ* per tractament de l'àcid 1,4-benzodioxin-2-carboxílic (**88**) amb un excés de clorur de tionil (**Esquema 68**).



En aquestes condicions s'obté **26** amb un rendiment global de les dues etapes del 29%.

Dos senyals importants a l'espectre d'RMN- ^1H ens permeten confirmar la formació de **26**. Es tracta d'un singulet a 2,22 ppm, assignable al grup $\text{CH}_3\text{-CO-}$ i d'un singulet a 6,65 ppm, atribuïble al protó de la posició 3 del nucli benzodioxínic (**Figura 47**).

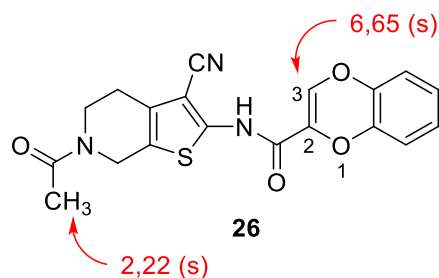
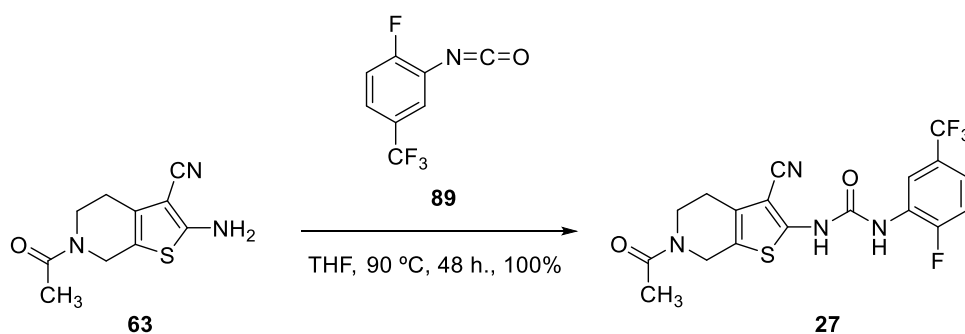


Figura 47. Dades d'RMN-¹H de 26

3.2.16. Preparació d'1-(6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridin-2-il)-3-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea (27)

A partir de la ciano-amina **63** i del 2-fluoro-5-trifluorometilfenilisocianat (**89**), sotmesos a agitació a temperatura ambient, s'obté la urea **27** amb un 100% de rendiment (**Esquema 69**).



Esquema 69

A l'espectre d'RMN-¹H apareixen un singlet a 2,10 ppm, atribuïble al grup CH₃-CO-, un multiplet a 7,48-7,55 ppm, assignable als protons de les posicions 3' i 4' i un singlet a 8,56 ppm, que correspon al protó de la posició 6' (**Figura 48**).

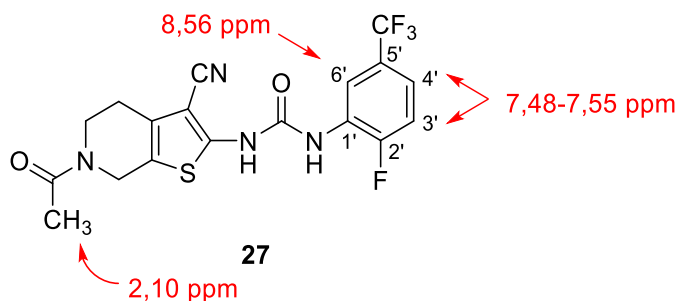
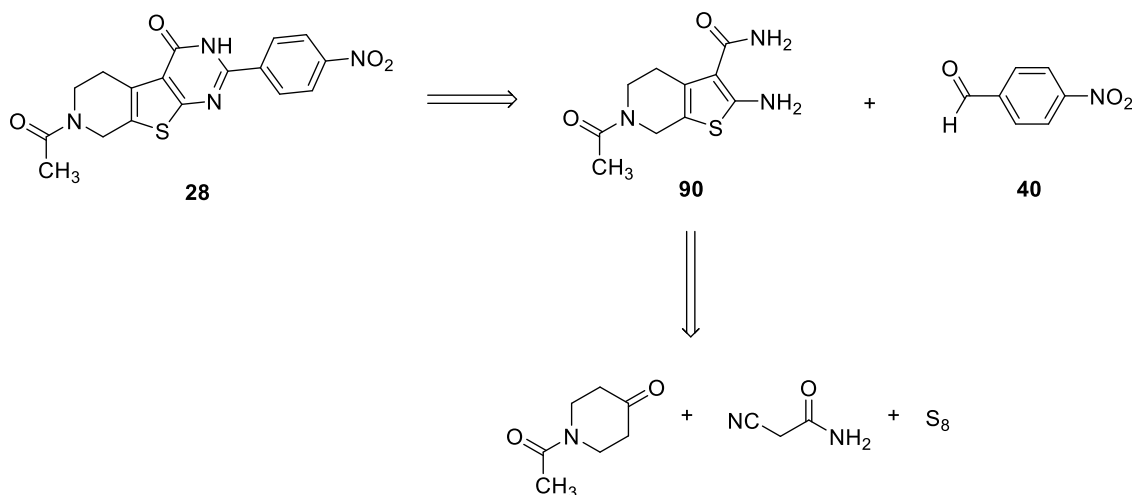


Figura 48. Dades d'RMN-¹H de la urea 27

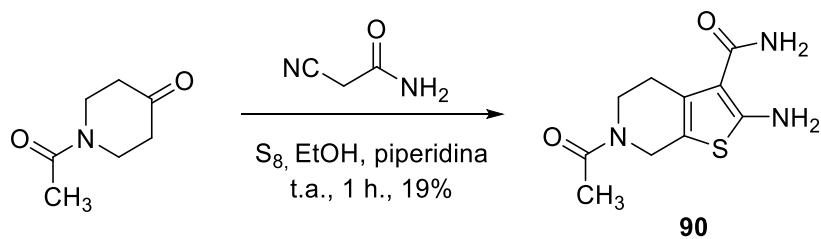
3.2.17. Preparació de 7-acetil-2-(4-nitrofenil)-5,6,7,8-tetrahidropirido[4',3':4,5]tieno[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona (**28**)

La síntesi del derivat tricíclic **28** es va plantejar d'acord a l'anàlisi retrosintètica indicada a l'**Esquema 70**.



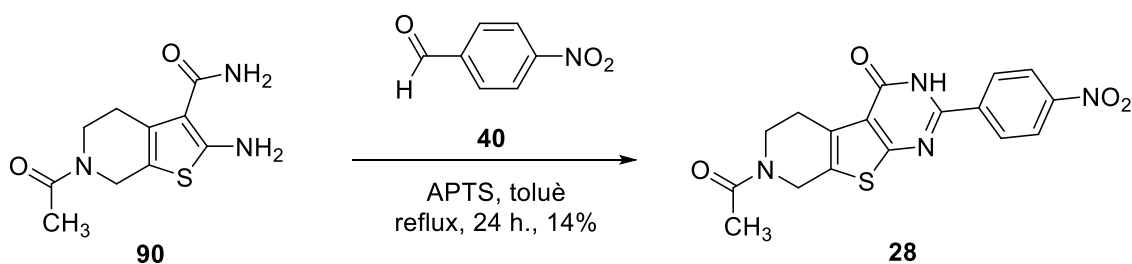
Esquema 70

En primer lloc, es va procedir a la preparació de l'amida **90** mitjançant una reacció multicomponent que conté l'*N*-acetilpiperidona, la cianoacetamida i sofre ròmbic, seguint les condicions posades a punt i indicades anteriorment en aquest mateix treball, apartat 3.2. (**Esquema 71**).

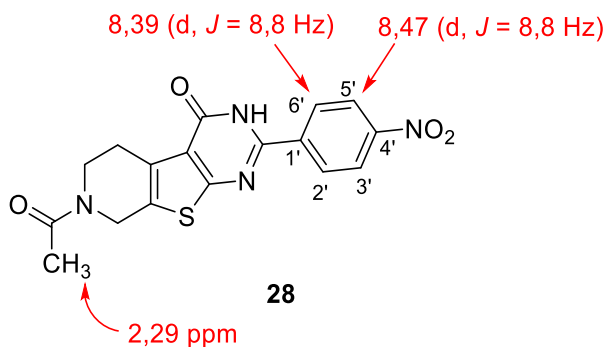


Esquema 71

A continuació, es realitza la condensació de l'aminoamida **90** amb el *p*-nitrobenzaldehid (**40**), en presència d'APTS i a reflux de toluè durant 24 hores. En aquestes condicions s'obté directament **28**, procedent de la condensació i seguit d'oxidació (**Esquema 72**).

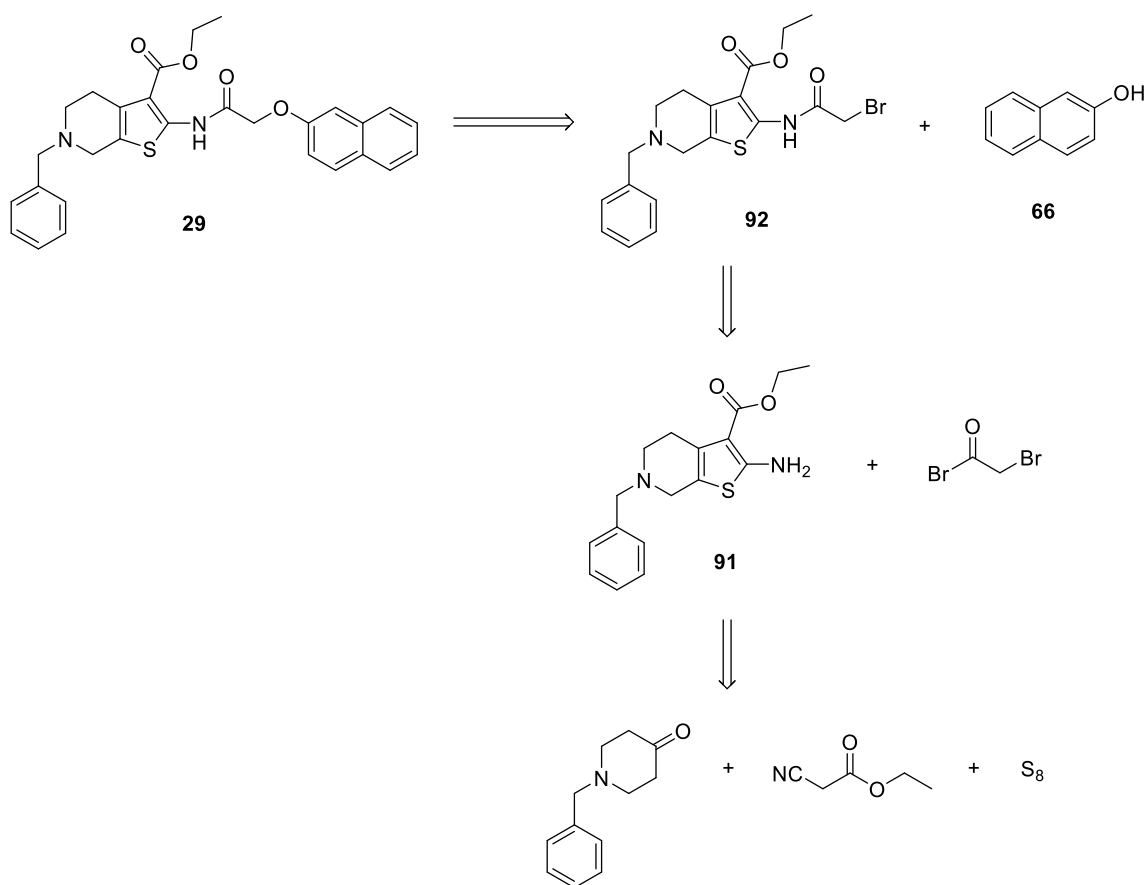


A l'espectre d'RMN-¹H apareixen dos doblets a 8,39 i a 8,47, assignables als protons de les posicions 2'/6' i 3'/5' i un singlet a 2,29 ppm, atribuïble al grup CH₃-CO-, que posen de manifest la incorporació del nitrofenil a l'amino-amida per proporcionar el compost tricíclic **28** (Figura 49).

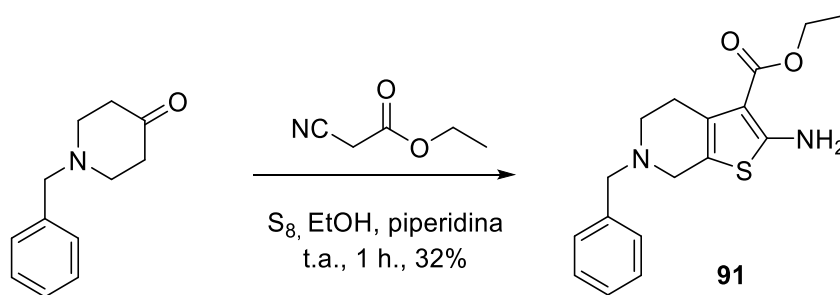


3.2.18. Preparació de 6-benzil-2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carboxilat d'etil (29)

La síntesi plantejada per a la preparació de l'èster etílic **29** s'indica a continuació (Esquema 73).

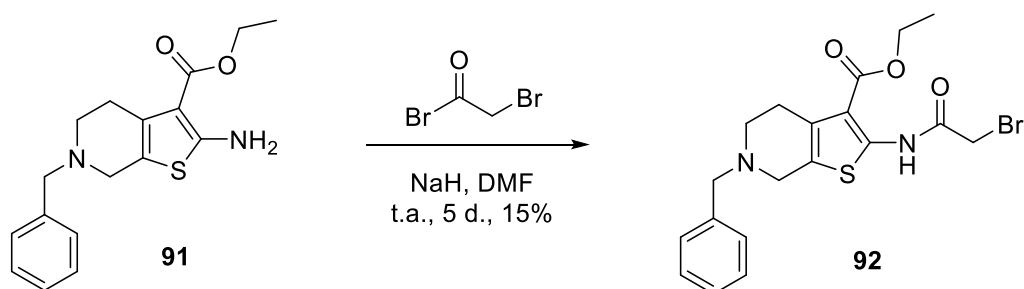


Seguint les condicions esmentades a l'apartat 3.2. (**Esquema 30**) es va aconseguir la preparació de l'aminoèster **91** per condensació de l'*N*-benzilpiperidona amb el cianoacetat d'etil i el sofre ròmbic (**Esquema 74**).



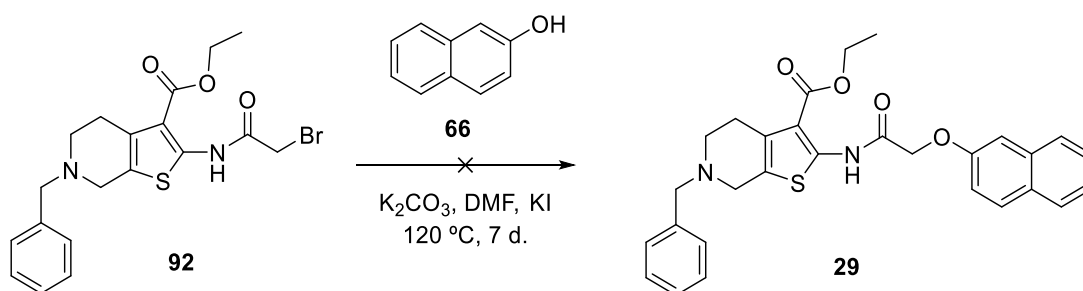
Tal i com s'ha esmentat en aquesta memòria, en aquest treball s'han preparat d'altres derivats tiofènics i s'han obtingut amb rendiments excel·lents, en canvi, en aquest cas s'obté només un 32% de rendiment. L'*N*-benzilpiperidona de partida presenta una amina terciària que degut al caràcter bàsic dificulta la reacció, mentre que en els altres casos estudiats, o bé es partia de la ciclohexanona o bé de l'*N*-acetilpiperidona, reactius amb menys incompatibilitats.

Amb l'èster **91** es va procedir a l'acilació amb el bromur de bromoacetil, en el si de DMF i en presència d'NaH com a base (**Esquema 75**). En aquestes condicions es va accedir a la bromo-amida **92** amb un 15% de rendiment.



Esquema 75

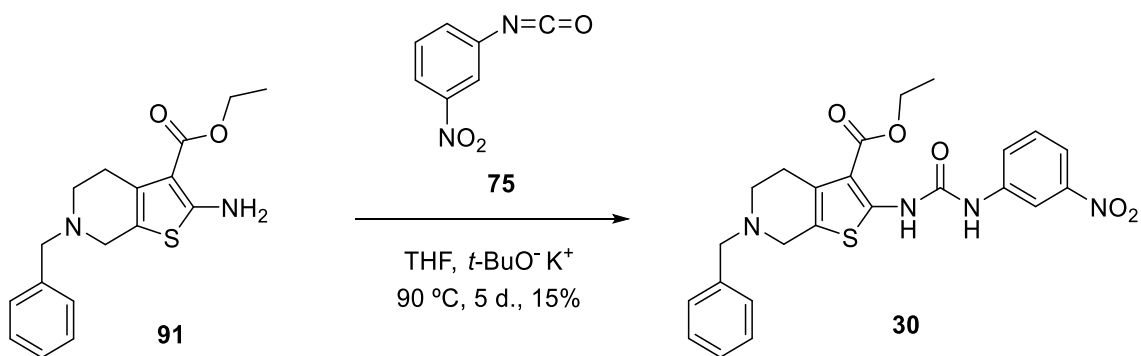
A continuació, es va assajar l'alquilació del 2-naftol amb la bromo-amida **96** en el si de DMF i en presència de K₂CO₃ i de KI, però després de set dies d'escalfar la mescla de reacció a 120 °C, no es va detectar l'amida **29** esperada (**Esquema 76**).



Esquema 76

3.2.19. Preparació de 6-benzil-2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carboxilat d'etil (**30**)

La urea **30** es va obtenir per tractament de l'amino-èster **91** amb el 3-nitrofenilisocianat (**75**), en el si de THF i en presència de *t*-BuOK. Seguint les condicions indicades s'obté la urea **30** amb un 15% de rendiment (**Esquema 77**).



Esquema 77

A l'espectre d'RMN-¹H apareixen senyals que posen de manifest l'estructura proposada per a la urea **30**. D'entre elles cal destacar els singulets a 3,40, 3,67 i 8,23 ppm, assignables als protons de la posició benzílica, del C-7 i del C-2', respectivament (**Figura 50**).

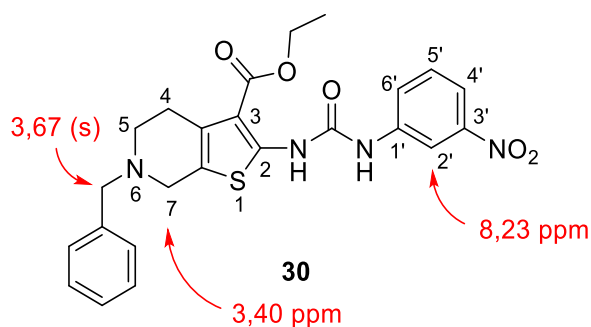
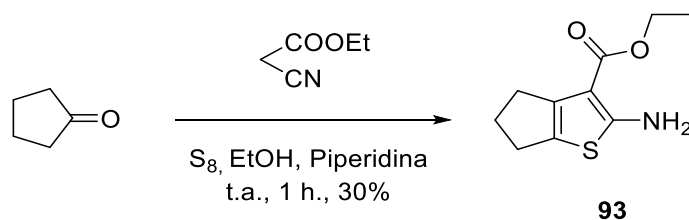


Figura 50. Dades d'RMN-¹H de **30**

3.2.20. Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-5,6-dihidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (**31**)

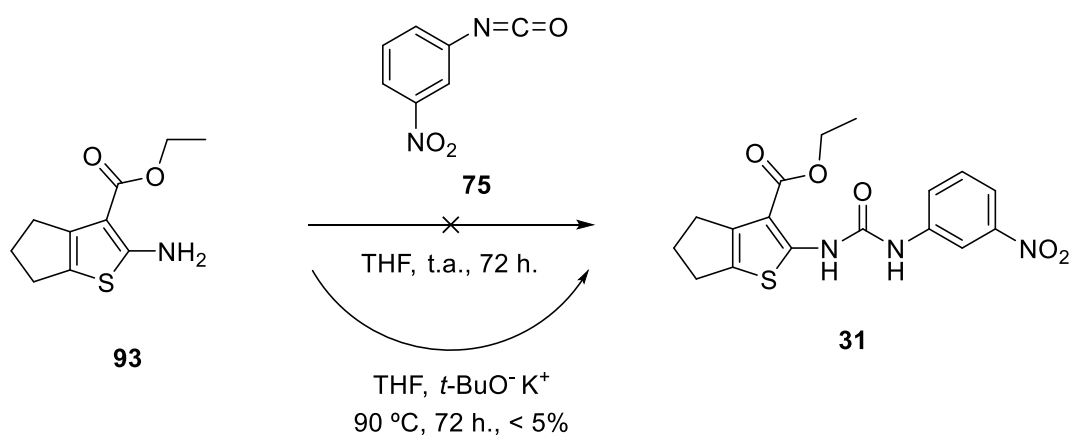
En primer lloc, es va procedir a la preparació de l'amino-èster **93**, seguint el procediment posat a punt en aquest treball i indicat a l'apartat 3.2. (**Esquema 78**).



Esquema 78

Es parteix de la ciclopentanona, el cianoacetat d'etil i el sofre ròmbic, que condueixen a l'amino-èster **93** amb un 30% de rendiment.

Tot seguit, es va procedir a la condensació de l'amino-èster **93** amb el 3-nitrofenilisocianat (**75**) i es varen assajar dues condicions diferents. En primer lloc, es va mantenir en agitació a temperatura ambient la mescla de **75** i **93**, en el si de THF, i no es va detectar la presència de la urea **31**. Alternativament, es va repetir la reacció addicionant-hi *t*-BuOK i es va aconseguir aïllar el producte desitjat amb rendiments inferiors al 5% (**Esquema 79**).



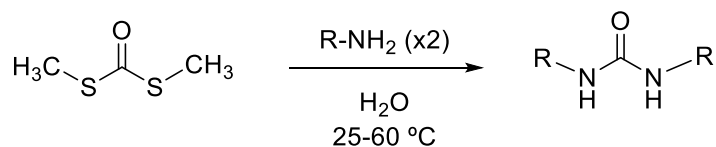
Esquema 79

3.3. Preparació de les urees 32-38

3.3.1. Antecedents bibliogràfics

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

Urees simètriques:¹⁴² A partir d'*S,S*-dimetilditiocarbonat i la corresponent amina (**Esquema 80**).

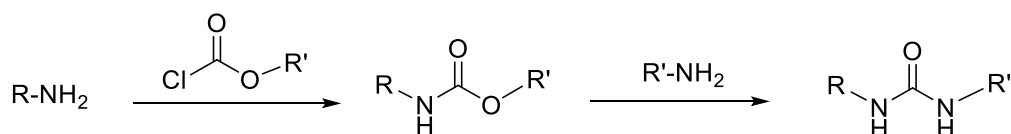


Esquema 80

¹⁴² E. Artuso; I. Degani; R. Fochi; C. Magistris. *Synthesis* **2007**, 3497-3506

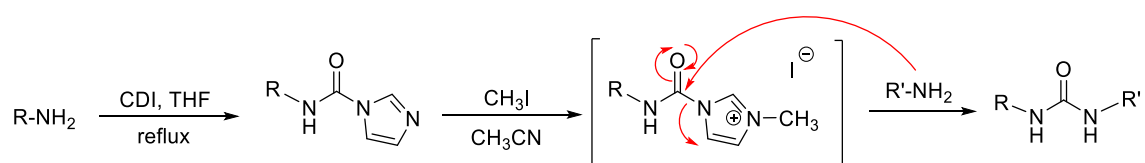
Urees no simètriques:

- Amb cloroformiats¹⁴³ (**Esquema 81**).



Esquema 81

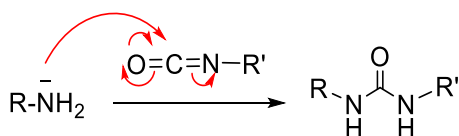
- Amb sals de carbamoilimidazoli¹⁴⁴ (**Esquema 82**).



Esquema 82

Per reacció de l'amina amb el carbonildiimidazole s'obté el corresponent *N*-(aminocarbonyl)imidazole que, posteriorment i per tractament amb iodur de metil, es converteix en iodur de carbamoilimidazoli. L'esmentada sal pot ser tractada amb una altra amina per conduir a la corresponent urea.

- Amb isocianat¹⁴⁵ (**Esquema 83**).



Esquema 83

L'addició d'amines a isocianats condueix a urees. Aquest, constitueix un dels millors mètodes per a la preparació d'urees donat que permet la síntesi d'urees en una sola etapa, en períodes curts de temps i només amb agitació a temperatura ambient. S'utilitzen diferents dissolvents com DMSO,¹⁴⁶ èter dietílic o THF.

¹⁴³ C. Han; J. A. Porco. *Org. Lett.* **2007**, 9, 1517-1520

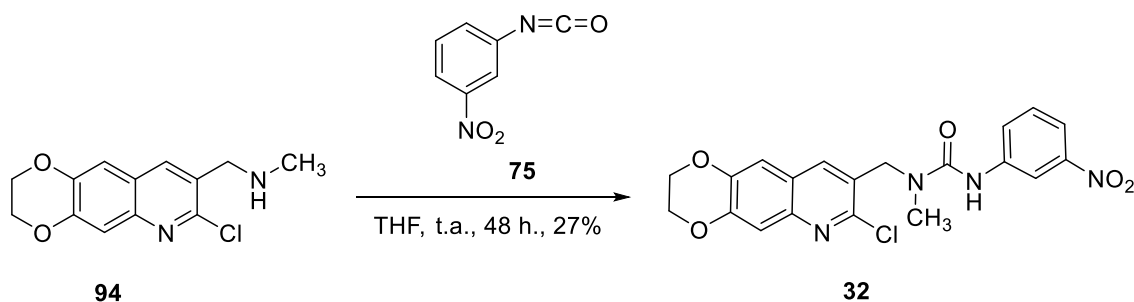
¹⁴⁴ a) J. A. Grzyb; R. A. Batey. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 5279-5282; b) M. B. Bertrand; J. P. Wolfe. *Tetrahedron* **2005**, 61, 6447-6459

¹⁴⁵ a) D. P. N. Satchell; R. S. Satchell. *Chem. Soc. Rev.* **1975**, 4, 231; b) E. A. Castro; R. B. Moodie; P. J. Sanson. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1985**, 737

¹⁴⁶ 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

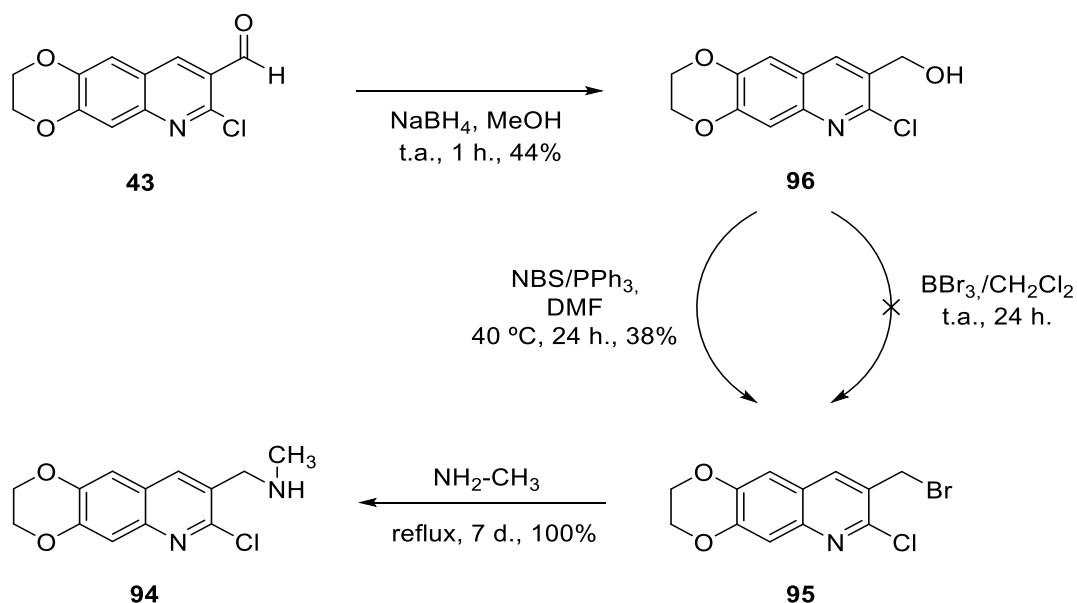
3.3.2. Preparació d'1-((7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolin-8-il)metil)-1-metil-3-(3-nitrofenil)urea (32)

Tal com s'ha esmentat anteriorment, l'addició d'amines i anilines a isocianats condueix a les corresponents urees. En aquest cas, l'addició de la metilamina **94** a l'isocianat **75**, en el si de THF i a temperatura ambient, condueix a la urea **32** amb un 27% de rendiment (**Esquema 84**).



Esquema 84

La metilamina **94** es va preparar a partir de l'aldehid **43** en 3 etapes tal com s'indica a continuació (**Esquema 85**).



Esquema 85

En primer lloc, la reducció de l'aldehid **43** amb NaBH_4 , en el si de metanol, condueix a l'alcohol corresponent amb un 44% de rendiment. A continuació, la transformació de l'alcohol intermediari **96** en el bromur d'alquil **95** es duu a terme per tractament de l'esmentat alcohol amb NBS i $\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$, obtenint-se amb un 38% el bromur d'alquil esperat. Cal indicar que la utilització de BBr_3 en aquesta transformació, no va permetre

la formació del bromo-derivat esperat. Aquest mètode general d'halogenació va ser descrit per Poirier i col. i aplicat a diferents tipus d'alcohols.¹⁴⁷ La tercera etapa implica l'aminació de **95** per substitució nucleòfila. En el nostre cas, es va emprar metilamina del 40% en aigua a reflux i es va obtenir l'amina esperada **94** amb rendiments quantitius (100%).

Les dades espectrals d'RMN-¹H a 4,30-4,33 (m, 4H, CH₂-O-), singulet a 4,52 (CH₂-N-) i singulet a 8,08 ppm, atribuïble al protó de la posició C-2', juntament amb d'altres dades analítiques, permeten confirmar l'estructura proposada per a la urea **32** (**Figura 51**).

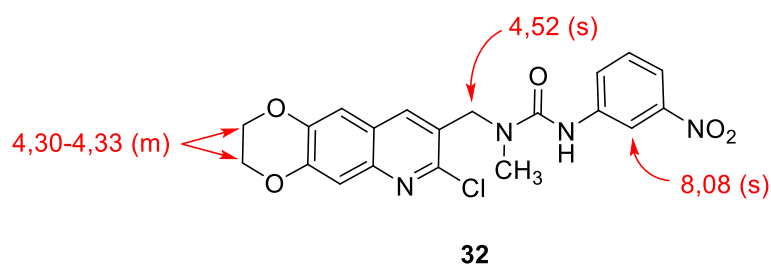
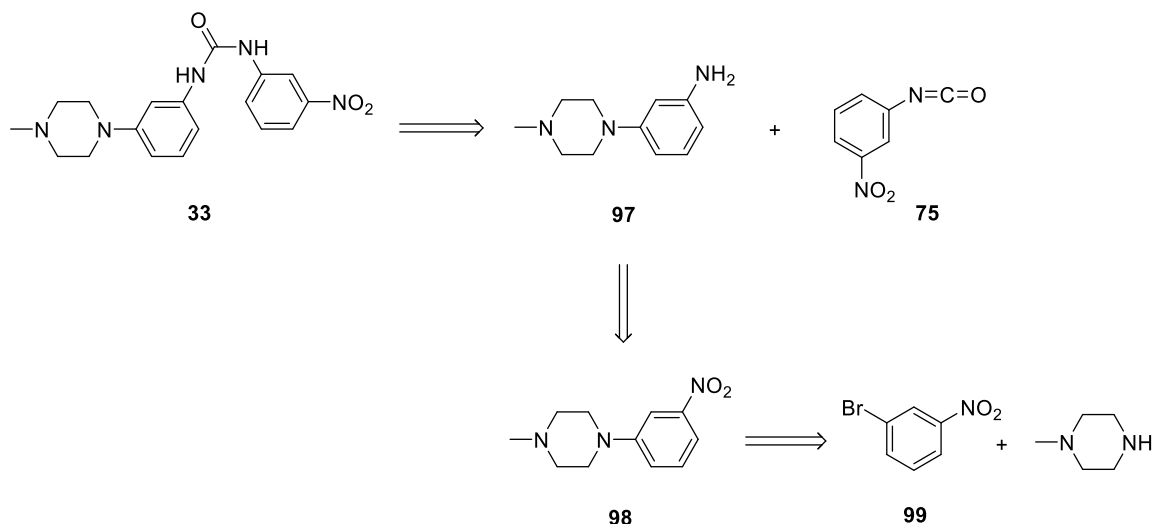


Figura 51. Dades d'RMN-¹H per a la urea **32**

3.3.3. Preparació d'1-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)-3-(3-nitrofenil)urea (**33**)

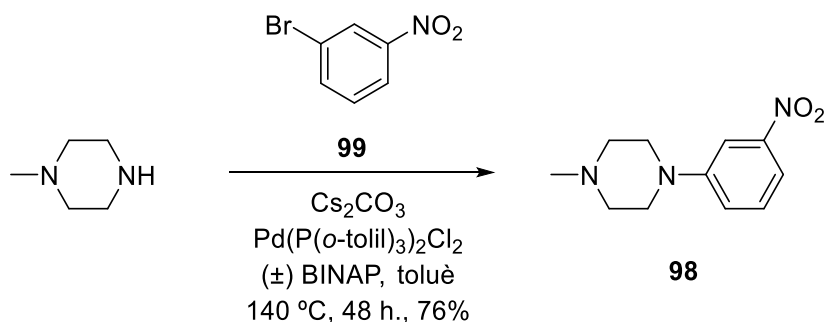
Per a la síntesi de la urea **33** es va plantejar la següent anàlisi retrosintètica indicada a l'**Esquema 86**.



L'*N*-arilació de l'*N*-metilpiperazina amb el 3-bromonitrobenzè (**99**), emprant condicions d'acoblament creuat com són Pd(P(*o*-tolil)₃)₂Cl₂ com a catalitzador, (±)-BINAP com a

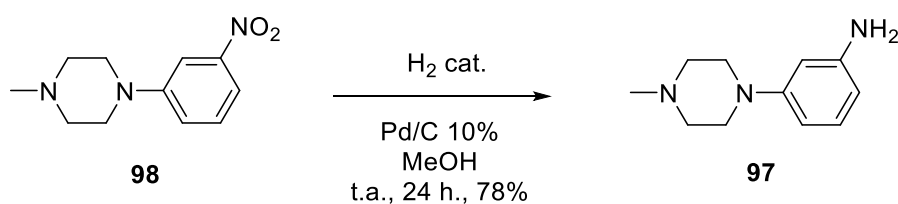
¹⁴⁷J. D. Pelletier, D. Poirier. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 1051-1054

l·ligand i Cs_2CO_3 com a base, en el si de toluè, condueix a la piperazina **98** amb un rendiment del 76% (**Esquema 87**).



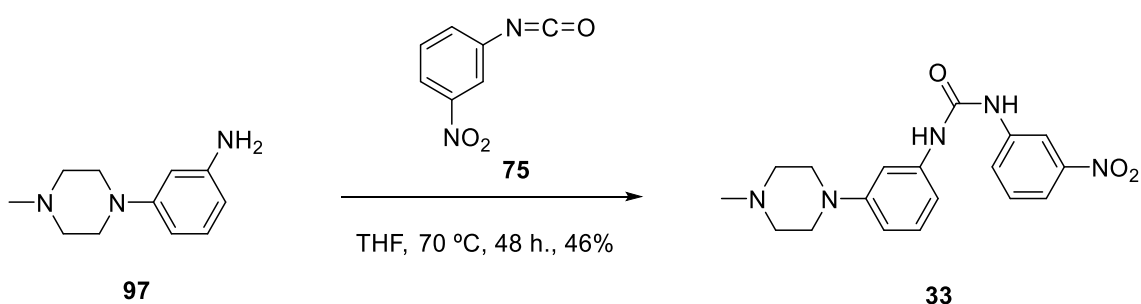
Esquema 87

La reducció de **98** mitjançant una hidrogenació catalítica a pressió atmosfèrica, emprant Pd-C com a catalitzador, condueix a l'anilina **97** amb un 78% de rendiment (**Esquema 88**).



Esquema 88

Finalment, l'addició de l'anilina **97** al 3-nitrofenilisocianat (**75**) condueix a la urea **33** amb un 46% de rendiment (**Esquema 89**).



Esquema 89

En aquest cas, la presència d'un singlet a 2,29 ($\text{CH}_2\text{-N-}$) i un altre a 8,09 (corresponent al CH de la posició *orto* del nitrobenzè) en l'espectre d'RMN- ^1H ens permeten confirmar l'estructura proposada per a la urea **33** (**Figura 52**).

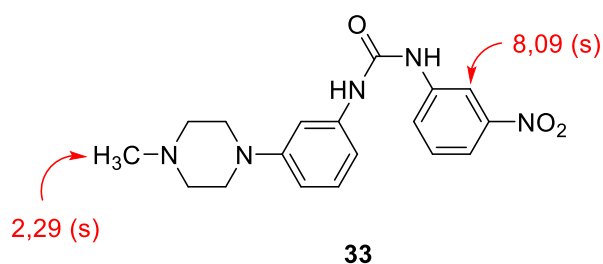
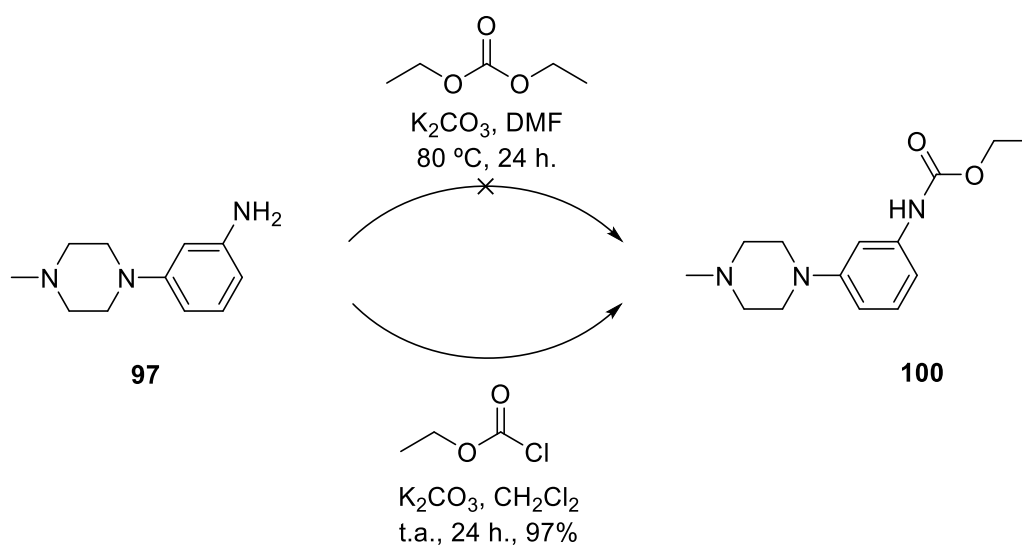


Figura 52. Dades d'RMN-¹H per a la urea **33**

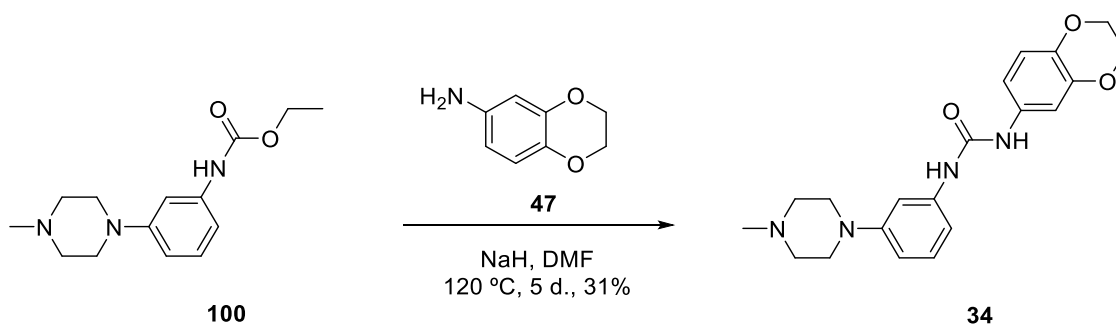
3.3.4. Preparació d'1-(2,3-dihidrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-il)-3-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)urea (**34**)

Per a la preparació de la urea **34** es va partir de la piperazina **97**, que va ser acilada per tractament amb el cloroformat d'etil, en presència de K₂CO₃ i en el si de CH₂Cl₂. En aquestes condicions s'obté el carbamat **100** amb un 97% de rendiment. Assajos previs emprant carbonat de dietil, en el si de DMF, no varen permetre l'obtenció del carbamat esperat **100** (**Esquema 90**).



Esquema 90

Posteriorment, el carbamat **100** es fa reaccionar amb la 1,4-benzodioxà-6-amina (**47**), en medi bàsic i en el si de DMF. Sota aquestes condicions s'obté la urea **34** amb un 31% de rendiment (**Esquema 91**).



Esquema 91

Cal indicar que en aquest cas, s'ha preparat la urea amb una metodologia diferent a l'habitual, que consistia en l'addició d'una amina o anilina al corresponent isocianat. En aquest cas, s'ha dut a terme la síntesi de la urea mitjançant una reacció d'addició-eliminació de l'anilina **47** sobre el carbamat **100**.

A l'espectre d'RMN-¹H apareixen senyals com el singlet a 2,37 (N-CH₃), els triplets a 2,58 (CH₂-N (x2)) i a 3,18 (CH₂-N (x2)), i el singlet a 4,21 ppm (CH₂-O (x2)) que ens faciliten la determinació de l'estructura de la urea **34** proposada (**Figura 53**).

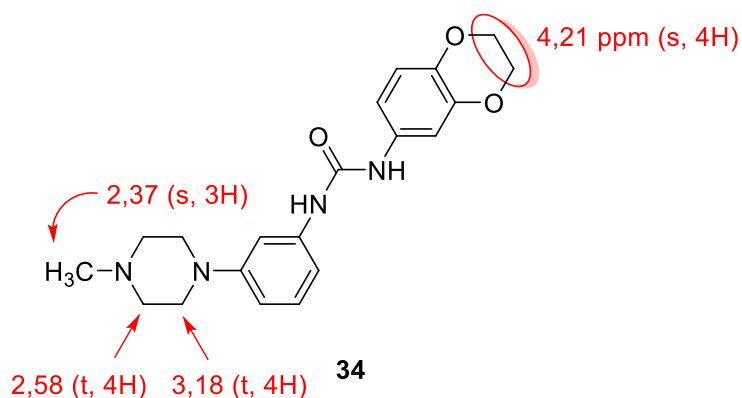
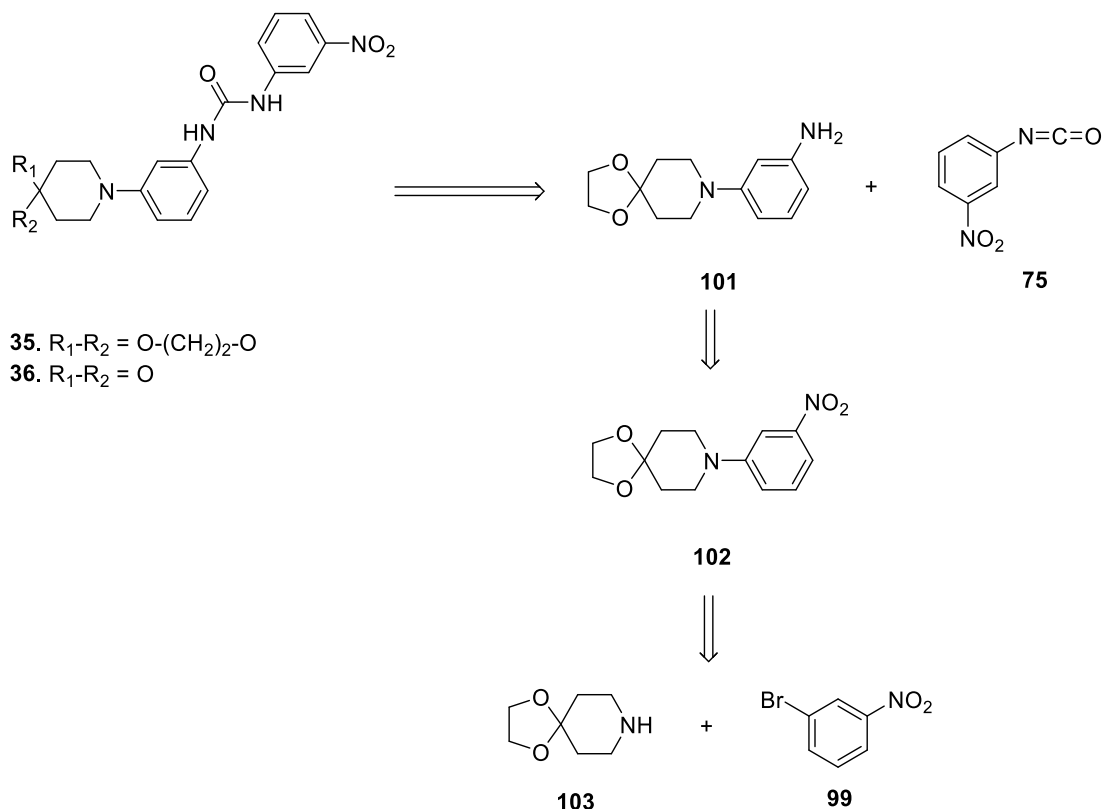


Figura 53. Dades d'RMN-¹H de la urea **34**

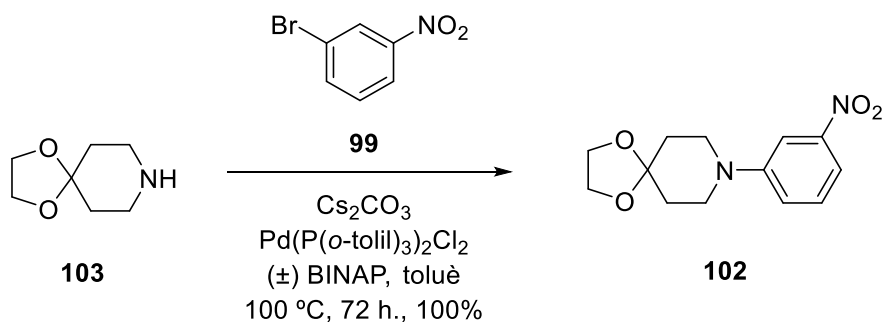
3.3.5. Preparació d'1-(3-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-3-(3-nitrofenil) urea (**35**) i 1-(3-nitrofenil)-3-(3-(4-oxopiperidin-1-il)fenil)urea (**36**)

Per a la preparació de les urees **35** i **36** es va plantejar la següent anàlisi retrosintètica detallada a l'**Esquema 92**.



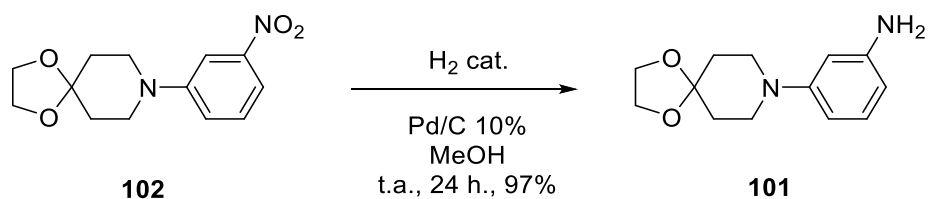
Esquema 92

El primer pas de la ruta sintètica consisteix en la condensació de la piperidina **103** amb el 3-bromonitrobenzè (**99**), emprant les condicions descrites anteriorment en aquest treball, Pd(P(*o*-tolil)₃)₂Cl₂, (±)-BINAP, Cs₂CO₃ i toluè. Es va obtenir el derivat *N*-arilat **102** amb excel·lent rendiment (100%) (**Esquema 93**).



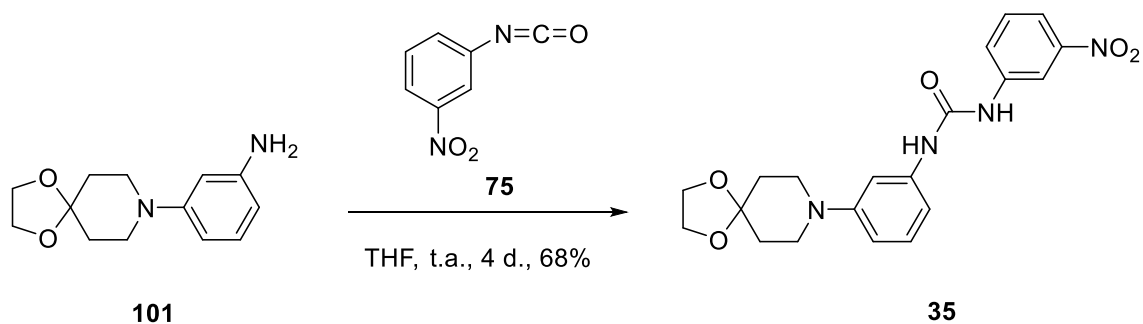
Esquema 93

Tot seguit, es duu a terme la reducció del nitro-derivat **102** a la corresponent anilina **101** mitjançant una hidrogenació catalítica i emprant Pd-C com a catalitzador. Així s'obté el producte esperat amb un 97% de rendiment (**Esquema 94**).



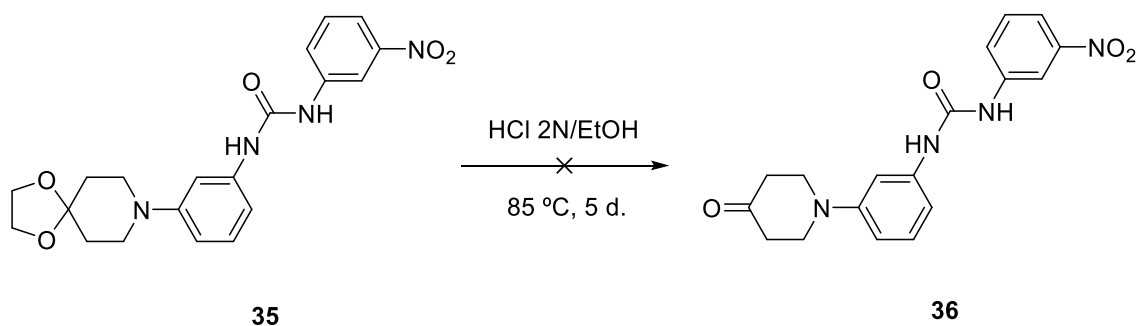
Esquema 94

Una vegada obtinguda l'anilina **101**, aquesta s'addiciona a l'isocianat **75** i, sota agitació i en el si de THF, condueix a la urea **35** amb un 68% de rendiment (**Esquema 95**).



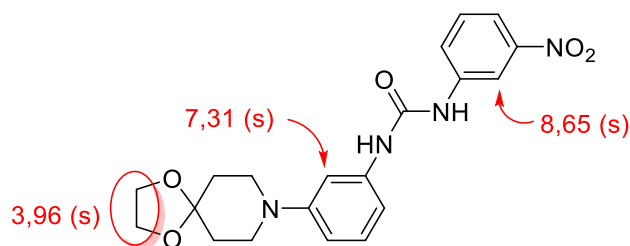
Esquema 95

La següent etapa consisteix en la hidròlisi de l'acetal **35**. Es va emprar una mescla d'HCl 2N i etanol 8:2, però després de més de 5 dies d'agitació a 85 °C, no es detecta la piperidona *N*-arilada **36** tal com s'esperava, sinó que s'obté el producte de partida (**Esquema 96**).



Esquema 96

Els tres singulets a 3,96, 7,31 i 8,65 ppm, que apareixen a l'espectre d'RMN-¹H, permeten confirmar l'estructura proposada per a la urea **35** (**Figura 54**).

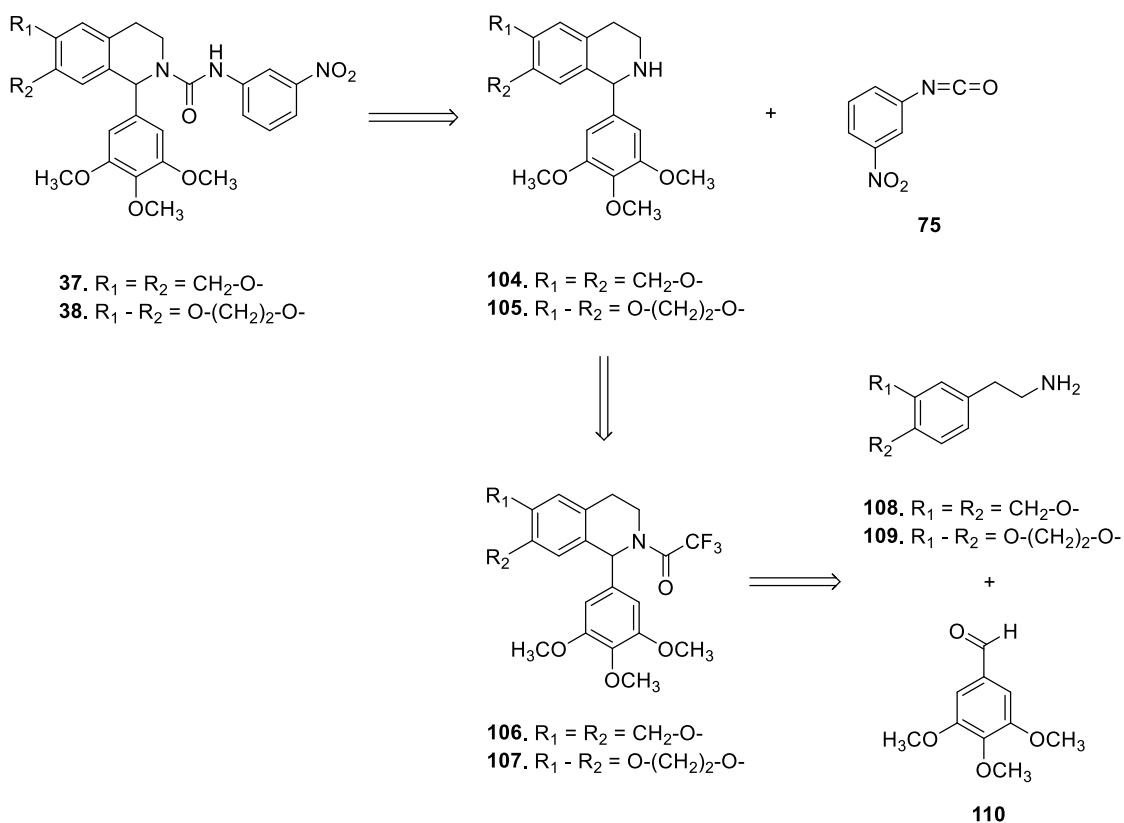


35

Figura 54. Dades d'RMN-¹H de la urea 35

3.3.6. Preparació de 6,7-dimetoxi-*N*-(3-nitrofenil)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina-2(1*H*)-carboxamida (37) i d'*N*-(3-nitrofenil)-6-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,3,8,9-tetrahidro-[1,4]dioxino[2,3-*g*]isoquinolina-7(6*H*)-carboxamida (38)

Per al disseny de la síntesi de les isoquinolines **37** i **38** es planteja la següent anàlisi de retrosíntesi descrita a continuació (**Esquema 97**).



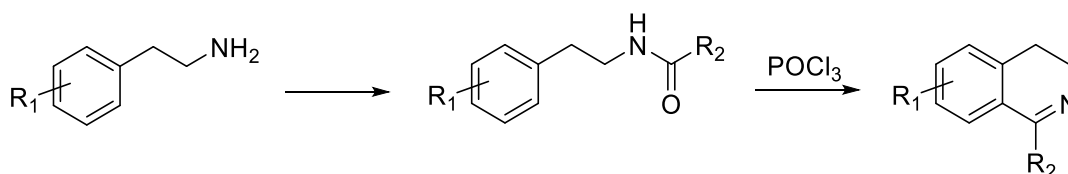
Esquema 97

Degut a l'activitat biològica i al gran valor com intermediaris sintètics, la família de les isoquinolines ha rebut un interès destacable.^{148,149}

S'han publicat diferents rutes sintètiques per a la seva preparació, encara que es prefereixen aquelles que permeten construir l'esquelet de la tetrahydroisoquinolina amb el menor número d'etapes.¹⁵⁰

Aquest sistema heterocíclic forma part de compostos antitumorals associats amb la topoisomerasa II¹⁵¹ i també inhibidors de la topoisomerasa I.¹⁵²

Es coneixen diversos mètodes clàssics per a la preparació d'isoquinolines, molts d'ells consisteixen en una ciclació intramolecular per substitució electròfila aromàtica. La més coneguda és la reacció de Bischler Napieralski, seguida de la reducció de la imina resultant (**Esquema 98**).^{153,154}



Esquema 98

Anteriorment en el nostre grup de recerca es va posar a punt una metodologia per accedir directament a les tetrahydroisoquinolines.¹⁵⁵

Las fenetilaminas **108** i **109** es tracten amb 3,4,5-trimetoxibenzaldehid (**110**) en condicions clàssiques per a la formació d'imines intermediàries, que per ciclació intramolecular, condueixen a les *N*-trifluoroacetiltetrahydroisoquinolines **106** i **107** (**Esquema 99**).

¹⁴⁸ J. E. Van Muijlwijk-Koezen, H. Timmerman, R. Link, A. Ijzerman, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3987-3993

¹⁴⁹ Q. Zeng, Y. Kwok, S. M. Kerwin, V. Mangold, L. H. Hurley. *J. Med. Chem.* **1988**, *41*, 4273-4278

¹⁵⁰ D. Fischer, H. Tomeba, N. K. Pahadi, N. T. Patil, Y. Yamamoto. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng* **2007**, *46*, 4764-4766

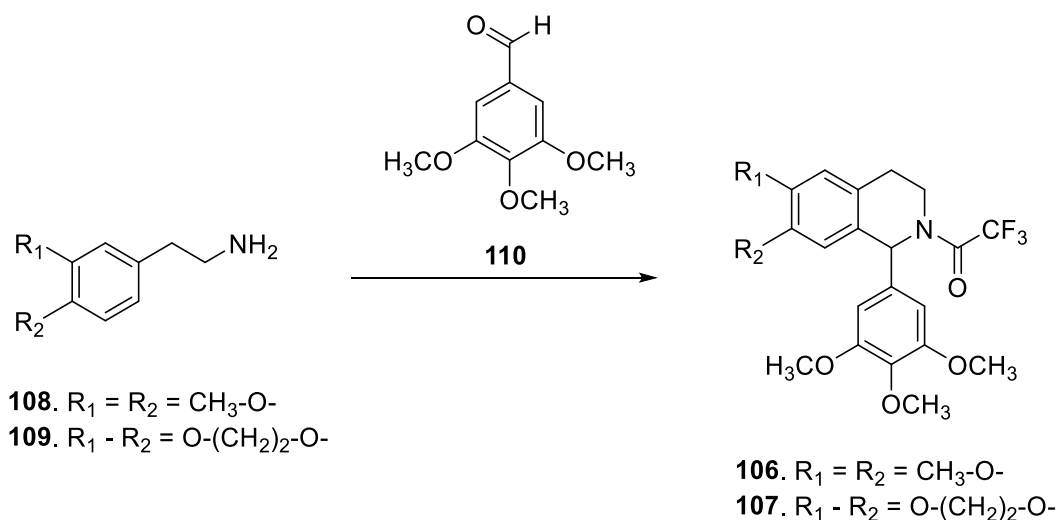
¹⁵¹ E. van Quaquebeke, T. Mahieu, P. Dumont, J. Dewelle, F. Ribaucour, G. Simon, S. Sauvage, J. F. Gaussin, J. Tuti, M. El Yazidi, F. Van Vynckt, T. Mijatovic, F. Lefranc, F. Darro, R. Kiss. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4122-4134

¹⁵² W. J. Cho, Q. M. Le, H. T. M. Van, K. Y. Lee, B. Y. Kang, E. S. Lee, S. K. Lee, Y. Kwon. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3531-3534

¹⁵³ R. D. Larsen, R. A. Reamer, E. G. Corley, P. Davis, E. J. J. Grabowski, P. J. Reider, I. Shinkai. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6034-6038

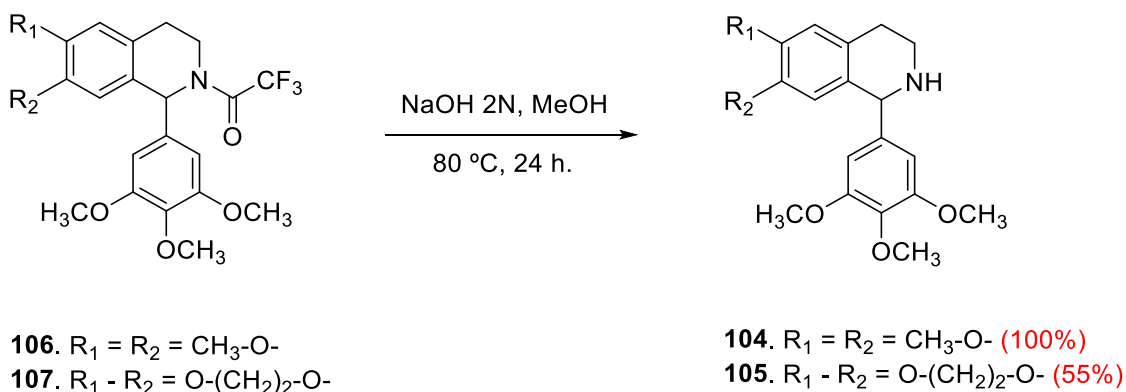
¹⁵⁴ J. J. Li. *Name Reactions: a collection of detailed mechanism and synthetic applications*, Springer International, Switzerland. **2014**, 56-58

¹⁵⁵ A. S. Capilla, M. Romero, M. D. Pujol, D. H. Caignard, P. Renard. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8297-8303



Esquema 99

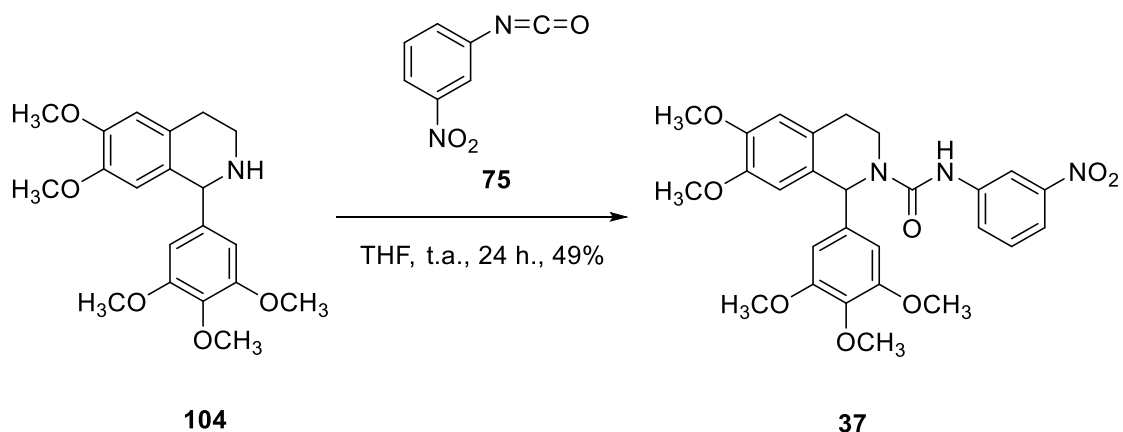
A continuació, es duu a terme la hidròlisi de les acetamides **106** i **107** amb NaOH 2N i a temperatura ambient, amb rendiments del 100% i 55%, respectivament (**Esquema 100**).



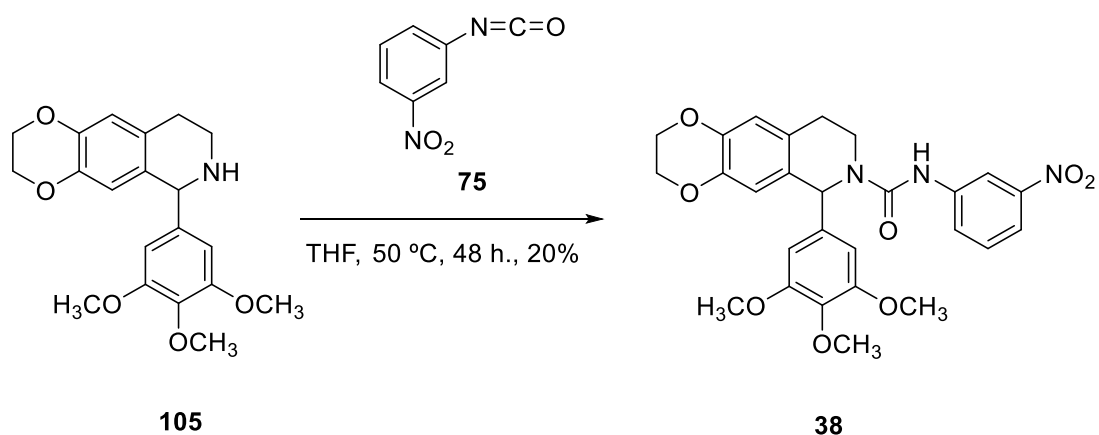
Esquema 100

En ambdós casos s'han preparat les isoquinolines racèmiques. Depenent dels resultats biològics d'aquests compostos es plantejarà la preparació enantioselectiva dels corresponents enantiòmers o bé es procedirà a la resolució del racemat.

A continuació, les isoquinolines **104** i **105** s'addicionen, per separat, al 3-nitrofenilisocianat **75** que, en el si de THF, condueix a les urees **37** i **38** amb rendiments del 49 i del 20%, respectivament (**Esquema 101** i **Esquema 102**).



Esquema 101



Esquema 102

Entre d'altres senyals d'RMN-¹H, els singlets a 6,46 i a 8,21 ppm, assignables als protons de les posicions 2'/6' i 2'' per a **37** i a 6,53 per 2'/6' i a 8,18 per al protó de la posició 2'' per a **38**, permeten confirmar les estructures proposades per a les isoquinolines **37** i **38**, respectivament (**Figura 55**).

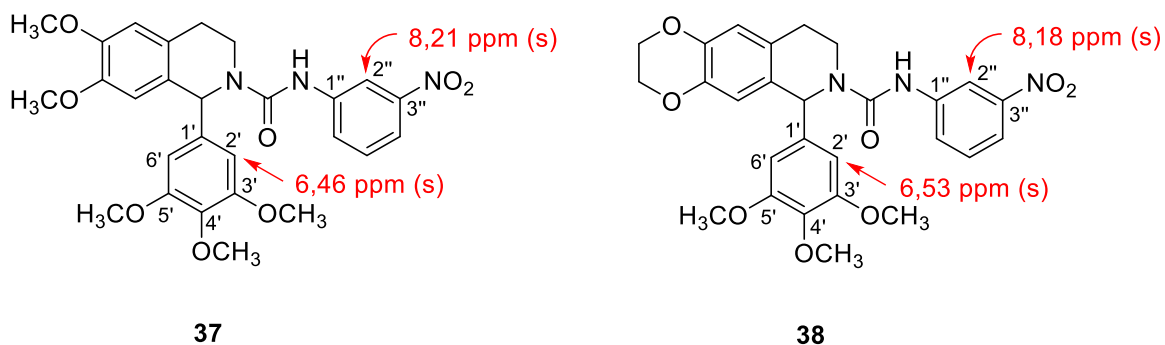


Figura 55. Dades d'RMN-¹H de les urees **37** i **38**

Els productes sintetitzats en aquest treball, correctament identificats i amb alt grau de puresa varen ser avaluats en diferents assajos per tal de determinar la seva activitat biològica.

3.4. Discussió dels resultats biològics

3.4.1. Resultats d'inhibició directa de G6PDH

L'activitat de la G6PDH és important pel creixement cel·lular i, canvis de la G6PDH, afecten al creixement de les cèl·lules. És per això que es coneixen diferents assajos biològics que permeten avaluar l'activitat d'aquest enzim.

És conegut que la *dihidroepiandrosterona* (DHEA) és un esteroide endogen que entre les múltiples accions que presenta és capaç d'inhibir la G6PDH i, per tant, també inhibeix el creixement cel·lular.^{156,157}

La DHEA inhibeix l'activitat de G6PDH amb $EC_{50} = 4 \mu\text{M}$ i de manera dosi-dependent, però no inhibeix la PGD, el segon enzim de la ruta PPP. En conseqüència, la DHEA inhibeix la incorporació de [³H] timidina estimulada pel factor de creixement.

La formació de la G6PDH basada en el plàsmid pkk 233-2, que conté l'ADNc humà de longitud completa que codifica la G6PDH normal, s'ha descrit anteriorment.¹⁵⁸ La G6PDH natural obtinguda es va purificar fins a l'homogeneïtat mitjançant cromatografia en 2',5'-ADP Sefarosa. La puresa de l'enzim purificat es confirma per SDS-PAGE.

L'activació de la G6PDH condueix a dos productes finals mesurables, l'NADPH i la ribosa-5-fosfat. La disminució d'aquests compostos comporta una disminució del creixement cel·lular. Igualment, un augment d'aquests compostos dona lloc a un increment de la proliferació cel·lular.

La ribosa-5-fosfat (R5-P) no passa la membrana cel·lular i això implica fer la incubació de les cèl·lules amb una combinació de 4 ribonucleòsids o desoxiribonucleòsids, que una vegada a l'interior de la cel·lular seran metabolitzats a R5-P.

Aquest procediment pot presentar problemes a l'hora de determinar ³H-timidina, donat que hi pot haver timidina no marcada que interfereixi l'avaluació.

¹⁵⁶ G. B. Gordon, L. M. Shantz, P. Talalay. *Adv. Enzyme. Regul.* **1987**, 26, 355-382

¹⁵⁷ G. B. Gordon, M. C. MacKow, H. R. Levy. *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, 318, 25-29

¹⁵⁸ J. M. Bautista, P. J. Mason, L. Luzzatto. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, 1119, 74-80

L'NADPH constitueix el producte crític de la ruta PPP, que es requereix pel creixement cel·lular. L'activació de la G6PDH i de PGD condueix a la producció d'NADPH, de manera que la inhibició de la G6PDH per la DHEA condueix a una disminució del nivell d'NADPH, i com a conseqüència, les cèl·lules són més susceptibles a patir estrès oxidatiu. Per avaluar la quantitat d'NADPH hi ha dos procediments descrits.

El primer mètode es basa en l'addició de DHEA, però resulta que DHEA és un inhibidor no competitiu de G6PDH, i a més, mostra un mecanisme no massa clar segons els autors de diferents treballs.¹⁵⁸ Fins i tot, podria ésser que la inhibició del creixement cel·lular que produeix DHEA sigui independent de la G6PDH.¹⁵⁹

Un altre mètode per a la determinació de la G6PDH consisteix en l'addició de G6PDH purificada a una cubeta que conté 0,5 mM d'NADP⁺ i 50 mM de Tris-HCl, pH = 7,6 a 37 °C de temperatura. La reacció s'inicia amb l'addició de glucosa-6-fosfat (Sigma-Aldrich, a una concentració de 2 mM). La reducció d'NADP⁺, que es directament proporcional a l'activitat de la G6PDH, es pot determinar per l'augment de l'absorbància a 340 nm.

Inhibició G6PDH

Tal i com es pot observar a la **Taula 13**, els compostos **12, 13, 16, 18, 24, 26, 27, 28** i **30** no han mostrat una inhibició de la G6PDH, mentre que el compost DHEA emprat com a model, a la concentració de 100 µM mostra el 46% d'inhibició de l'activitat de la G6PDH.

Taula 13. Determinació de la inhibició de la G6PDH a 100 µM

Compost	G6PDH+6PGD	6PGD	G6PDH	% inhibició (100 µM)
Control	258,22	51,5499	206,67	-
DHEA	162,57	51,7581	110,81	46,38
12	258,18	51,5305	206,65	0,001
13	257,32	53,0057	204,32	1,14
16	258,58	52,0561	206,52	0,07
18	258,60	51,6998	206,90	-0,11
24	260,56	52,1043	208,45	-0,86
26	259,53	51,3950	208,14	-0,71
27	262,30	57,2030	205,10	0,76
28	257,20	51,6889	205,51	0,56
30	257,49	52,3165	205,17	0,73

¹⁵⁹ G. Boccuzzi, M. Di Monaco, E. Brignardello, L. Leonardi, V. Gatto, A. Pizzini, M. Gallo. *Anticancer Res.* **1993**, 13, 2267-2272

Emprant 200 μM dels productes a assajar, els compostos **16**, **26** i **30** presenten una baixa inhibició, en canvi, DHEA presenta una inhibició superior a 200 μM que a 100 μM , indicant que es tracta d'un inhibidor dosi-depenent (**Taula 14**).

Taula 14. Determinació de la inhibició de la G6PDH a 200 μM

Compost	G6PDH+6PGD	6PGD	G6PDH	% inhibició (200 μM)
Control	259,03	51,5499	207,48	-
DHEA	75,59	51,7581	23,84	88,47
12	253,23	51,5305	201,70	2,41
13	250,41	53,0057	197,40	4,49
16	248,24	52,0561	196,18	5,08
18	253,84	51,6998	202,14	2,20
24	252,75	52,1043	200,64	2,92
26	242,14	51,3950	190,74	7,71
27	256,92	57,2030	199,72	3,36
28	249,50	51,6889	197,81	4,29
30	243,39	52,3165	191,08	7,55

La **Figura 56** engloba l'activitat inhibidora dels compostos assajats a les concentracions de 100 i 200 μM .

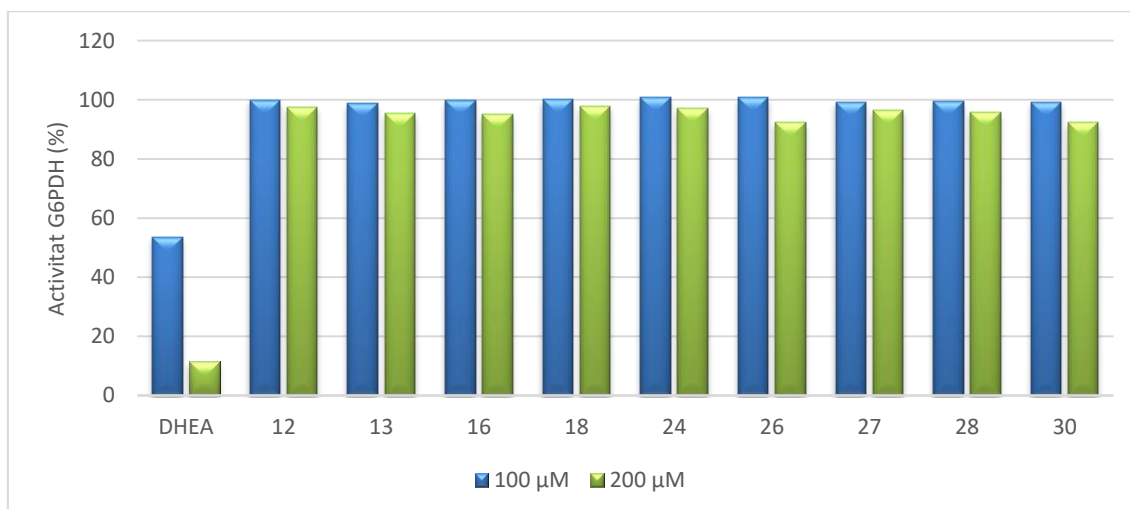


Figura 56. Activitat de la G6PDH, respecte al control, després del tractament amb els compostos **12**, **13**, **16**, **18**, **24**, **27**, **28** i **30** a les concentracions de 100 i 200 μM

A més, la DHEA és un inhibidor no competitiu de la G6PDH (**Figura 57**).

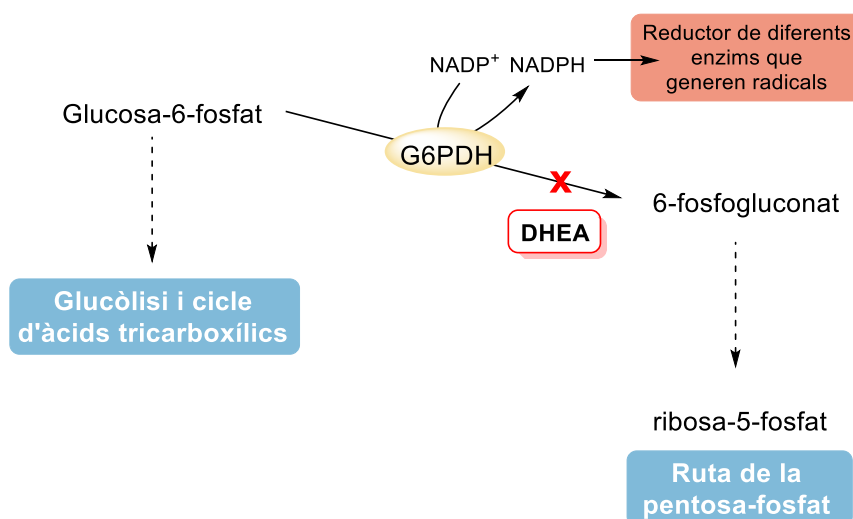


Figura 57. Inhibició de la G6PDH per DHEA

La inhibició de la G6PDH redueix la inflamació, hiperplàsies i carcinogènesis, en general es pot dir que la inhibició de la G6PDH redueix i retarda el desenvolupament de les malalties relacionades amb l'edat.¹⁶⁰ Olshansky i col. varen estimar que l'eliminació de les causes de malalties relacionades amb l'edat poden contribuir a que l'esperança de vida augmenti d'uns 15 anys.¹⁶¹ D'aquí bé l'interès de la recerca de nous inhibidors de la G6PDH humana que podrien ajudar en el tractament de malalties greus i, al mateix temps, contribuir a l'augment de l'esperança de vida.

També es va realitzar un assaig per avaluar la inhibició de la G6PDH a 100 µM però, en aquest cas, es va incubar durant 72 h amb els compostos. Els resultats mostren un augment de l'activitat inhibidora del compost **13** (49%), comparable a la del compost de referència DHEA (49% d'inhibició), que es manté tot i canviar les condicions. D'altra banda, s'observa com els compostos **12**, **16**, **18**, **24** i **28** potencien l'activitat de l'enzim. Els compostos **26**, **27** i **30** s'afecten molt i no es poden mesurar en aquest assaig (**Taula 15**, **Figura 58**).

Taula 15. Determinació de la inhibició de la G6PDH, prèviament incubada amb els compostos durant 72 h.

Compost	G6PDH+6PGD	6PGD	G6PDH	Proteïna	% inhibició (100 µM)
Control	331,34	61,6995	117,510	2,29	-

¹⁶⁰ A. G. Schwartz, L. L. Pashko. *Ageing Res. Rev.* **2004**, 3, 171-187

¹⁶¹ S. J. Olshansky, L. Hayflick, B. A. Carnes. *J. Gerontol. Biol. Sci.* **2002**, 57A, B292-B297

DHEA	165,30	51,2278	59,810	1,91	49,10
12	225,30	20,9780	209,61	0,97	-78,38
13	142,95	43,4912	59,510	1,67	49,36
16	156,91	16,3734	220,33	0,64	-87,50
18	302,43	34,4027	185,56	1,44	-57,92
24	145,31	22,4631	125,00	0,98	-6,38
26	-				Baixa viabilitat
27	-				Baixa viabilitat
28	201,73	30,3641	160,91	1,06	-36,93
30	-				Baixa viabilitat

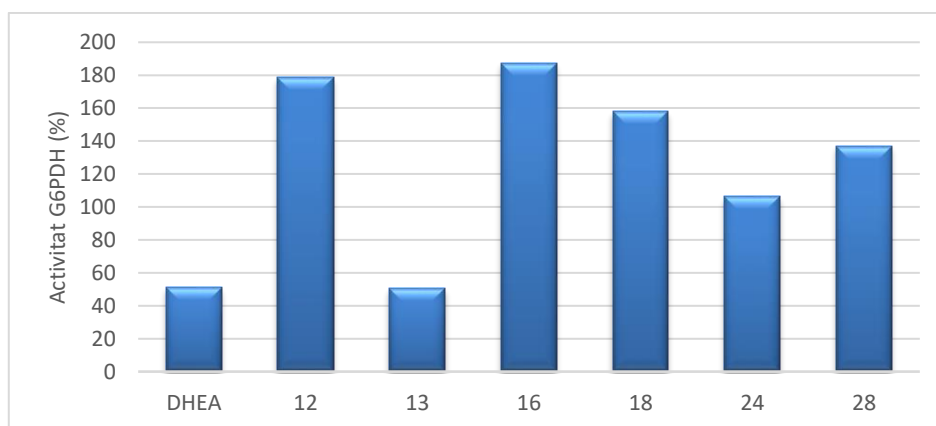


Figura 58. Activitat de la G6PDH, respecte el control, prèvia incubació durant 72 h. amb els compostos **12**, **13**, **16**, **18**, **24** i **28** a les concentracions de 100 μ M

Seguint amb el mateix assaig es va determinar l'activitat inhibidòria dels compostos **1**, **2**, **3**, **5**, **6**, **9**, **14**, **20**, **33**, **35**, **37**, **38**, **123**, **128**, **129** i **133** sobre la G6PDH i també sobre la 6PGD (6-fosfogluconat deshidrogenasa) (**Taula 16** i **Taula 17**).

Els compostos **1**, **9** i **38** han mostrat més inhibició de la 6PGD que de la G6PDH, a 100 μ M, però a l'augmentar la concentració a 200 μ M només **38** segueix sent més selectiu enfront d'aquest enzim. Els compostos **2**, **5**, **6**, **37**, **125** i **133** mostren una lleugera activitat inhibidòria a 100 μ M amb un percentatge d'inhibició del 5%, 13%, 12%, 8%, 9% i 9%, respectivament. Tanmateix, a 200 μ M més compostos presenten inhibició i, amb valors normalment superiors. És així que **1**, **2**, **3**, **5**, **9**, **14**, **20**, **33**, **35**, **37** i **133** mostren una feble activitat inhibidòria, sent el compost **133** el que presenta uns millors resultats amb un 28% d'inhibició.

Taula 16. Determinació de la inhibició de la G6PDH i la 6PGD dels compostos compostos 1, 2, 3, 5, 6, 9, 14, 20, 33, 35, 37, 38, 123, 128, 129 i 133 a 100 µM

Compost	G6PDH+6PGD	6PGD	G6PDH real	% inhibició G6PDH (100 µM)	% inhibició 6PGD (100 µM)
Control	145,95	42,75	103,2	-	-
1	139,73	39,63	100,1	3,00	7,30
2	139,42	41,65	97,8	5,26	2,57
3	141,11	42,22	98,9	4,18	1,23
5	132,93	43,25	89,7	13,10	-1,17
6	131,51	40,34	91,2	11,66	5,64
9	145,47	40,34	105,1	-1,86	5,64
14	142,37	43,05	99,3	3,76	-0,70
20	145,74	42,96	102,8	4,41	-0,51
33	147,73	43,78	104,0	-0,73	-2,41
35	145,85	43,30	102,5	0,63	-1,30
37	137,44	42,12	95,3	7,63	1,48
38	143,97	35,73	108,2	-4,88	16,43
123	147,41	41,70	105,7	-2,43	2,44
125	138,60	44,51	94,1	8,83	-4,11
128	147,60	43,03	104,6	-1,33	-0,65
129	147,12	43,22	103,9	-0,68	-1,09
133	136,55	42,50	94,1	8,87	0,59

Els resultats preliminars obtinguts en aquestes avaluacions no coincideixen amb els esperats i no els podem emprar per a decidir la continuïtat del treball de recerca. Seria recomanable la repetició dels assajos abans d'emprar-los per establir unes relacions estructura-activitat.

Taula 17. Determinació de la inhibició de la G6PDH (a 200 µM) i la 6PGD (a 100 µM) dels compostos compostos 1, 2, 3, 5, 6, 9, 14, 20, 33, 35, 37, 38, 123, 128, 129 i 133

Compost	G6PDH+6PGD	6PGD	G6PDH real	% inhibició G6PDH (200 µM)	% inhibició 6PGD (100 µM)
Control	158,17	42,75	115,4	-	-
1	136,39	39,63	96,8	16,17	7,30

2	130,28	41,65	88,6	23,21	2,57
3	134,26	42,22	92,0	20,26	1,23
5	144,91	43,25	101,7	11,92	-1,17
6	153,26	40,34	112,9	2,17	5,64
9	148,88	40,34	108,5	5,96	5,64
14	146,64	43,05	103,6	10,25	-0,70
20	150,82	42,96	107,9	6,56	-0,51
33	148,24	43,78	104,5	9,50	-2,41
35	151,40	43,30	108,1	6,35	-1,30
37	142,81	42,12	100,7	12,76	1,48
38	156,77	35,73	121,0	-4,87	16,43
123	157,18	41,70	115,5	-0,05	2,44
125	154,77	44,51	110,3	4,47	-4,11
128	153,67	43,03	110,6	4,14	-0,65
129	156,14	43,22	112,9	2,17	-1,09
133	125,82	42,50	83,3	27,81	0,59

L'activitat de la G6PDH després del tractament amb els compostos a diferents concentracions es mostra en la següent **Figura 59**.

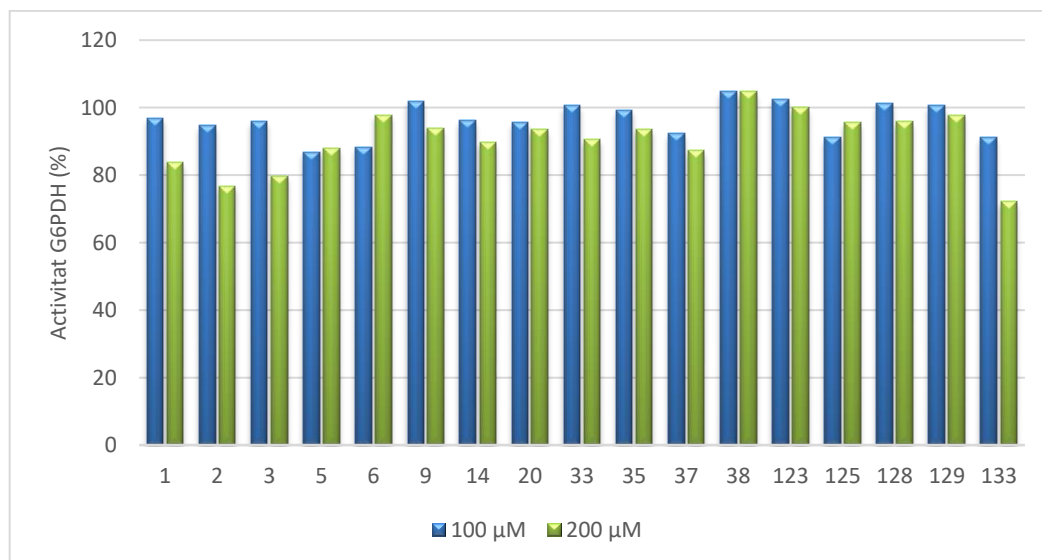


Figura 59. Activitat de la G6PDH, respecte el control, després del tractament amb els compostos **1, 2, 3, 5, 6, 9, 14, 20, 33, 35, 37, 38, 123, 128, 129 i 133** a 100 i 200 μM de concentració

Cal esmentar que els compostos assajats no han mostrat pràcticament inhibició de la G6PDH a les concentracions assajades. Per tal de determinar si un augment en la concentració dels compostos presenta una major activitat inhibidora, es va realitzar el

mateix assaig sobre els compostos **9**, **14** i **20**, però aquesta vegada utilitzant concentracions de 300 µM. A més, també es va mesurar l'activitat inhibidora incubant prèviament l'enzim amb els compostos durant 1 h a la mateixa concentració (**Taula 18**).

A baixes concentració dels compostos, no s'observa gairebé inhibició, però, a 300 µM, els compostos **9** i **14** presenten un 9% i un 8% d'inhibició, respectivament. Destaca l'augment considerable de la inhibició de la G6PDH pel compost **9** (21%), si prèviament s'incuba amb l'enzim durant 1 h.

Tanmateix, el compost **20**, que presentava una inhibició de 7% a 200 µM, no mostra inhibició a l'augmentar la concentració a 300 µM.

Taula 18. Determinació de la inhibició de la G6PDH a 300 µM amb i sense prèvia incubació amb els compostos **9**, **14** i **20**

Compost	% inhibició G6PDH	
	(300 µM)	(300 µM) + 1 h d'incubació
Control	-	-
9	9,25	20,54
14	8,44	11,03
20	0,01	-0,54

3.4.2. Resultats de viabilitat cel·lular

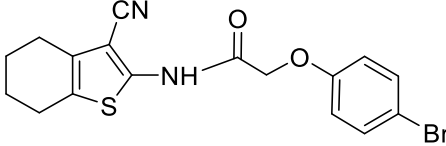
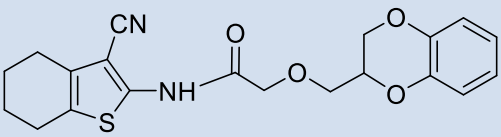
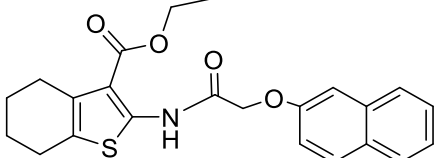
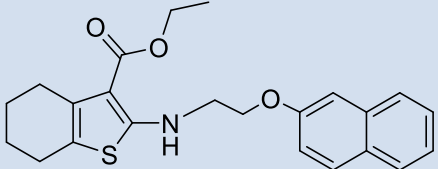
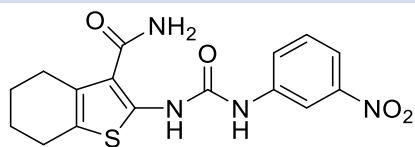
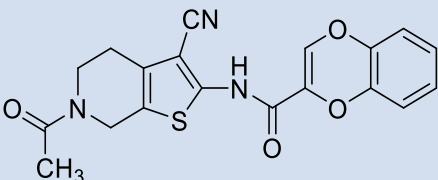
La viabilitat cel·lular es va mesurar mitjançant la determinació colorimètrica del bromur de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil-2,5-difeniltetrazoli) (MTT). Les cèl·lules tumorals es sembren en 96 vials a una concentració de 10⁴ cèl·lules per vial. Cada vial es tracta amb 100 µL de 1 mg/mL de MTT (Sigma Aldrich) en un medi DMEM que conté 10% FBS durant 4 h a 37 °C. El medi es reemplaça per 200 µL de DMSO i es sacseja durant 15 min. Es mesura l'absorbància a 540 nm utilitzant una microplaca ELISA, emprant DMSO com a blanc. Per quantificar l'efecte sinèrgic o antagonista dels compostos assajats s'utilitza el software CompuSyn.¹⁶²

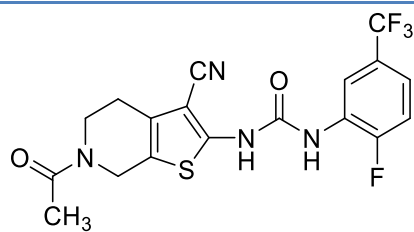
En aquest treball s'han emprat cèl·lules d'una línia metastàsica de càncer de pròstata (PC-3). Les avaluacions de viabilitat cel·lular es varen realitzar en el laboratori de la Dra. Marta Cascante (Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona).

¹⁶² T. C. Chou. *Cancer Res.* **2010**, *70*, 440-446

Els valors d'IC₅₀ dels compostos preparats en aquest treball s'indiquen a continuació (Taula 19, Figura 60).

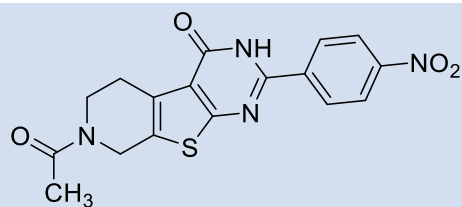
Taula 19. IC₅₀ dels compostos 12, 13, 16, 18, 24, 27, 28 i 30 i del compost de referència DHEA

Compost	IC ₅₀ (μM)
DHEA	115
 <p>12</p>	100
 <p>13</p>	134
 <p>16</p>	39
 <p>18</p>	81
 <p>24</p>	21
 <p>26</p>	14



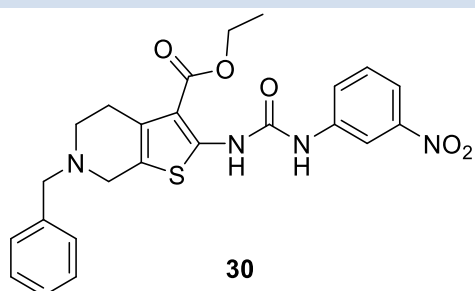
157

27



79

28



12

30

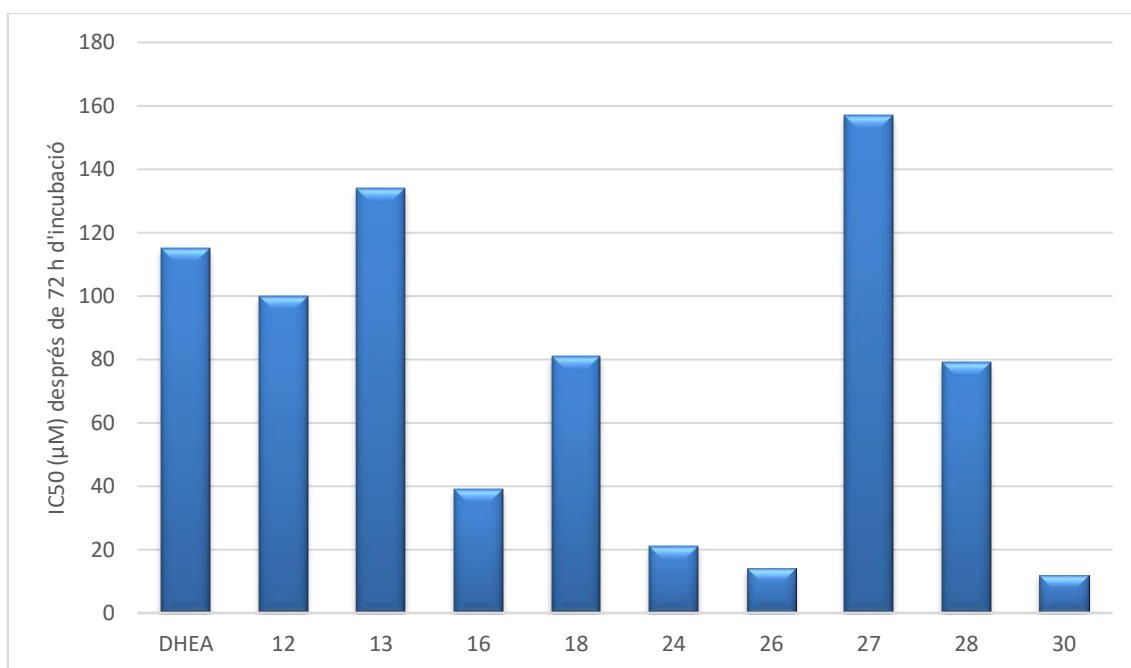


Figura 60. IC₅₀ dels compostos **12**, **13**, **16**, **18**, **24**, **27**, **28** i **30** en l'assaig de viabilitat cel·lular

Els compostos **16**, **24**, **26** i **30** són els de major activitat donat que produeixen una major inhibició del creixement cel·lular, molt superior a la del DHEA (**Figura 61**).

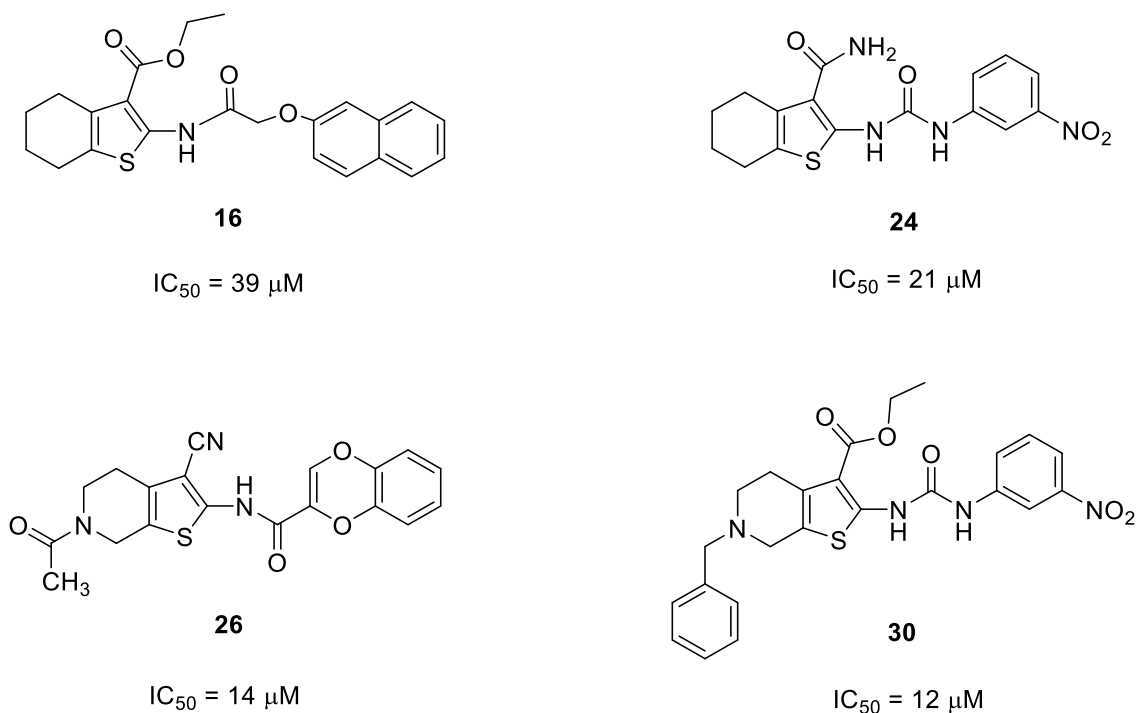


Figura 61. Estructura dels compostos **16**, **24**, **26** i **30** que presenten major inhibició del creixement cel·lular

Amb els resultats obtinguts es posa de manifest que la urea **30** (IC₅₀ = 12 μM) presenta una activitat citotòxica del mateix ordre que l'amida **26** (IC₅₀ = 14 μM). La urea **27** presenta activitat 10 vegades inferior a l'amida **26**, ambdues estructures es diferencien únicament pel substituent que figura sobre l'àtom de nitrogen de la posició 2 (**Figura 62**).

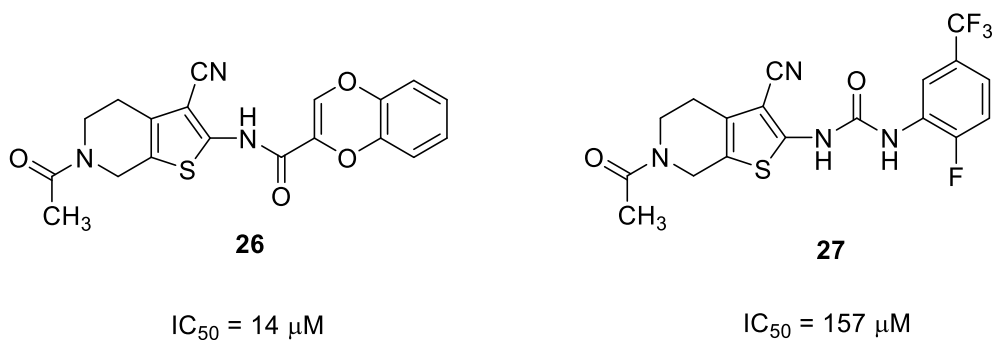


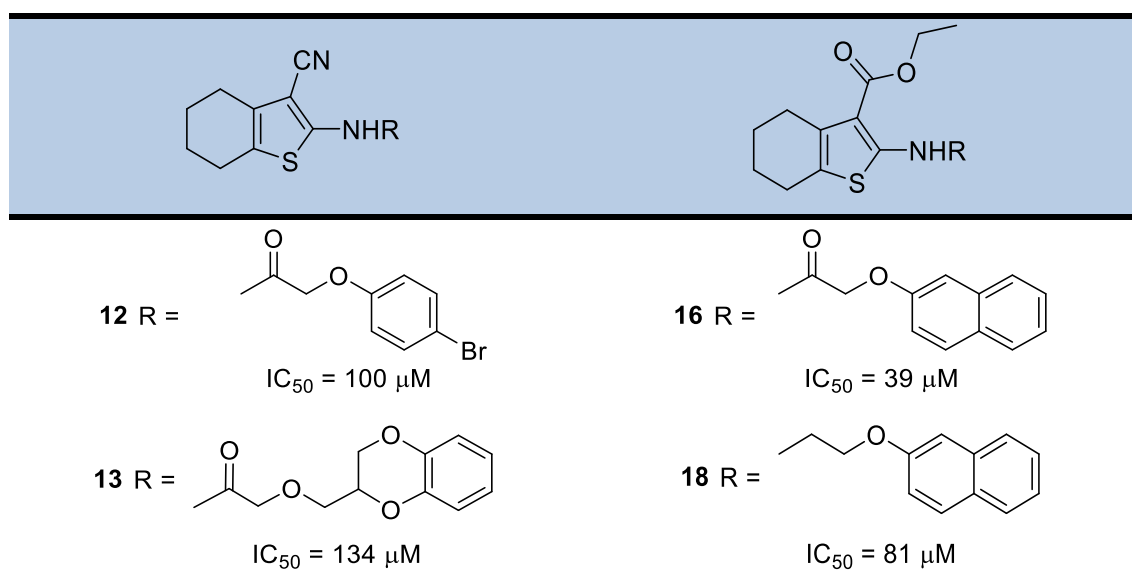
Figura 62. Estructures i IC₅₀ dels compostos **26** i **27**

Amb els resultats preliminars dels que disposem no podem precisar amb detall quins són els requisits estructurals necessaris per a una bona inhibició del creixement cel·lular, però sembla que la presència de la piperidina enlloc del ciclohexà aporta millor activitat.

Les dades d'activitat d'aquests compostos són preliminars i no permeten deduir unes relacions estructura-activitat, encara que sembla que són les estructures més polars, per la presència de la funció urea i de l'amina sobre el nucli derivat del tiofè, les que presenten una major activitat (Compost **30**). Amb les dades obtingudes es fa difícil precisar com afecten realment, a l'activitat citotòxica sobre la línia cel·lular assajada, els valors de la lipofília/hidrofilia així com el caràcter electrònic dels substituents dels productes avaluats.

Per als compostos **12**, **13**, **16** i **18** que presenten el nucli de ciclohexà-tiofè, els resultats indiquen que la funció èster etílic de la posició 3 resulta més eficaç que el grup nitril (**Taula 20**).

Taula 20. Relació estructura-activitat dels compostos **12**, **13**, **16** i **18**



Per al que fa al substituent de la posició 2, la funció amida aporta el doble d'activitat que la funció amina (**Figura 63**).

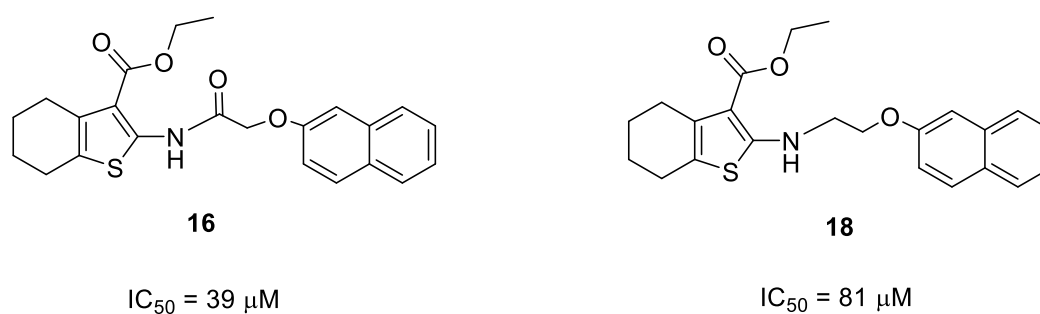


Figura 63. Estructura dels compostos **16** i **18**

D'altra banda, es varen incubar els compostos **9**, **14** i **67** en 7 línies cel·lulars de leucèmia humana.

Les línies TPH-1, NB4, HL-60 i OCIAML3 provenen de cèl·lules de leucèmia mieloide aguda (LMA), K562 i KU812 de leucèmia mieloide crònica (LMC), mentre que MOLT3 prové de cèl·lules de leucèmia limfoblàstica aguda (LLA).

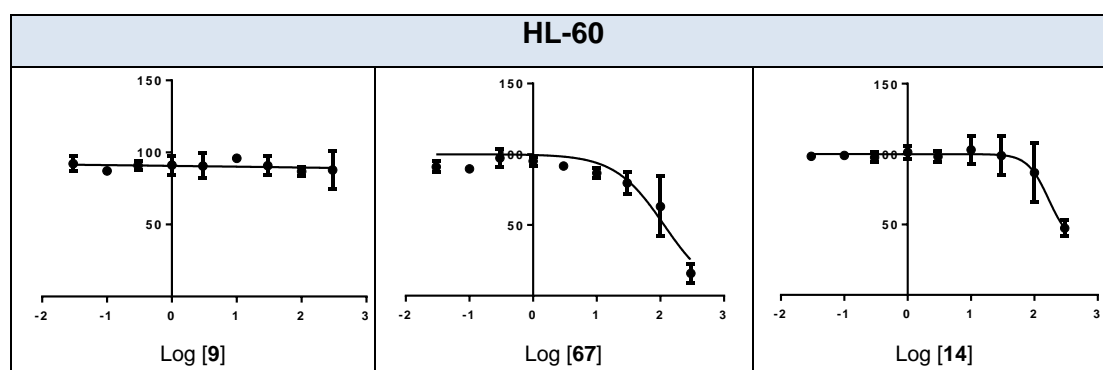
A continuació, es mostren els valors d'IC₅₀ d'aquests compostos per a cada línia assajada, així com els gràfics on es mostra el percentatge de la viabilitat cel·lular en funció de la concentració a escala logarítmica (**Taula 21** i **Taula 22**).

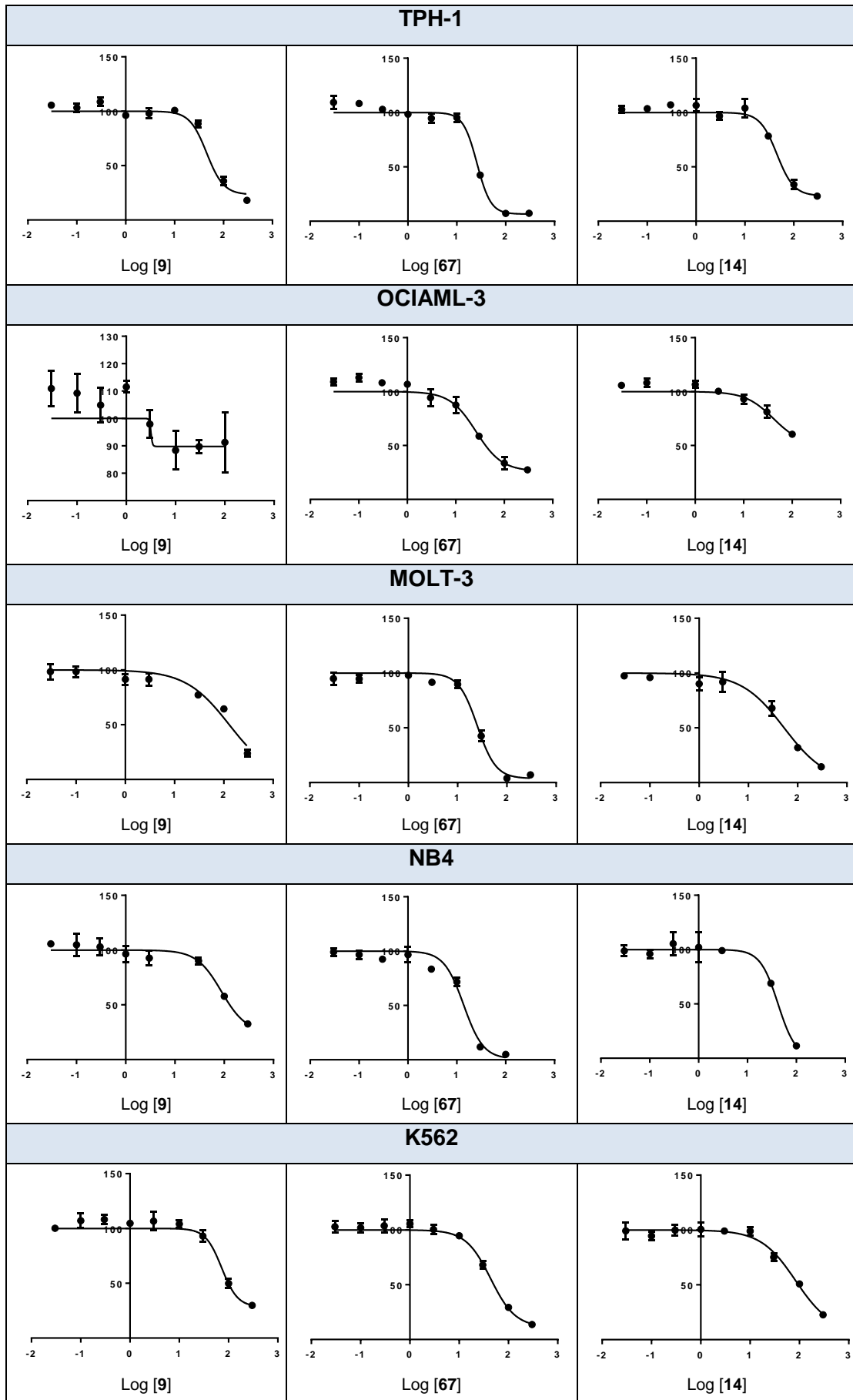
Taula 21. IC₅₀ (µM) dels compostos **9**, **14** i **67** en diferents línies cel·lulars

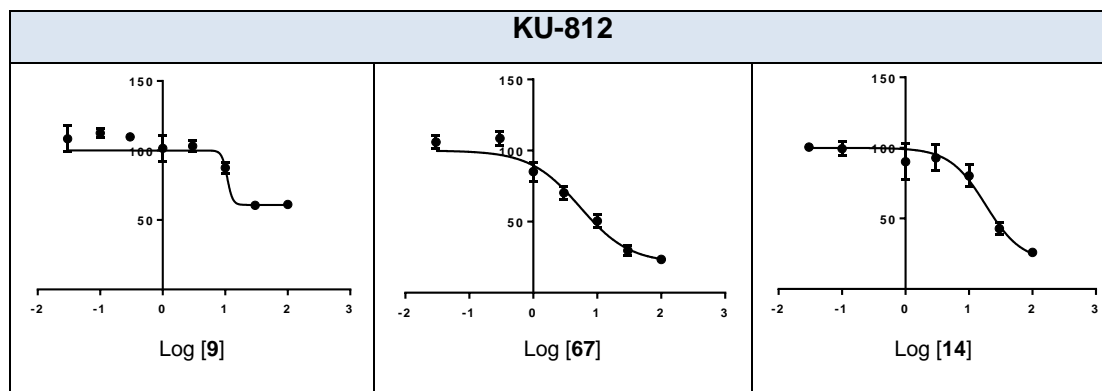
Compost	Línia cel·lular						
	TPH-1	MOLT-3	NB4	K562	KU-812	HL-60	OCIAML-3
9	72,924	128,825	129,420	99,177	-	-	-
14	58,064	53,088	42,267	95,813	25,177	274,202	-
67	27,102	25,957	13.932	50,415	8,670	114,427	41,166

Amb els resultats indicats a la taula anterior es fa evident que el compost **67** presenta pràcticament el doble d'activitat que **14**, essent aquest també més actiu que el compost **9**. A continuació, s'indiquen les corbes d'activitat dels diferents assajos realitzats.

Taula 22. Corba sigmoide del percentatge de la viabilitat cel·lular en funció de la concentració assajada a escala logarítmica per als compostos **9**, **14** i **67**







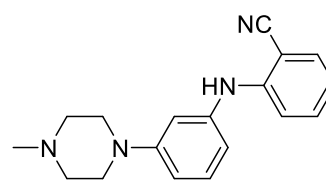
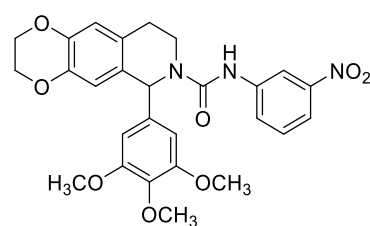
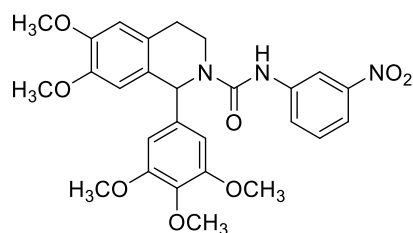
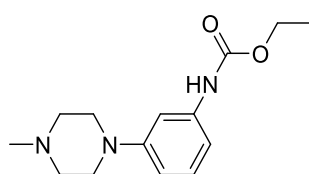
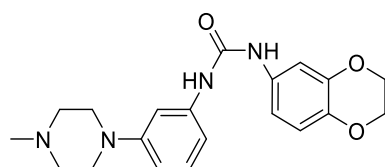
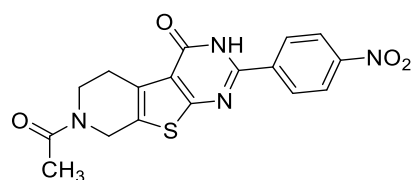
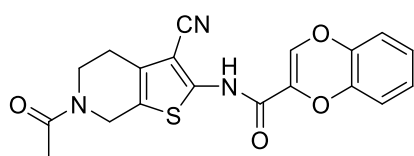
Tots els compostos mostren activitat citotòxica sobre les línies de cèl·lules cancerígenes, tot i que difereixen en funció de la línia cel·lular. No tots els compostos tenen la mateixa afinitat per les diferents línies, a més, aquestes es caracteritzen per un ritme de creixement propi, que es diferent a la resta. Tot i això, el compost **67** és qui té un millor perfil amb una IC_{50} per a KU-812 de 8,670. Queda ara per demostrar quin és el mecanisme d'acció que segueixen aquests compostos per a produir la citotoxicitat.

3.4.3. Resultats de diferents dianes terapèutiques avaluades en Lilly

Després de passar uns criteris de selecció basats en paràmetres de diversitat química, els compostos sintetitzats es van enviar als Laboratoris Lilly (Indianapolis, USA) per a l'avaluació experimental en assajos biològics. Aquesta avaluació biològica inclou el cribat *in vitro* en projectes actius i emergents de Lilly, com és el cas del càncer, desordres metabòlics, malalties cardiovasculars, autoimmunitàries i neurodegeneratives i, cribat de malalties tropicals desateses, aquest últim sense fins lucratiu. Actualment, s'ha inclòs també la salut animal, a càrrec d'Elanco Animal Health.

De la totalitat dels compostos enviats, només es disposa dels resultats dels compostos **14** i **18**, que pertanyen al segon objectiu d'aquest treball. La resta de compostos acceptats, **26**, **28**, **34**, **37**, **38**, **100** i **125** encara no han estat testats (**Taula 23**). Els resultats obtinguts es discuteixen a continuació.

Taula 23. Estructura química dels compostos pendent dels assajos biològics



3.4.3.1. Resultats biològics de l'activitat antitumoral

Inhibició de la Nicotinamida N-MetilTransferasa (NNMT)

La nicotinamida *N*-metiltransferasa (NNMT) és un enzim metabòlic que catalitza la *N*-metilació de la nicotinamida, piridina i altres anàlegs estructurals, utilitzant el cofactor *S*-5'-adenosilmetionina (SAM) com donador del grup metil i generant la *S*-adenosilhomocisteïna (SAH) i metilnicotinamida (MNAM).^{163,164} Aquest enzim citosòlic, està implicat en el metabolisme cel·lular i homeòstasi energètica. Una sobreexpressió d'NNMT produeix un esgotament de SAM, nicotinamida i NAD⁺. La depleció de SAM afecta el potencial de metilació de la cèl·lula, donant lloc a histones hipometilades i un

¹⁶³ <https://openinnovation.lilly.com> (Data: 25/08/18)

¹⁶⁴ N. Babault, A. Allali-Hassani, F. Li, J. Fan, A. Yue, K. Ju, F. Liu, M. Vedadi, J. Liu, J. Jin. *J. Med. Chem.* **2018**, 28, 2682-2687

perfil epigenètic alterat. El NAM és requerit per a la biosíntesi d'NAD⁺, la disminució del qual afecta negativament el metabolisme energètic (**Figura 64**).¹⁶⁵

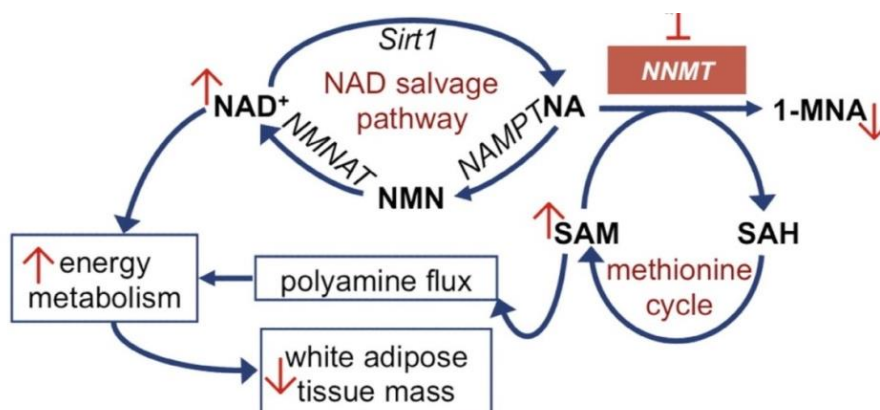


Figura 64. Efecte de la inhibició de NNMT sobre els nivells intracel·lulars d'NAD⁺, Nicotinamida, SAM i SAH¹⁶⁶

La sobreexpressió de NNMT està implicada en múltiples malalties. De fet, l'increment dels nivells de NNMT en les cèl·lules canceroses es relaciona amb una resistència als tractaments i amb un increment en l'agressivitat del tumor. És per aquest motiu que la síntesi de nous compostos amb capacitat de modular l'activitat de NNMT té molta importància en el marc de l'oncologia.

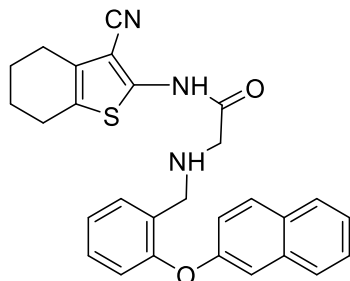
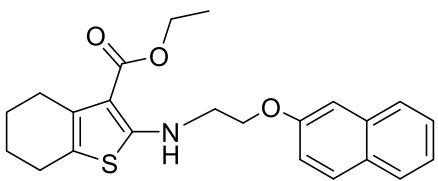
Per a realitzar els estudis d'inhibició, s'utilitza NNMT humana i es mesura el seu percentatge d'inhibició en funció de la inhibició en la formació dels seus productes.

El compost **14** no presenta inhibició d'MNAN a una concentració de 10 µM, tanmateix, a la mateixa concentració, SAH presenta una inhibició de fins el 37%. Si augmentem la concentració d'inhibidor a 196 µM, s'observa un augment de la inhibició en MNAN, que arriba al 37% d'inhibició. Aquestes dos últimes dades són similars per ambdós productes metabòlics, tot i que per aconseguir la mateixa inhibició en MNAN necessitem augmentar la concentració d'inhibidor gairebé 20 vegades. En el cas del compost **18**, la màxima inhibició no supera el 16% en la inhibició mesurada d'MNAN a una concentració de 196 µM. A 10 µM de concentració d'inhibidor només s'observa un petit efecte, amb un 3% d'inhibició en MNAN i un màxim de 5% per a SAH (**Taula 24**).

¹⁶⁵ H. S. Loring, P.R. Thompson. *Biochemistry* **2018**, *57*, 5524-5532

¹⁶⁶ H. Neelakantan, V. Vance, M. D. Wetzel, H-Y. L. Wang, S. F. McHardy, C. C. Finnerty, J. D. Hommel, S. J. Watowich. *Biochemical Pharmacology* **2018**, *147*, 141-152

Taula 24. Determinació de la inhibició de la NNMT humana

COMPOSTOS	ASSAIG PRIMARI		
	MNAN		SAH
	% inhib [10µM]	% inhib [196µM]	% inhib [10µM]
 <p style="text-align: center;">14</p>	-1,755	37,54	37,24 -2,086
 <p style="text-align: center;">18</p>	3,393	16,07	4,603 0,6592

Inhibició de l'Arginasa

L'arginasa és un enzim intracel·lular que hidrolitza l'arginina en ornitina i urea. Existeixen dos isoenzims, dels quals ARG 1, que es localitza al citoplasma, està implicat en la resposta immune al competir amb l'òxid nítric sintasa induïble (iNOS) per la *L*-arginina.¹⁶³ Això dona com a resultat la producció d'una sèrie de metabòlits essencials en la resposta immune: la prolina, involucrada en la reparació de teixits; les poliamines, per la seva participació en la divisió cel·lular i la immunosupressió; la *N*(ω)-hidroxi-*L*-arginina (NOHA), per la seva activitat inhibidora de l'arginasa; i l'òxid nítric (NO), molècula clau en diferents processos cel·lulars, com la resposta immune i inflamació (**Figura 65**).

L'arginasa està involucrada en la toxicitat sobre les cèl·lules canceroses. El seu paper en la resposta immune i inflamatòria s'explica per la capacitat d'inducció per un gran nombre de citocines TH1 (IL-1, IL-10 i IL-13). A més, és fonamental en processos de reparació i proliferació tissular, doncs la *L*-ornitina que es produeix, pot donar lloc a prolina o poliamines, aquesta última si es segueix la via de la ornitina descarboxilasa (ODC). Les poliamides, conjuntament amb la urea produïda per l'arginasa, són

inhibidors d'iNOS, inhabilitant el mecanisme de defensa basat en l'efecte citotòxic de NO.

Moltes cèl·lules presenten activitat arginasa i iNOS. La inducció de l'arginasa en macròfags, per exemple, per citocines TH2 i agents inflamatoris, participa en una gran varietat de malalties inflamatòries. A més, la depleció de la *L*-arginina, mediada per l'arginasa, suprimeix la resposta immune de les cèl·lules T, donant lloc a la immunosupressió associada a processos antiinflamatoris.

En resum, és molt important el control de l'expressió gènica de l'arginasa en diferents teixits i cèl·lules, ja que regula la disponibilitat de la *L*-arginina per a la producció de NO per la via iNOS i, per tant, la resposta immunitària.

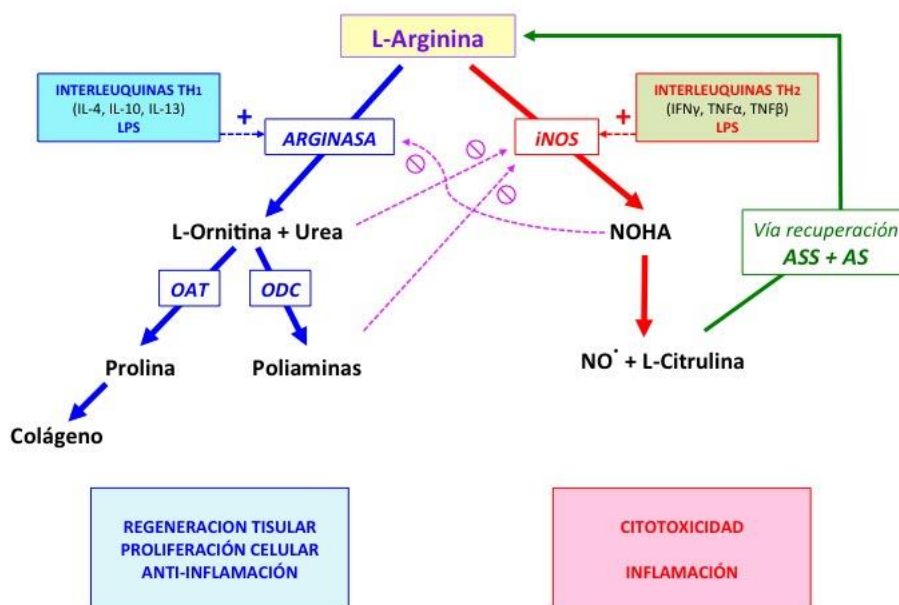
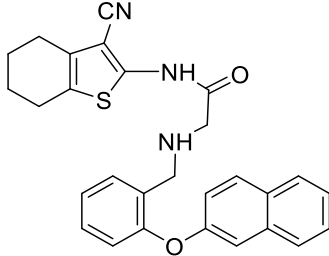
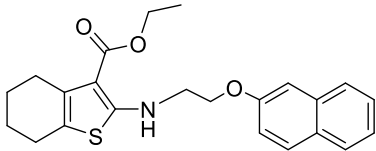


Figura 65. Vies de destí de la *L*-arginina en macròfags del sistema immunitari. La via blava afavoreix la funció proliferativa, antiinflamatòria i regenerativa (via Arginasa) i la vermella activa els mecanismes de defensa inflamatòria i citotòxica (via iNOS)¹⁶⁷

El compost **14** mostra una inhibició gens menyspreable de l'ARG1 (del 47% a una concentració de 100 μM), mentre que **18**, a una mateixa concentració, presenta un lleuger efecte estimulador de l'enzim (**Taula 25**).

¹⁶⁷ <https://www.sebbm.es> (Data: 25/08/18)

Taula 25. Determinació de la inhibició d'ARG1

COMPOSTOS	ASSAIG PRIMARI MassSpec_No Metal or BSA_384 SP % inhib [100µM]
 14	47
 18	-13,7

3.4.3.2. Resultats biològics de l'activitat analgèsica i neurodegenerativa

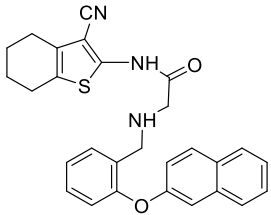
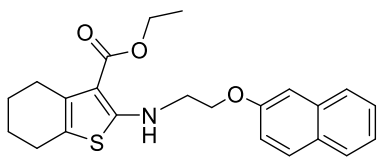
KCNQ2 (Kv7.2) y KCNQ3 (Kv7.3) són gens que codifiquen per a les subunitats del canal M, un canal de potassi depenent de voltatge. Aquests gens, que s'expressen exclusivament en el sistema nerviós, formen canals heteromèrics que són responsables de la denominada corrent M.¹⁶³ Els canals M estan tancats per receptors acoblats a Gq tals com els receptors muscarínics M1 i M3, que augmenten l'excitabilitat neuronal. El tancament muscarínic resulta de l'activació de la fosfolipasa C i la conseqüent hidròlisi i esgotament de fosfatidil-4,5-bifosfat de la membrana, que es requereix per l'apertura del canal.

Diversos fàrmacs agonistes de KCNQ2/3, que inclouen la *flupirtina* i *retigabina*, milloren l'activitat neuronal dels canals, principalment a través d'un canvi hiperpolaritzant en la seva activació de voltatge. En conseqüència, redueixen l'excitabilitat nerviosa i poden inhibir l'estimulació i transmissió nociceptives. *Flupirtine* està en ús com analgèsic central, mentre que *retigabina* està sota assaig clínic com anticonvulsionant d'ampli espectre i se li atribueixen efectes analgèsics.¹⁶⁸

¹⁶⁸ D. A. Brown, G. M. Passmore. *Br. J. Pharmacol.* **2009**, *156*, 1185-1195

Els resultats preliminars obtinguts a una concentració de 10 µM pels compostos **14** i **18** no mostren activitat inhibidora, resultant per tant inactius (**Taula 26**).

Taula 26. Determinació de la inhibició de KCNQ2/3 en cèl·lules humanes

COMPOSTOS	ASSAIG PRIMARI
	hKCNQ2/3 FluxOR Ag SP % estimulació [10µM]
 <p style="text-align: center;">14</p>	<p style="text-align: right;">1.561</p> <p style="text-align: right;">-5.233</p>
 <p style="text-align: center;">18</p>	<p style="text-align: right;">-1.414</p> <p style="text-align: right;">-5.552</p>

3.4.3.3. Resultats biològics de l'activitat antiparasitària

Actualment, existeix una problemàtica a nivell mundial en el tractament de certes malalties parasitàries, com és el desenvolupament de resistències als tractaments antiparasitaris existents. La manca d'alternatives terapèutiques, i el fet de que la salut d'animals i persones es vegi compromès, ha creat la necessitat de trobar nous fàrmacs per part de la indústria farmacèutica. Elanco Animal Health realitza els seus primers assajos en tres paràsits: *D. immitis/microfilaria L1*, *H. Contortus* i *A. Aegypti*. Els dos primers són nematodes que infecten principalment animals domèstics i, animals utilitzats en ramaderia i pel consum, respectivament. L'últim és un culícid, responsable de la transmissió de nombroses malalties, entre les quals es troba el virus del Dengue, la febre groga i la febre del Zika, així com també la Dirofilària.

Existeixen molts tipus d'antihelmíntics, entre els quals les lactones monocíclics són les més utilitzades, seguides del *levamisole* i *benzimidazole*. Aquests són considerats d'ampli espectre, per la qual cosa són útils en el tractament i profilaxi d'adults i larves de diverses espècies.

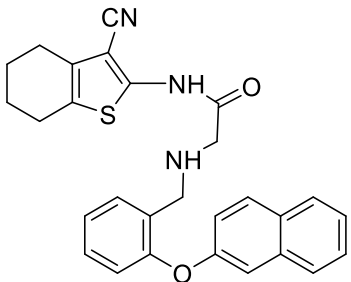
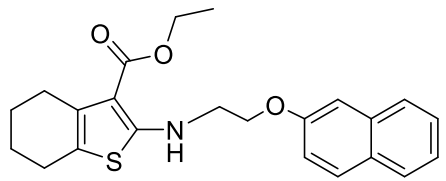
Les lactones macrocíclics actuen sobre els canals de clorur lligats als receptors de glutamat, presents de forma exclusiva en les neurones i cèl·lules musculars dels

invertebrats. Aquests canals de clorur unit a glutamat difereixen estructural i farmacològicament dels existents als mamífers, diferència responsable de l'activitat selectiva enfront del paràsit. Degut a aquesta interacció, es produeix un increment en la permeabilitat del clorur, que origina una hiperpolarització de la membrana cel·lular. A baixes concentracions, les lactones potencien l'efecte del glutamat i, a concentracions elevades, produeixen l'apertura del canal, originant una hiperpolarització i un augment irreversible en la conductància de l'entrada al clorur. Com a conseqüència, es produeix una paràlisi que origina la pèrdua de motilitat i, posteriorment, la mort del paràsit.

El fet que es desenvolupin diverses resistències, fa necessari cercar noves estratègies que maximitzin l'efectivitat dels tractaments i, que al mateix temps, disminueixin el desenvolupament de resistències als medicaments.

La inhibició parasitària per part dels compostos **14** i **18** no ha estat satisfactòria per a cap de les espècies assajades. El màxim percentatge d'inhibició el trobem entorn al 4% per al compost **14** en l'*Haemonchus contortus* (Taula 27).

Taula 27. Determinació de la inhibició de diferents espècies de paràsits: *D. immitis*, *H. contortus* i *A. aegypti*

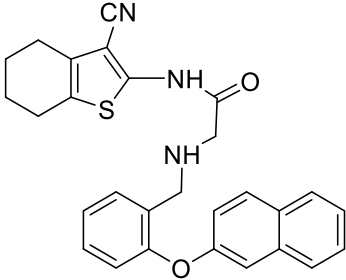
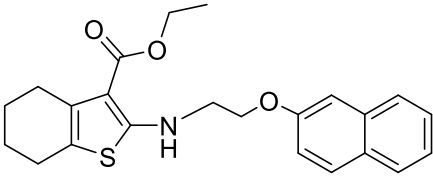
COMPOSTOS	ASSAIG PRIMARI		
	NV-D. <i>immitis</i> Motility Inh. SP	NV-H. <i>contortus</i> Motility Inh. SP	NV-A. <i>aegypti</i> Motility Inh. SP
	%Inhib 5µM	%Inhib 5µM	%Inhib 10µM
 <p style="text-align: center;">14</p>	1.0	4.0	1.0
 <p style="text-align: center;">18</p>	0.0 -1.0	-13.0 0.0	1.0 -3.0

3.4.3.4. Resultats biològics de l'activitat antituberculosi

La tuberculosi és una infecció bacteriana produïda per *Mycobacterium tuberculosis*. A l'any 2016, 10,4 milions de persones van patir la malaltia a nivell global i es calcula que, actualment, un terç de la població mundial està infectada. Els últims registres de mortalitat indiquen que 1,7 milions de persones van morir per tuberculosis a l'any 2016.³⁷ De fet, en persones infectades pel VIH representa una de les principals causes de mort. En termes de pacients globals i gravetat de la malaltia podem afirmar que *M. tuberculosis* és el patogen micobacterià més important. Els mecanismes moleculars pels quals el bacteri causa la malaltia són molt complexos i la forma en que elueix les defenses de l'hoste i desenvolupa resistències no es coneixen clarament. Es per això, que tot i el progrés de la investigació, els règims de tractament antituberculós són extremadament llargs (6 meses) i sovint ineficaços.¹⁶⁹

Els compostos **14** i **18** presenten una inhibició molt feble, del 6 i 3,8%, respectivament, a una concentració de 10 µM. Cap dels dos compostos presenten resultats d'interès en la inhibició de la tuberculosi (**Taula 28**).

Taula 28. Determinació de la inhibició de la tuberculosi

COMPOSTOS	ASSAIG PRIMARI
	TB MIC SP IDRI OIDD %Inhib. 10 µM
 14	6
 18	3,8

¹⁶⁹ F. Le Chevalier, A. Cascioferro, L. Majlessi, J. L.Herrmann, R. Brosch. *Future Microbiol.* **2014**, 9, 969-985

4. PART EXPERIMENTAL

Dades generals

Els espectres de ressonància magnètica nuclear de protó i carboni 13 han estat realitzats en espectròmetres Mercury-400 amb sonda dual (400 i 100,6 MHz, respectivament). Els dissolvents utilitzats han estat CDCl₃, DMSO-d₆ o acetona deuterada en funció de la solubilitat de cada producte. Els desplaçaments químics s'han expressat en parts per milió (ppm), utilitzant tetrametilsilà (TMS) com a referència interna en els espectres.

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 en un espectròmetre ThermoFinnigan TRACE DSQ (Facultat de Química, Universitat de Barcelona). Els espectres d'infrarroig (IR) han estat realitzats en un espectrofotòmetre FT-IR Perkin Elmer model Spectrum RX I. S'han anotat les freqüències més rellevants, expressades en cm⁻¹.

Els punts de fusió han estat determinats en tubs capil·lars oberts mitjançant un aparell Gallenkamp model MFB.595.010M amb termòmetre intern. Les lectures han estat corregides amb un termòmetre extern.

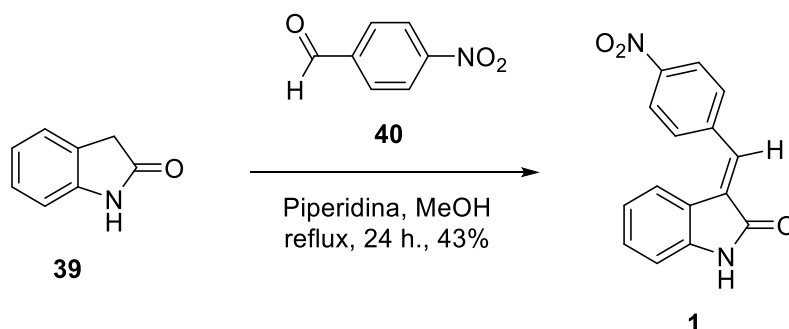
Les cromatografies en columna manuals han estat realitzades amb gel de sílice Merk 60 (40-60 µm). Les cromatografies en columna automàtica ha estat realitzades amb un sistema CombiFlash® R_f equipat amb un detector UV-vis (PN 68-5230-008) i columna de gel de sílice RediSep R_f de 4 i 12 grams. Per a les cromatografies de capa fina s'han utilitzat plaques cromatogràfiques de gel de sílice de 60 F254 (Merck). Els senyals han estat visualitzats mitjançant la llum ultraviolada.

Les microdestilacions han estat realitzades en un forn de boles giratori Büchi GKR-50.

Les reaccions amb microones han estat realitzades en un forn de microones CEM Discover LabMate i la temperatura ha estat mesurada per un sensor IR.

Tots els reactius són de qualitat comercial per a síntesi 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.

Preparació d'(*E*)-3-(4-nitrobenziliden)-1*H*-indolin-2-ona (1)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid **40** (0,477 g, 3,156 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de MeOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix l'oxindole **39** (0,420 g, 3,156 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la temperatura de reflux, durant 24 hores. Es disposa un tub de CaCl₂ al cap damunt del refrigerant per evitar l'entrada d'humitat.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'hi addicionen 20 mL d'aigua i s'acidifica el pH amb una solució aquosa d'HCl 2N (2 mL). Es fa una extracció amb CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

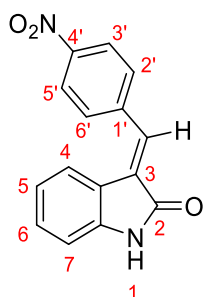
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **1** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid taronja.

Massa teòrica: 0,840 g

Massa obtinguda: 0,363 g

Rendiment: 43%

Dades analítiques

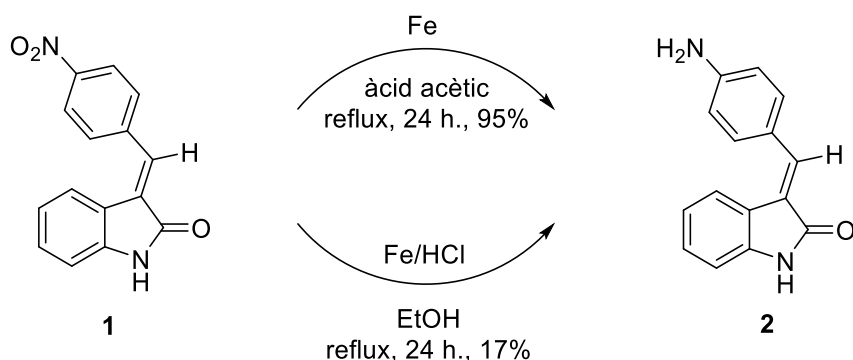


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,53

Pf: 184-186 °C (Hexà/Acetat d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 6,90 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-7); 7,25-7,28 (m, 2H, H-5, H-6); 7,44 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4); 7,78 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,81 (s, 1H, H-C=); 8,34 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-3' H-5').

Preparació d'(*E*)-3-(4-aminobenziliden)-1*H*-indol-2-ona (**2**)



Condicions a):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el nitroderivat **1** (0,254 g, 0,954 mmol, 1 eq), 5 mL d'àcid acètic i el ferro (0,267 g, 4,778 mmol, 5 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la temperatura de reflux, durant 24 hores.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'hi addiciona gel al cru de reacció i es neutralitza el pH amb una solució aquosa d'NaOH 2N. A continuació, s'hi addicionen 20 mL d'acetat d'etil i es deixa reposar sobre un imant per sedimentar les llimadures de ferro. Seguidament, la mescla es decanta dins un erlenmeyer i 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.

Purificació

El producte final **2** s'obté amb la puresa suficient per seguir amb la seqüència sintètica i, per tant, no requereix purificació posterior.

Massa teòrica: 0,225 g

Massa obtinguda: 0,213 g

Rendiment: 95%

Condicions b):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el derivat indòlic **1** (0,400 g, 1,502 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL d'etanol. A continuació, s'hi afegeixen 2 mL d'HCl concentrat i el ferro (0,420 g, 7,516 mmol, 5 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la temperatura de reflux, durant 24 hores.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'hi addiciona gel al cru de reacció i es neutralitza el pH amb una solució aquosa d'NaOH 2N. A continuació, s'hi addicionen 20 mL d'acetat d'etil i es deixa reposar sobre un imant per sedimentar les llimadures de ferro. Seguidament, la mescla es decanta dins un erlenmeyer i 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.

Purificació

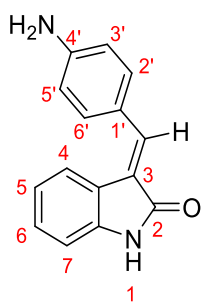
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (60:40) i s'obté un sòlid vermellós.

Massa teòrica: 0,355 g

Massa obtinguda: 0,060 g

Rendiment: 17%

Dades analítiques



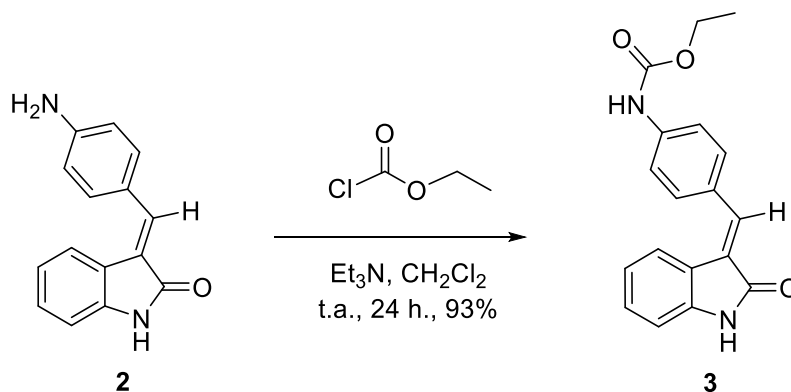
R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,13

Pf: 165-167 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 6,73 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,82 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-7); 7,16-7,24 (m, 2H, H-5, H-6); 7,50 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-4); 7,84 (s, 1H, CH=); 7,98 (d, *J* = 8 Hz, H-2', H-6'); 9,48 (ba, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 110,5 (CH, C-7); 121,3 (CH, C-4); 121,4 (CH, C-3', C-5'); 121,9 (C, C-3); 124,1 (C, C-1'); 124,5 (C, C-3a); 128,9 (CH, C-5); 136,5 (CH, C-2', C-6'); 137,1 (CH, CH=); 142,0 (C, C-7a); 170,5 (C, CO).

Preparació d'(*E*)-4-((2-oxoindolin-3-idilen)metil)fenil)carbamat d'etil (**3**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi introdueix el producte de partida **2** (0,104 g, 0,440 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de diclorometà. S'hi addiciona la trietilamina (0,074 mL, $d = 0,726$ g/mL, 0,528 mmol, 1,2 eq) i la mescla es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi afegeixi el cloroformiat d'etil (0,051 mL, $d = 1,135$ g/mL, 0,528 mmol, 1,2 eq) i la mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient i sota agitació constant durant 24 hores.

Final de reacció

S'afegeixen 20 mL d'aigua al cru de reacció i tot seguit s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

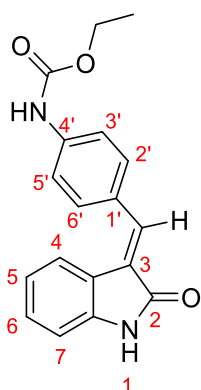
L'espectre d'RMN-¹H confirma l'estructura desitjada **3** amb elevada puresa, de manera que no es procedeix a la purificació. S'obté un sòlid de color rogenc.

Massa teòrica: 0,136 g

Massa obtinguda: 0,126 g

Rendiment: 93%

Dades analítiques

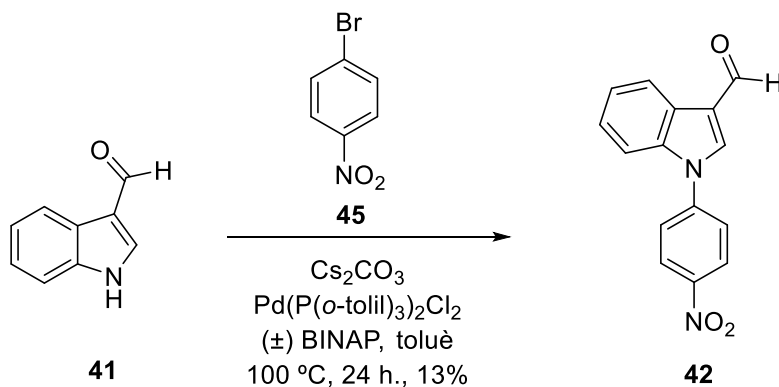


R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,88

Pf: 65-67 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,40 (t, 3H, CH₃); 4,10 (q, 2H, CH₂-O); 7,04 (d, 1H, H-7); 7,35-7,45 (m, 2H, H-5, H-6); 7,40 (d, 1H, H-4); 7,58 (d, 2H, H-3', H-5'); 7,70 (s, 1H, CH=); 8,28 (d, 2H, H-2', H-6').

Preparació d'1-(4-nitrofenil)-1H-indol-3-carbaldehid (42)



Procediment

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'aldehid **41** (0,300 g, 2,067 mmol, 1 eq), el 4-bromonitrobenzè (**45**) (0,417 g, 2,067 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (1,347 g, 4,134 mmol, 2 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 100 ± 10 °C durant 24 hores. Passat aquest temps s'observa en el control de reacció la formació d'una nova taca.

Final de reacció i purificació

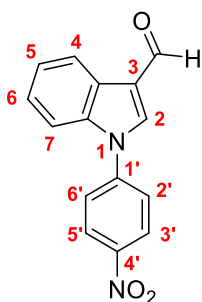
S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor i el residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **42** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (60:40) i s'obté un sòlid taronja.

Massa teòrica: 0,073 g

Massa obtinguda: 0,550 g

Rendiment: 13%

Dades analítiques

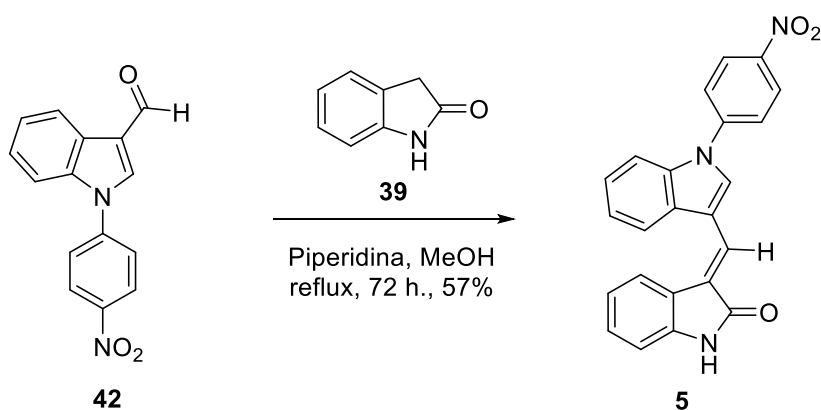


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,71

Pf: 259-261 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 7,20-7,27 (m, 2H, H-5, H-6); 7,37-7,42 (m, 2H, H-4, H-7); 7,76 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,97 (s, 1H, H-2); 8,47 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-3', H-5'); 9,97 (s, 1H, CHO).

Preparació d'(E)-3-((1-(4-nitrofenil)-1H-indol-3-il)metilen)indolin-2-ona (5)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid **42** (0,073 g, 0,274 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de MeOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix l'oxindole **39** (0,037 g, 0,274 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la

temperatura de reflux, durant 72 hores. Es disposa un tub de CaCl_2 al cap damunt del refrigerant per evitar l'entrada d'humitat.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'hi addicionen 20 mL d'aigua i s'acidifica el pH amb una solució aquosa d'HCl 2N (2 mL). Es realitza una extracció amb CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

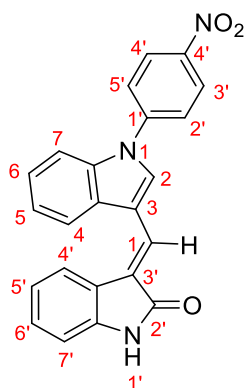
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® Rf. El producte esperat **5** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (65:35) i s'obté un sòlid pulverulent groc.

Massa teòrica: 0,105 g

Massa obtinguda: 0,060 g

Rendiment: 57%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,31

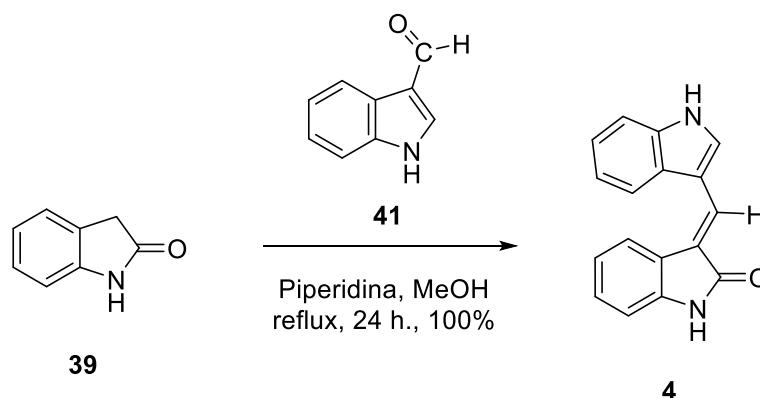
Pf: 215-217 °C (Hexà/Acetats d'etil)

EM, ESI (+) m/z: Esperat per a $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$: 382,1192. Trobat: 382,1235.

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 6,90 (d, *J* = 8 Hz, H-7'); 7,08 (t, *J* = 8 Hz, H-5'); 7,20 (t, *J* = 8 Hz, H-6); 7,29-7,33 (m, H-2'', H-6''); 7,47 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 7,63 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-7); 7,78 (m, 1H, H-6'); 7,93 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 8,01 (s, 1H, CH=); 8,12 (s, 1H, H-2); 8,81-8,87 (m, 2H, H-4, H-4'); 9,54 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 109,1 (CH, C-7); 110,2 (CH, C-6'); 116,1 (C, C-3); 119,4 (C, C-5); 120,4 (CH, C-4); 121,9 (CH, C-2'', C-6''); 123,1 (C, C-4'); 123,4 (CH, C-3'', C-5''); 123,7 (CH, C-5'); 126,1 (C, C-3'a); 127,1 (CH, C-6); 127,7 (CH, C-2); 128,0 (C, C-3'); 128,4 (CH, C-7'); 128,9 (C, C-3a); 135,2 (CH, CH=); 140,2 (C, C-7'a); 142,7 (C, C-4''); 145,2 (C, C-7a); 170,2 (C, C=O).

Preparació d'(*E*)-3-((1*H*-indol-3-il)metilè)indolin-2-ona (**4**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid **41** (0,300 g, 2,067 mmol, 1 eq) dissolt en 25 mL de MeOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix l'oxindole **39** (0,275 g, 2,067 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la temperatura de reflux, durant 24 hores. Es disposa un tub de CaCl₂ al cap damunt del refrigerant per evitar l'entrada d'humitat.

Final de reacció

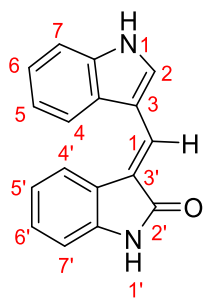
S'evapora l'etanol a sequedat. S'hi addicionen 20 mL d'aigua i s'acidifica el pH amb una solució aquosa d'HCl 2N (2 mL). Es realitza una extracció amb CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El producte resultant **4**, un sòlid pulverulent color taronja, no es purifica ni es caracteritza al final de reacció sinó que s'utilitza directament per dur a terme la següent etapa de síntesi.

Massa teòrica: 0,538 g

Massa obtinguda: 0,538 g

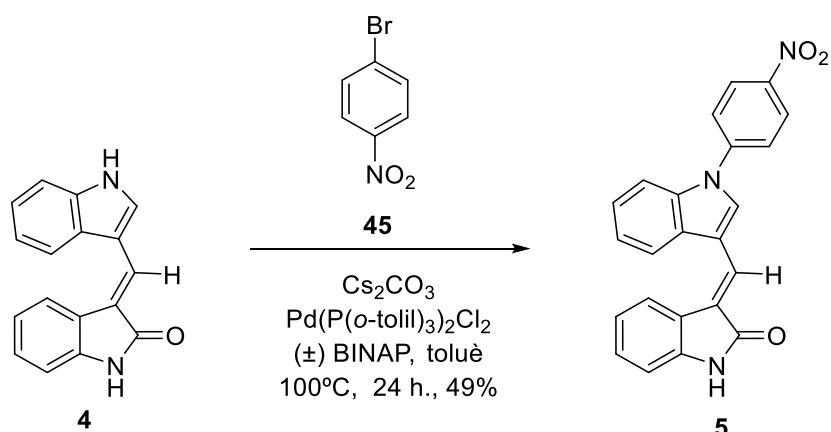
Rendiment: 100%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,17

Preparació d'(*E*)-3-((1-(4-nitrofenil)-1*H*-indol-3-il)metilen)indolin-2-ona (**5**)



Procediment

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'oxindole de partida **4** (0,538 g, 2,067 mmol, 1 eq), el 4-bromonitrobenzè (**45**) (0,418 g, 2,067 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (1,347 g, 4,134 mmol, 2 eq) i el pal·ladi i el (\pm) BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (20 mL). El matràs es tanca i la mescla es deixa reaccionar amb agitació a 100 ± 10 °C durant 24 hores. Passat aquest temps s'observa en el control de reacció la formació d'una nova taca.

Final de reacció

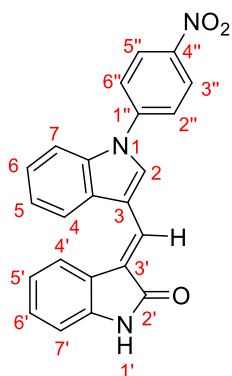
S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor i el residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. S'empren mescleres d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat **5** elueix amb una polaritat de 45-55% d'hexà/acetat d'etil.

Massa teòrica: 0,788 g

Massa obtinguda: 0,390 g

Rendiment: 49%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,31

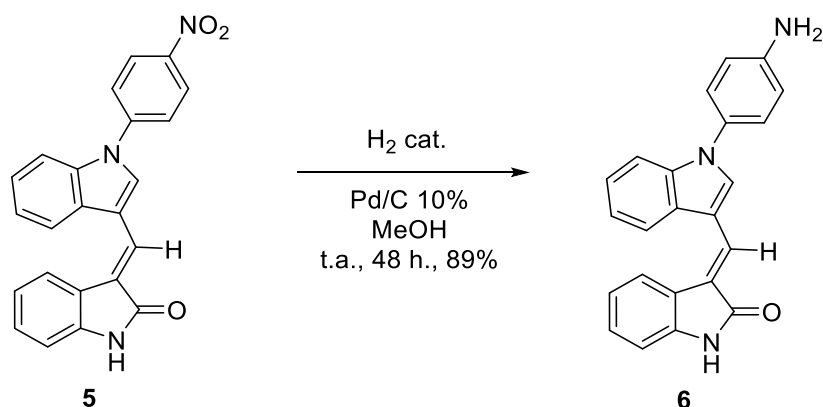
Pf: 215-217 °C (Hexà/Acetats d'etil)

EM, ESI (+) m/z: Esperat per a C₂₃H₁₇N₃O₃: 382,1192. Trobat: 382,1235.

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 6,90 (d, *J* = 8 Hz, H-7'); 7,08 (t, *J* = 8 Hz, H-5'); 7,20 (t, *J* = 8 Hz, H-6); 7,29-7,33 (m, H-2'', H-6''); 7,47 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 7,63 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-7); 7,78 (m, 1H, H-6''); 7,93 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 8,01 (s, 1H, CH=); 8,12 (s, 1H, H-2); 8,81-8,87 (m, 2H, H-4, H-4'); 9,54 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 109,1 (CH, C-7); 110,2 (CH, C-6'); 116,1 (C, C-3); 119,4 (C, C-5); 120,4 (CH, C-4); 121,9 (CH, C-2'', C-6''); 123,1 (C, C-4'); 123,4 (CH, C-3'', C-5''); 123,7 (CH, C-5'); 126,1 (C, C-3'a); 127,1 (CH, C-6); 127,7 (CH, C-2); 128,0 (C, C-3'); 128,4 (CH, C-7'); 128,9 (C, C-3a); 135,2 (CH, CH=); 140,2 (C, C-7'a); 142,7 (C, C-4''); 145,2 (C, C-7a); 170,2 (C, C=O).

Preparació d'(*E*)-3-((1-(4-aminofenil)-1H-indol-3-il)metilén)indolin-2-ona (**6**)



Procediment

A un matràs de vidre de coll llarg no esmerilat, emprat per a les reaccions d'hidrogenació, s'hi introdueix el producte de partida **5** (0,135 g, 0,354 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de metanol. A continuació, s'hi addiciona una suspensió de pal·ladi carbó al 10% (p/p) (0,014 g) en el mateix dissolvent i, el matràs es col·loca en un sistema d'hidrogenació proveït amb una columna d'1 L d'hidrogen. Es deixa reaccionar sota agitació constant i a temperatura ambient durant 48 hores.

Final de reacció

Es filtra el pal·ladi a pressió atmosfèrica amb doble paper de filtre i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

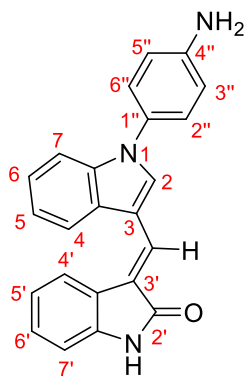
El residu obtingut es purifica mitjançant una columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte desitjat **6** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (65:35) i s'obté un sòlid groc.

Massa teòrica: 0,124 g

Massa obtinguda: 0,110 g

Rendiment: 89%

Dades analítiques

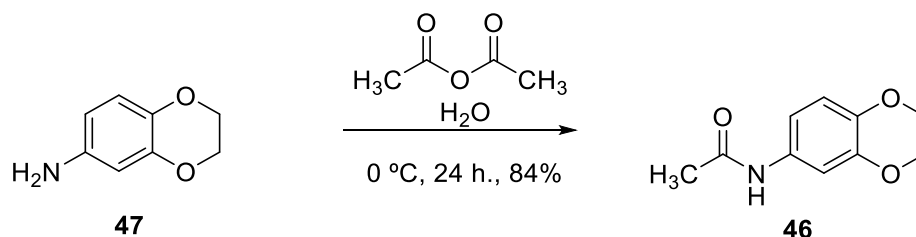


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,39

Pf: 175-177 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 6,78 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 6,87 (d, *J* = 6 Hz, 3H, H-7', NH₂); 7,08-7,20 (m, 4H, H-5', H-6', H-5, H-6); 7,33 (m, 2H, H-7, CH=); 7,65 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, H-2'', H-6''); 7,93-8,01 (m, 2H, H-4, H-4');

Preparació d'*N*-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-il)acetamida (**46**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'hi introdueix l'anilina de partida **47** (2,632 g, 17,412 mmol, 1 eq) i es submergeix en un bany extern de gel i aigua fins assolir els 0 °C. A continuació, s'hi afegeixen 30 mL d'aigua i 5 mL d'anhídrid acètic, gota a gota, amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur. La mescla es deixa reaccionar a temperatura ambient i sota agitació constant durant 5 minuts fins la formació d'un precipitat.

Final de reacció

El cru de reacció es filtra amb un embut de placa filtrant i kitasato. El filtrat obtingut es traspassa a una càpsula de porcellana i es deixa al dessecador durant 24 hores, juntament amb KOH per neutralitzar l'àcid acètic format durant la reacció.

Purificació

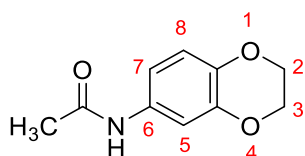
El producte obtingut **46** és un sòlid cristal·lí gris que s'obté amb suficient grau de puresa per passar a la següent etapa de síntesi.

Massa teòrica: 3,364 g

Massa obtinguda: 2,830 g

Rendiment: 84%

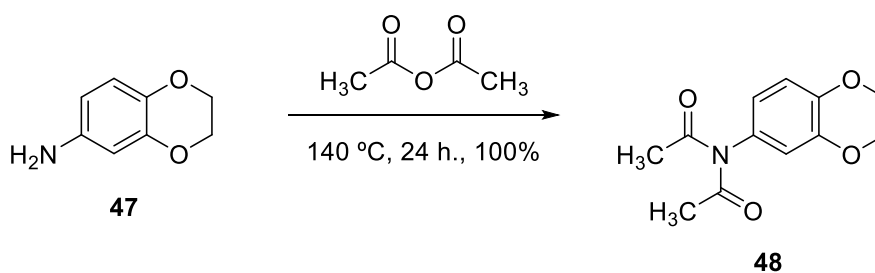
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,06

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,13 (s, 3H, CH₃-); 4,22 (s, 4H, CH₂-O (x2)); 6,77 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-8); 6,79 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-7); 7,12 (s, 1H, H-5); 7,19 (ba, 1H, NH).

Preparació d'*N*-acetil-*N*-(2,3-dihidrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-il)acetamida (**48**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'anilina de partida **47** (2,624 g, 17,359 mmol, 1 eq). Seguidament, s'hi addicionen 30 mL d'anhídrid acètic, gota a gota, amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur. La mescla resultant es deixa reaccionar sota agitació constant a 140 °C durant 24 hores.

Final de reacció

El cru de reacció s'alcalinitza amb NaOH (5N) i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). A continuació, la fase orgànica resultant s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

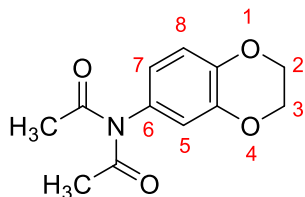
El producte obtingut **48** no es purifica ja que no és el producte desitjat (monoacetilat), sinó el doble acetilat. Es tracta d'un sòlid cristal·lí de color gris.

Massa teòrica: 4,084 g

Massa obtinguda: 4,079 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques

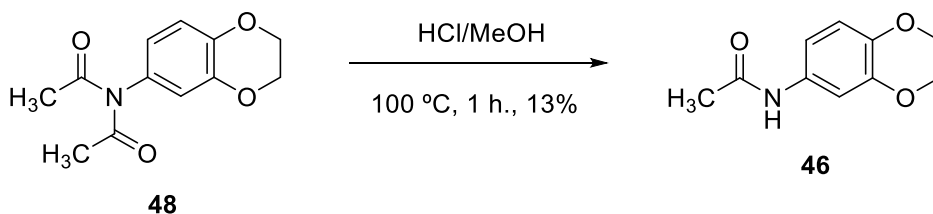


R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,23

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2.28 (s, 6H, CH₃ (x2)); 4.25 (s, 4H, CH₂-O (x2)); 6.58 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-8); 6.60 (s, 1H, H-5); 6.90 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-7).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 26.8 (CH₃ (x2)); 64.2 (CH₂-O (x2)); 117.0 (CH, C-8); 117.6 (CH, C-5); 121.5 (CH, C-7); 132.3 (Cq, C-6); 143.9 (Cq, C-8a); 144.1 (Cq, C-4a); 173.2 (Cq, C=O (x2)).

Preparació d'*N*-(2,3-dihidrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-il)acetamida (**46**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'acetamida de partida **48** (4,079 g, 17,340 mmol, 1 eq) dissolta en 6 mL de metanol. Seguidament, s'hi addicionen 20 mL d'HCl 2N i la mescla es deixa reaccionar durant 1 hora a 100 ± 10 °C.

Final de reacció

S'evapora el metanol a sequedat. El cru es basifica amb NaOH (2N) i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). 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 **46** es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, eluint amb acetat d'etil 100%. S'obté un sòlid cristal·lí taronja.

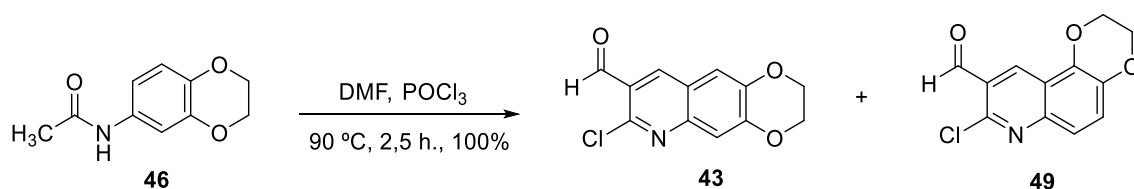
Massa teòrica: 3,350 g

Massa obtinguda: 0,424 g

Rendiment: 13%

Les dades analítiques coincideixen amb les descrites anteriorment.

Preparació de 7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolina-8-carbaldehid (**43**) i 8-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-f]quinolina-9-carbaldehid (**49**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb entrada i sortida de gasos i submergit dins un bany de gel a 0 °C, s'hi afegeix la DMF (1,202 mL, d = 0,944 g/mL, 15,528 mmol, 3 eq) i el POCl₃ (3,377 mL, d = 1,645 g/mL, 36,232 mmol, 7 eq), gota a gota, amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur. La barreja obtinguda s'agita durant 15 minuts sota atmosfera d'argó i, transcorregut aquest temps, s'hi addiciona l'acetamida **46** (1,000 g, 5,176 mmol, 1 eq). La mescla resultant es manté sota agitació constant a 90 ± 10 °C durant 2,5 hores.

Final de reacció

El cru de reacció s'aboca sobre un vas de precipitat amb gel. Es filtra al buit amb una placa de vidre i, el residu obtingut, es traspasa a una càpsula de porcellana i es deixa al dessecador durant 24 hores.

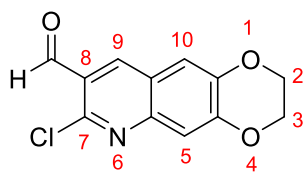
El producte obtingut correspon majoritàriament a l'isòmer **43**, que és un sòlid de color marró que s'obté amb suficient grau de puresa per passar a la següent etapa de síntesi.

Massa obtinguda: 1,292 g

Massa teòrica: 1,292 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,61

Pf: 227-229 °C (Hexà/Acetats d'etil)

IR (KBr) ν (cm⁻¹): 1061 (C-O); 1250 (Ar-O-); 1685 (C=O).

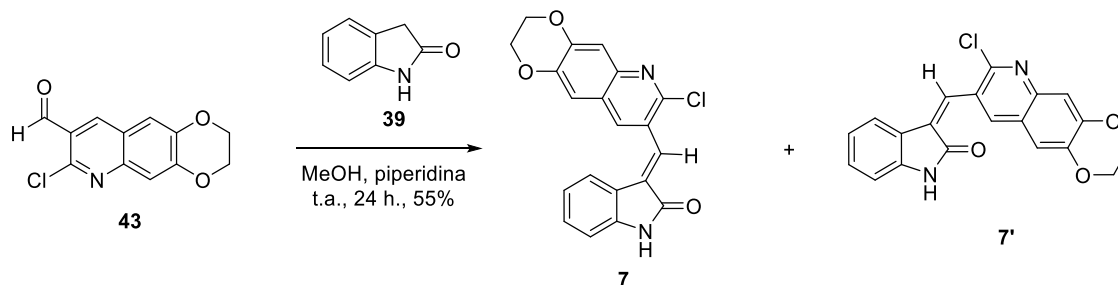
E. M. (impacte electrònic, m/z (% fragment)): 83 (100%); 192 (60%, C₉H₃ClNO₂⁺);

193 (56%, C₉H₄ClNO₂⁺); 249 (80%, C₁₂H₇ClNO₂⁺).

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 4,39 (t, *J* = 7 Hz, 2H, CH₂-O-); 4,40 (t, *J* = 7 Hz, 2H, CH₂-O-); 7,35 (s, 1H, H-5); 7,48 (s, 1H, H-10); 8,55 (s, 1H, H-9); 10,48 (s, 1H, CHO).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ (ppm): 64,1 (CH₂-O-); 64,6 (CH₂-O-); 113,6 (CH, C-5); 113,8 (CH, C-10); 122,5 (C, C-9a); 124,7 (C, C-8); 138,5 (CH, C-9); 145,4 (C, C-10a); 146,4 (C, C-5a); 148,7 (C, C-7); 150,5 (C, C-4a); 189,2 (CH, CHO).

Preparació de 3-((7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolina-8-il)metilen)indolin-2-ona (7)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi introdueix l'aldehid de partida **43** (0,155 g, 0,621 mmol, 1 eq), dissolt en 20 mL de metanol, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi addiciona l'oxindole **39** (0,083 g, 0,621 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i a temperatura ambient, durant 24 hores. Es disposa un tub de CaCl₂ al cap damunt del refrigerant per evitar l'entrada d'humitat.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'hi addicionen 20 mL d'aigua i es realitza una extracció amb CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat.

Purificació

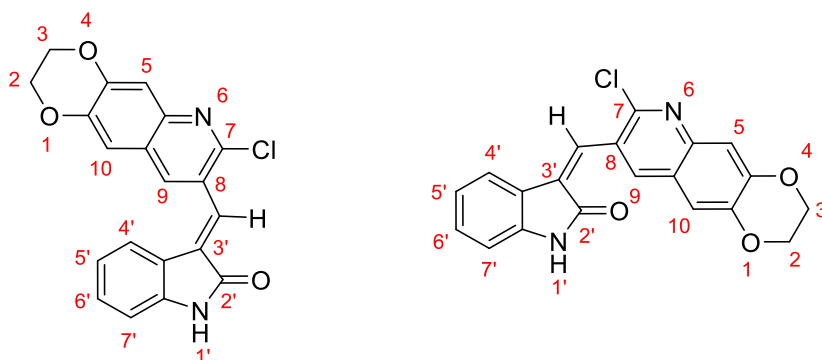
El producte es purifica per cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (75:25) i s'obté un sòlid pulverulent de color groc que conté els isòmers **7** i **7'**.

Massa obtinguda: 0,048 g

Massa teòrica: 0,226 g

Rendiment: 21%

Dades analítiques

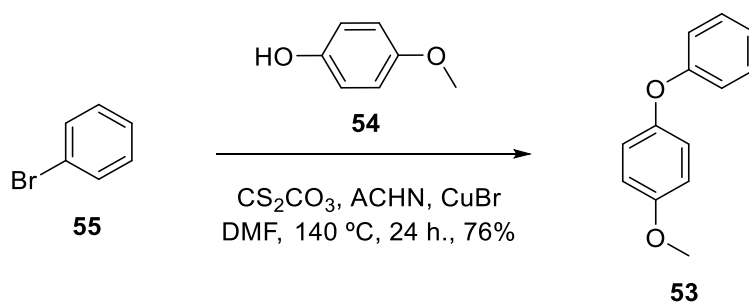


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,36 (majoritari) i 0,49 (minoritari)

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 4,32-4,37 (m, 4H, CH₂-O (x2)); 6,87-6,82 (m, 1H, H-7'); 7,04-7,08 (m, 1H, H-5'); 7,08 (s, 1H, H-10); 7,19 (s, 1H, H-5); 7,21-7,25 (m, 1H, H-6'); 7,55 (d, *J* = 7Hz, 1H, H-4'); 7,78 (s, 1H, -C=C-H); 8,24 (s, 1H, H-9); 9,07 (s, 1H, NH). Isòmer *trans*.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 4,38-4,45 (m, 4H, CH₂-O (x2)); 6,80-6,90 (m, 2H, H-7', H-5'); 7,23 (m, 1H, H-10); 7,31 (t, *J* = 7Hz, 1H, H-6'); 7,52 (s, 1H, H-5); 7,88 (d, *J* = 8Hz, 1H, H-4'); 8,33 (s, 1H, H-9); 9,30 (ba, 1H, NH). Isòmer *cis*.

Preparació d'1-metoxi-4-fenoxibenzè (53)



Procediment

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 4-metoxifenol (**54**) (0,316 g, 2,548 mmol, 1 eq), el bromobenzè (**55**) (0,268 mL, d = 1,492 g/mL, 2,548 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi anhidre (0,830 g, 2,548 mmol, 1 eq), l'ACHN i el CuBr (quantitat catalítica) dissolts en 10 mL de DMF. El matràs es tanca i la mescla es deixa reaccionar amb agitació a 140 ± 10 °C durant 24 hores. Passat aquest temps, s'observa en el control de reacció per cromatografia de capa fina la formació d'una nova taca.

Final de reacció i purificació

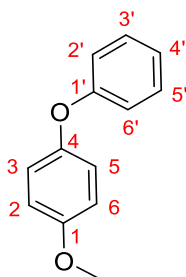
S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 x 15 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. El producte final obtingut és un semisòlid taronja que no es purifica sinó que s'utilitza per dur a terme l'etapa següent.

Massa teòrica: 0,510 g

Massa obtinguda: 0,389 g

Rendiment: 76%

Dades analítiques

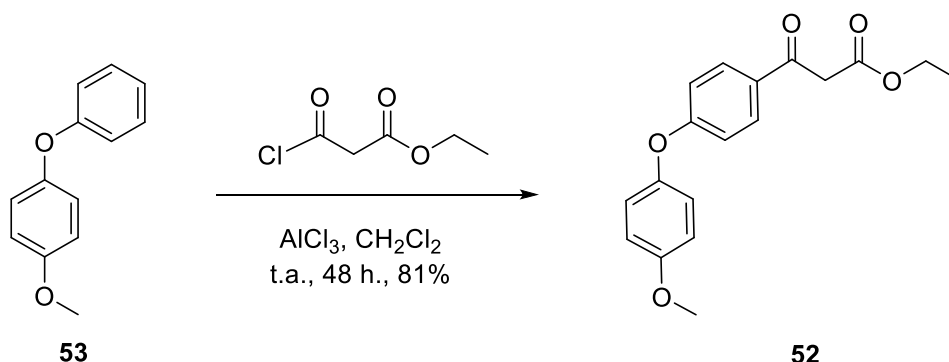


R_f (Hexà/AcOEt (9:1)): 0,62

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 3,81 (s, 3H, CH₃-O-); 6,87 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-2, H-6); 6,95 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-2', H-6'); 6,98 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-3, H-5); 7,01 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-4'); 7,29 (t, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-3', H-5').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 55,6 (CH₃); 114,9 (CH, C-2, C-6); 117,6 (CH, C-2', C-6'); 120,8 (CH, C-3, C-5); 122,4 (CH, C-4'); 129,6 (CH, C-3', C-5'); 150,1 (C, C-4); 155,9 (C, C-1); 158,5 (C, C-1').

Preparació de 3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)-3-oxopropanoat d'etil (52)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi afegeix l'1-metoxi-4-fenoxibenzè (**53**) de partida (0,269 g, 1,343 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 el clorur del monomalonat d'etil (0,172 mL, d = 1,176 g/mL, 1,343 mmol, 1 eq) i el triclorur d'alumini (0,213 g, 1,612 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient i sota agitació constant durant 48 hores.

Final de reacció

S'afegeix gel i aigua destil·lada al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques resultants s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

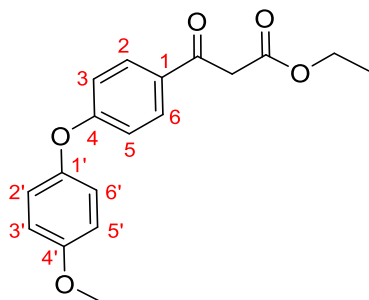
El producte obtingut **52** és un semisòlid marró que no es purifica sinó que s'utilitza per dur a terme l'etapa següent.

Massa teòrica: 0,422 g

Massa obtinguda: 0,340 g

Rendiment: 81%

Dades analítiques

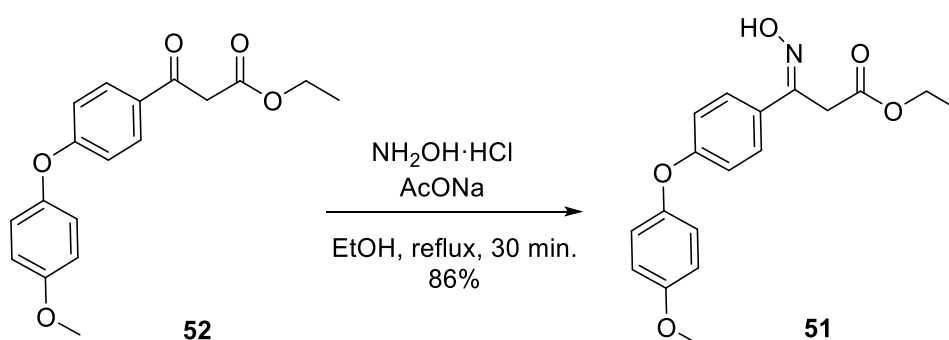


R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,41

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,28 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H, CH₃); 3,36 (s, 2H, CH₂-CO); 3,80 (s, 3H, CH₃); 4,22 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H, CH₂-O-); 6,88 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,93 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-3, H-5); 6,98 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,29 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-2, H-6).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 14,1 (CH₃); 41,6 (CH₂, CH₂-CO-); 55,6 (CH₃, CH₃-O-); 61,8 (CH₂-O-); 114,5 (CH, C-3', C-5'); 117,6 (CH, C-3, C-5); 120,8 (CH, C-2', C-6'); 129,6 (CH, C-2, C-6); 129,9 (C, C-1); 142,3 (C, C-1'); 150,2 (C, C-4'); 158,2 (C, C-4); 166,2 (C, COO-); 191,4 (C, CO).

Preparació de 3-(hidroxiimino)-3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)propanoat d'etil (51)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el producte de partida **52** (0,100 g, 0,318 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'etanol. A continuació, s'hi afegeix la hidroxilamina clorhidrat (0,026 g, 0,382 mmol, 1,2 eq) i un excés d'acetat sòdic (0,200 g). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la temperatura de reflux, durant 30 minuts.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'hi addicionen 20 mL d'aigua al cru de reacció i s'extreu amb CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

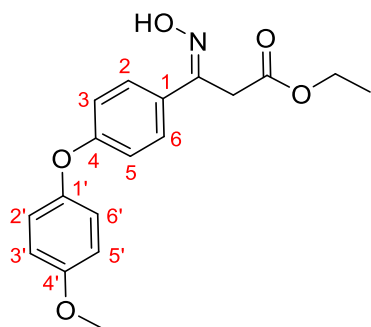
El producte obtingut **51** és un semisòlid marró que no es purifica sinó que s'utilitza per dur a terme l'etapa següent.

Massa teòrica: 0,105 g

Massa obtinguda: 0,090 g

Rendiment: 86%

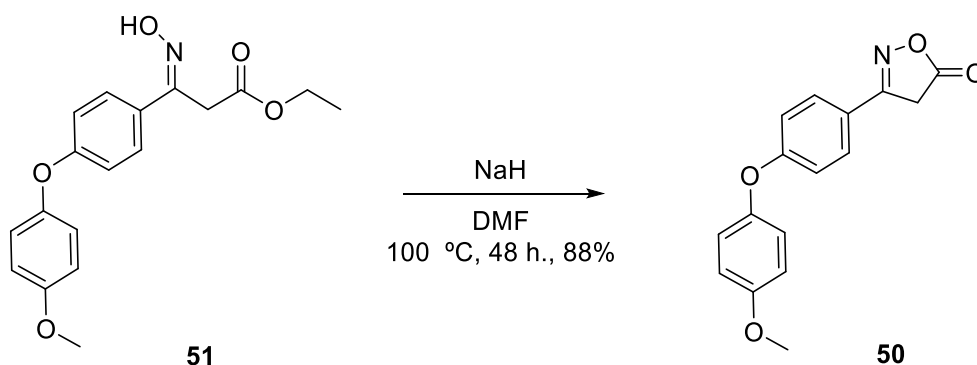
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (9:1)): 0,11

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 1,28 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H, CH₃); 3,36 (s, 2H, CH₂-CO); 3,81 (s, 3H, CH₃-O-); 4,21 (q, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH₂-O-); 6,88 (d, $J = 8$ Hz, 2H, C-3', C-5'); 6,95 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H-3, H-5); 6,98 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,30 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H-2, H-6).

Preparació de 3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)isoxazol-5(4H)-ona (50)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi addiciona el producte de partida **51** obtingut en l'etapa anterior (0,493 g, 1,497 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF i l'NaH (0,043 g, 1,796 mmol, 1,2 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i proveint el matràs d'un refrigerant de reflux, a 100 ± 10 °C durant 48 hores.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb èter etílic (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i es renten diverses vegades amb aigua per tal d'eliminar l'excés de DMF. A continuació, s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

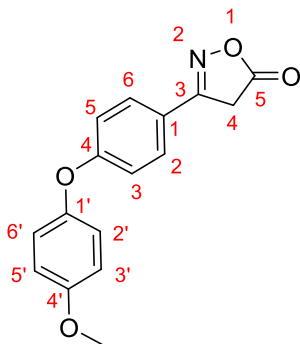
El producte final **50**, un semisòlid groguenc, no es purifica sinó que s'utilitza directament per seguir amb la seqüència sintètica.

Massa teòrica: 0,424 g

Massa obtinguda: 0,372 g

Rendiment: 88%

Dades analítiques

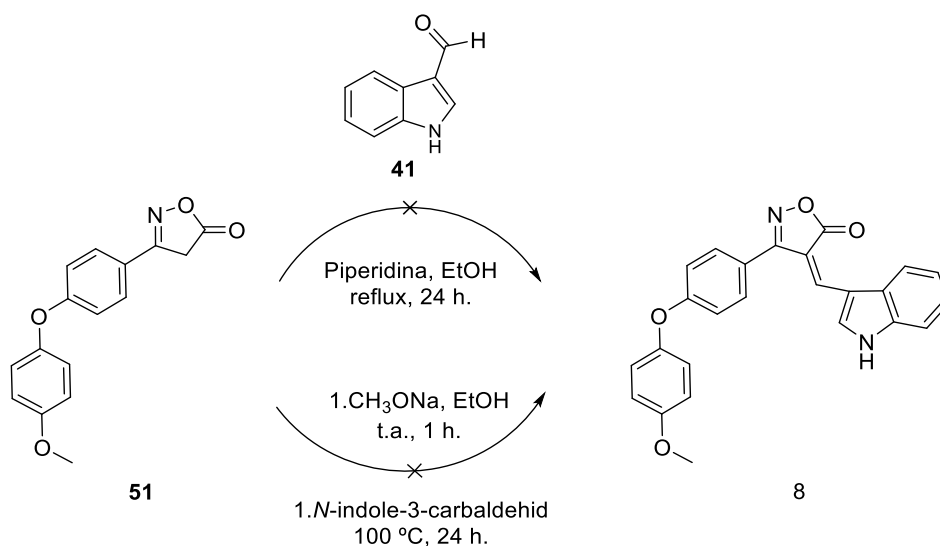


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,88

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 3,78 (s, 2H, CH₂-); 3,81 (s, 3H, CH₃-O-); 6,88 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,94 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-3, H-5); 6,98 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,30 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-2, H-6).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 31,0 (CH₂-, CH₂-CO); 55,6 (CH₃-O-); 114,9 (CH, C-3', C-5'); 117,6 (CH, C-3, C-5); 120,9 (CH, C-2', C-6'); 122,5 (C, C-1); 129,6 (CH, C-2, C-6); 150,2 (C, C-1'); 155,9 (C-, C-4'); 158,6 (C, C-4).

Preparació de 4-((1*H*-indol-3-il)metilen)-3-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)isoxazole-5(4*H*)-ona (**8**)



Procediment

Condicions a):

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi addiciona l'*N*-indole-3-carbaldehid (**41**) (0,077 g, 0,530 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de MeOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix l'isoxazolona **51** (0,150 g, 0,530 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la temperatura de reflux, durant 24 hores. Es disposa un tub de CaCl₂ al cap damunt del refrigerant per evitar l'entrada d'humitat.

Condicions b):

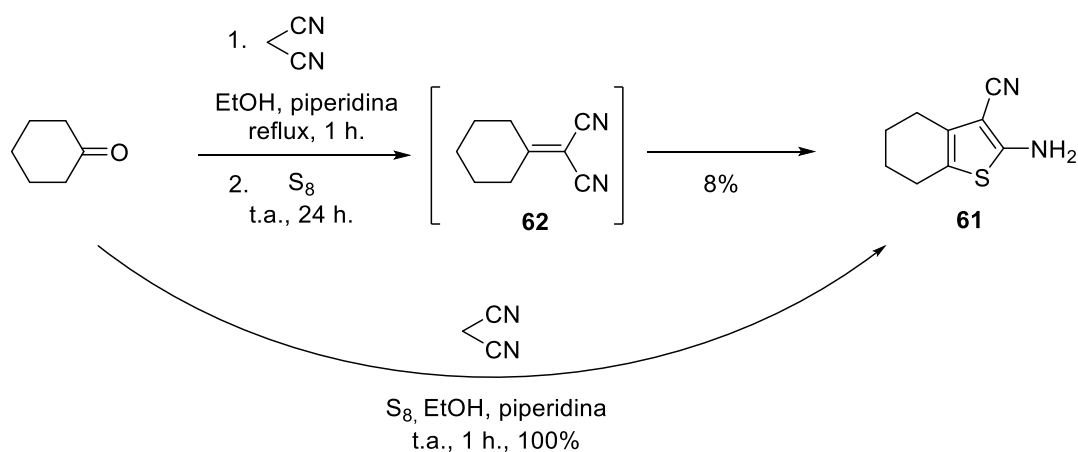
A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'hi addiciona l'isoxazolona de partida **51** (0,150 g, 0,530 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL d'etanol i el metòxid sòdic (0,034 g, 0,636 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 1 hora. A continuació, s'hi afegeix el carbaldehid **41** (0,077 g, 0,530 mmol, 1 eq) i la mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i proveint el matràs d'un refrigerant de reflux, a 100 ± 10 °C durant 24 hores.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'hi addicionen 20 mL d'aigua i s'acidifica el pH amb una solució aquosa d'HCl 2N (2 mL). Es realitza una extracció amb CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Cap de les condicions assajades permet l'obtenció del producte final esperat, sinó que, com mostra l'espectre d'RMN-¹H, el producte obtingut correspon al producte de partida **51**.

Preparació de 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carbonitril (**61**)



Condicions a):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el malononitril (0,355 g, 5,374 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix la ciclohexanona (0,557 mL, d = 0,947 g/mL, 5,374 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la temperatura de reflux, durant 1 hora. Es col·loca un tub de CaCl₂ al cap damunt del refrigerant per evitar l'entrada d'humitat. Passat aquest temps, la reacció es deixa temperar i s'afegeix el S₈ (0,517 g, 16,122 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i a temperatura ambient, durant 24 hores.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que 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. El producte esperat **61** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid cristal·lí rogenc.

Massa teòrica: 0,958 g

Massa obtinguda: 0,076 g

Rendiment: 8%

Condicions b):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix el malononitril (0,337 g, 5,101 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix la ciclohexanona (0,529 mL, d = 0,947 g/mL, 5,101 mmol, 1 eq) i el S₈ (0,491 g, 15,303 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 24 hores.

Es repeteix la reacció mantenint el mateix procediment, però deixant-la només 1 h. Disminuint el temps de reacció obtenim el producte esperat i evitem la formació de productes secundaris no desitjats.

Per tal d'optimitzar el procés, es realitza la mateixa reacció utilitzant microones i ultrasons, reduint a 1 i 15 minuts, respectivament, el temps de reacció. En ambdós casos s'obté el producte desitjat **61** sense veure's gairebé reduïts els rendiments.

	Reactius	Quantitat	Equivalents	Densitat
Ultrasons	Malononitril	0,064 g (0,968 mmol)	1 eq	-
	Ciclohexanona	0,100 mL (0,968 mmol)	1 eq	0,947 g/mL
	S ₈	0,093 g (2,904 mmol)	3 eq	-
Microones	Malononitril	0,191 g (2,894 mmol)	1 eq	-
	Ciclohexanona	0,300 mL (2,894 mmol)	1 eq	0,947 g/mL
	S ₈	0,278 g (8,682 mmol)	3 eq	-

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

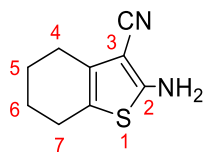
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash®. El producte esperat **61** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid cristal·lí rogenc.

Massa teòrica: 0,909 g

Massa obtinguda: 0,909 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,78

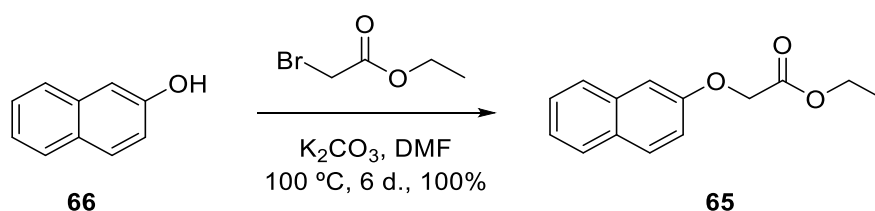
Pf: 110-112 °C (Hexà/Acetats d'etil)

E. M. (ESI(+)): Calculat per a C₉H₁₁N₂S: 179,0565. Trobat :179,0629.

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,77-1,81 (m, 4H, H-5, H-6); 2,47-2,51 (m, 4H, H-4, H-7); 4,61 (ba, 2H, NH₂).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 21,0 (CH₂, C-4); 21,9 (CH₂, C-5); 22,0 (CH₂, C-6); 22,7 (CH₂, C-7); 87,2 (C, C-3); 116,2 (C, C≡); 120,7 (C, C-3a); 131,9 (C, C-7a); 160,0 (C, C-2).

Preparació de 2-(naftalen-2-iloxi)acetat d'etil (65)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi addiciona el β-naftol (**66**) (1,000 g, 6,936 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF i el carbonat de potassi anhidre (1,917 g, 13,872 mmol, 2 eq). La mescla es refreda amb un bany extern de gel i aigua i, a continuació, s'hi afegeix el 2-bromoacetat d'etil (0,923 mL, d = 1,506 g/mL, 8,327 mmol, 1,2 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i proveint el matràs d'un refrigerant de reflux, a 100 ± 10 °C durant 6 dies.

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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

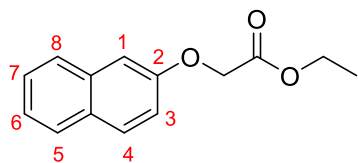
L'espectre d'RMN-¹H del producte obtingut, un sòlid cristal·lí de color taronja, confirma l'estructura desitjada **65** amb elevada puresa, de manera que no es procedeix a la purificació del producte sinó que s'utilitzarà per dur a terme la següent etapa de síntesi.

Massa teòrica: 1,611 g

Massa obtinguda: 1,611 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques



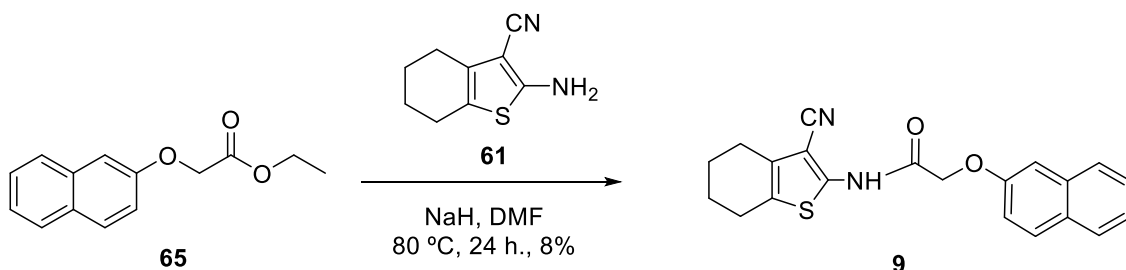
R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,62

Pf: 45-47 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,31 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH₃-); 4,29 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂-O-); 4,74 (s, 2H, CH₂-O-); 7,08 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-3); 7,24 (s, 1H, H-1); 7,36 (t, *J* = 7 Hz, 1H, H-7); 7,45 (t, *J* = 7 Hz, 1H, H-6); 7,73 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-4); 7,78 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-5, H-8).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 14,2 (CH₃-); 61,4 (CH₂, CH₂-O-); 65,5 (CH₂, CH₂-O- (x2)); 107,1 (CH, C-1); 118,6 (CH, C-3); 126,5 (CH, C-6); 126,9 (CH, C-7); 127,0 (CH, C-8); 127,7 (CH, C-5); 129,4 (C, C-8a); 129,7 (CH, C-5); 134,3 (C, C-4a); 155,8 (C, C-2); 168,9 (C, C=O).

Preparació d'*N*-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-2-il)-2-(naftalen-2-iloxi)acetamida (9)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi addiciona l'amina de partida **61** (0,110 g, 0,620 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL de DMF i l'NaH (0,018 g, 0,744 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix l'èster **65** (0,144 g, 0,620 mmol, 1 eq) i la mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a 80 °C ± 10 °C durant 24 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 amb aigua destil·lada (3 x 20 mL). La fase orgànica obtinguda s'asseca sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al sequedat.

Purificació

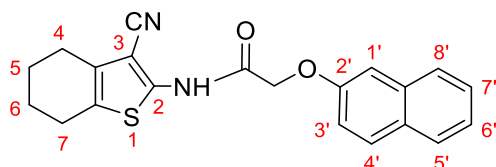
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **9** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (85:15) i s'obté un sòlid de color groc.

Massa teòrica: 0,225 g

Massa obtinguda: 0,017 g

Rendiment: 8%

Dades analítiques



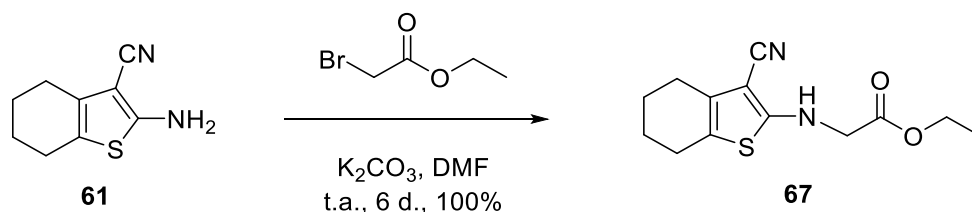
R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,82

Pf: 185-187 °C (Hexà/Acetats d'etil)

EM, ESI (+) m/z: Calculat per a C₂₁H₁₉N₂O₂S: 363,1167. Trobat: 363,0722.

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,83-1,86 (m, 4H, H-5, H-6); 2,61-2,66 (m, 4H, H-4, H-7); 4,84 (s, 2H, CH₂-O-); 7,20 (s, 1H, H-1'); 7,30 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-3'); 7,41 (t, *J* = 7 Hz, 1H, H-7'); 7,49 (t, *J* = 7 Hz, 1H, H-6'); 7,76-7,85 (m, 3H, H-4', H-5', H-8'); 9,38 (ba, 1H, NH).

Preparació de (3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-2-il)glicinat d'etil (**67**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi addiciona l'amina de partida **61** (0,400 g, 2,244 mmol, 1 eq) dissolta en 15 mL de DMF i el carbonat de potassi anhidre (0,620 g, 4,488 mmol, 2 eq). La mescla es refreda amb un bany extern de gel i aigua i, a continuació, s'hi afegeix el 2-bromoacetat d'etil (0,299 mL, d = 1,506 g/mL, 2,693 mmol, 1,2 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 48 hores.

Passat aquest temps, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i s'observa que no s'ha format totalment el producte. Per tant, es refreda de nou la reacció a 0 °C i s'hi afegeixen 1,2 equivalents més de 2-bromoacetat d'etil. La mescla resultant es deixa reaccionar, a temperatura ambient i agitació constant, durant 4 dies.

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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

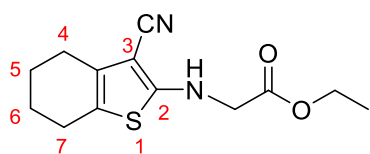
L'espectre d'RMN-¹H confirma l'estructura desitjada **67** amb elevada puresa, de manera que no es procedeix a la purificació del producte sinó que s'utilitzarà per dur a terme la següent etapa de síntesi. El producte obtingut és un semisòlid de color marró.

Massa teòrica: 0,593 g

Massa obtinguda: 0,593 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques

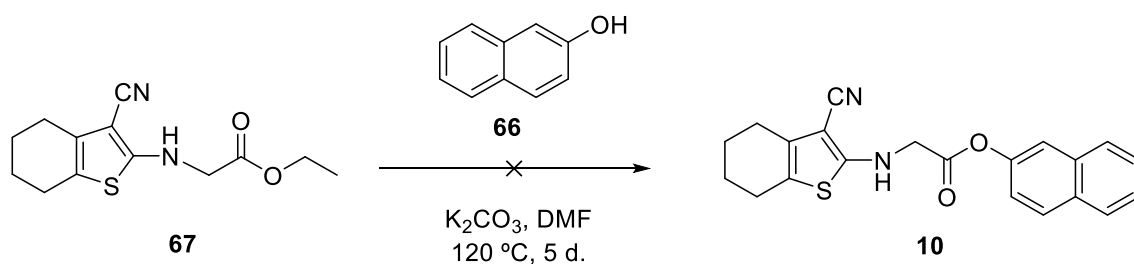


R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,17

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,28 (t, *J* = 7 Hz, 3H, CH₃-); 1,80-1,84 (m, 4H, H-5, H-6); 2,46-2,52 (m, 4H, H-4, H-7); 2,65 (d, 2H, CH₂-N-); 4,23 (q, *J* = 7 Hz, 2H, CH₂-O-).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 22,0 (CH₂, C-4); 23,0 (CH₂, C-5); 23,9 (CH₂, C-6); 27,5 (CH₂, C-7); 97,2 (C, C-3); 114,4 (C, C≡N); 129,3 (C, C-7a); 131,3 (C, C-3a); 146,3 (C, C-2); 163,3 (C, C=O).

Preparació de (3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-2-il)glicinat de 2-naftil (**10**)



Procediment

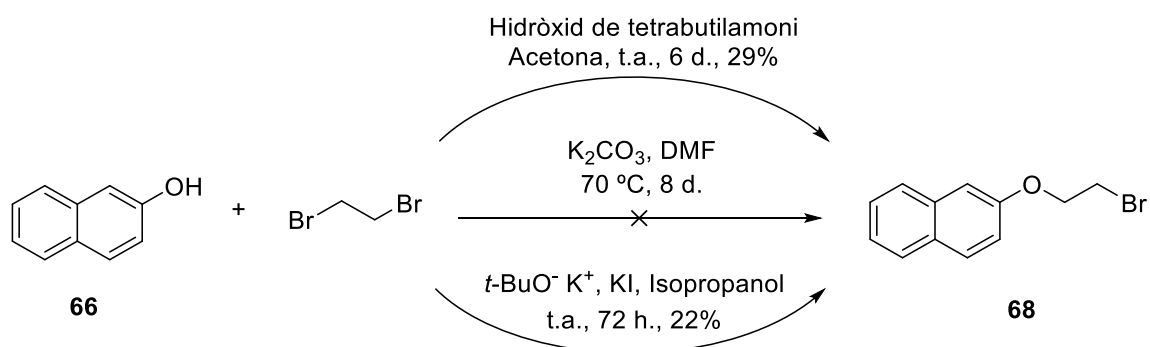
A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'èster de partida **67** (0,125 g, 0,473 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,131 g, 0,946 mmol, 2 eq) i el β -naftol (**66**) (0,068 g, 0,473 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a 120 ± 10 °C durant 5 dies.

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 s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

L'espectre d'RMN de protó mostra que no s'obté el producte final esperat **10** sinó que es tracta del producte de partida **67**.

Preparació de 2-(2-bromoetoxi)naftalè (**68**)



Condicions a):

Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix el β -naftol (**66**) (0,200 g, 1,387 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL d'acetona i l'hidròxid de tetrabutilamoni (1,332 g, 1,664 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix el dibromoetà (0,239 mL, $d = 2,18$ g/mL, 2,774 mmol, 2 eq) i es deixa reaccionar durant 6 dies a temperatura ambient.

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 amb aigua destil·lada (3 x 20 mL). La fase orgànica obtinguda s'asseca sobre Na_2SO_4 anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al sequedat.

El producte no es purifica, ja que s'assagen altres condicions de reacció, tal i com es mostra a l'esquema anterior, per tal d'obtenir el producte final esperat **68**.

Massa teòrica: 0,348 g

Massa obtinguda: 0,100 g

Rendiment: 29%

Condicions b):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el β -naftol (**66**) (0,500 g, 3,468 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,719 g, 5,202 mmol, 1,5 eq) i el dibromoetà (0,598 mL, $d = 2,18$ g/mL, 6,936 mmol, 2eq). La mescla s'escalfa a $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durant 48 hores.

A continuació, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i s'observa només el producte de partida. Per tant, s'hi afegeixen dos equivalents més de l'agent alquilant i es deixa reaccionar durant 6 dies.

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 amb aigua destil·lada (3 x 20 mL). La fase orgànica obtinguda s'asseca sobre Na_2SO_4 anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al sequedat.

No s'observa el producte final esperat **68**.

Condicions c):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix el β -naftol (**66**) (0,500 g, 3,468 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL d'isopropanol i el *tert*-butòxid potàssic (0,584 g, 5,202 mmol, 1,5 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix el dibromoetà (0,598 mL, $d = 2,18$ g/mL, 6,936 mmol, 2eq) i KI (quantitat catalítica) i es deixa reaccionar durant 72 hores a temperatura ambient.

S'afegeixen 1 mL de 1,2-dibromoetà i una punta d'espàtula de KI al cru de reacció, a les 24 i 48 hores.

Final de reacció

S'evapora l'isopropanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

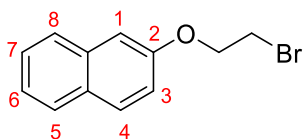
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **68** elueix amb una polaritat d'hexà 100% i s'obté un sòlid cristal·lí marró.

Massa teòrica: 0,871 g

Massa obtinguda: 0,189 g

Rendiment: 22%

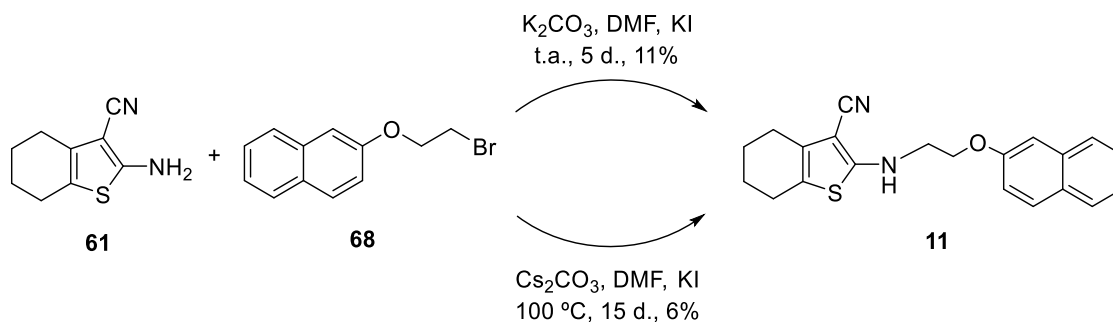
Dades analítiques



R_f (hexà/AcOEt 8:2): 0,73

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 3,93 (t, *J* = 7 Hz, 2H, CH₂-Br); 4,44 (t, *J* = 7 Hz, 2H, CH₂-O-); 7,15 (s, 1H, H-1); 7,17 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-3); 7,36 (t, *J* = 7 Hz, 1H, H-6'); 7,43 (t, *J* = 7 Hz, 1H, H-7); 7,72-7,78 (m, 3H, H-4, H-5, H-8).

Preparació de 2-((2-naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carbonitril (**11**)



Condicions a):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix l'amina de partida **61** (0,071 g, 0,398 mmol, 1 eq) dissolta en 15 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,110 g, 0,796 mmol, 2 eq), KI (quantitat catalítica) i el 2-bromoetoxinaftalè (**68**) (0,100 g, 0,398 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, durant 5 dies.

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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que 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_f. El producte esperat **11** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid groc.

Massa teòrica: 0,139 g

Massa obtinguda: 0,015 g

Rendiment: 11%

Condicions b):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi addiciona l'amina de partida **61** (0,028 g, 0,157 mmol, 1 eq) dissolta en 15 mL de DMF i l'NaH (0,004 g, 0,173 mmol, 1,1 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix el 2-bromoetoxinaftalè (**68**) (0,040 g, 0,157 mmol, 1 eq) i KI (quantitat catalítica), proveint el matràs d'un refrigerant, i es deixa reaccionar a 60 ± 10 °C durant 2 dies.

S'observa que encara queda producte de partida. Per tal d'afavorir la reacció, s'augmenta la temperatura a 100 °C i s'afegeix una punta d'espàtula de carbonat de cesi. Es mantenen aquestes condicions durant 13 dies.

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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

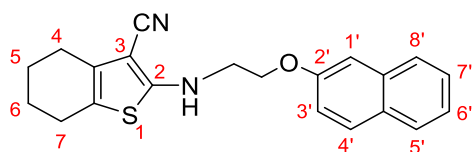
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **11** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid groguenc.

Massa teòrica: 0,056 g

Massa obtinguda: 0,003 g

Rendiment: 5%

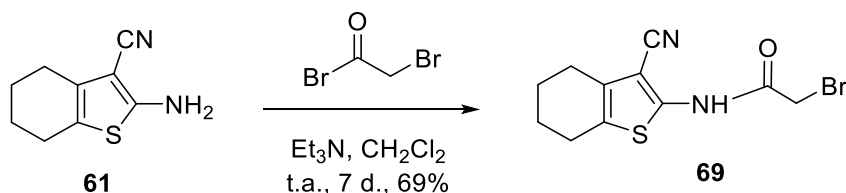
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,35

RMN- ^1H (CDCl $_3$, 400 MHz), δ (ppm): 1,77-1,82 (m, 4H, H-5, H-6); 2,50 (s, 4H, H-4, H-7); 3,71 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, CH $_2$ -N); 4,42 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, CH $_2$ -O-); 7,14 (s, 1H, H-1'); 7,18 (d, $J = 7$ Hz, 1H, H-3'); 7,38 (t, $J = 7$ Hz, 1H, H-7'); 7,40 (t, $J = 7$ Hz, 1H, H-6'); 7,79-7,83 (m, 3H, H-4', H-5', H-8').

Preparació de 2-bromo-*N*-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*b*]tiofen-2-il)acetamida (69)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi afegeix el benzotiofè de partida **61** (0,400 g, 2,244 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de diclorometà i la trietilamina (0,378 mL, $d = 0,726$ g/mL, 2,693 mmol, 1,2 eq). A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,235 mL, $d = 2,317$ g/mL, 2,693 mmol, 1,2 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

A continuació, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i encara s'observa la taca corresponent al producte inicial. Per tant, es refreda de nou la reacció a 0 °C, s'hi afegeix més bromur de bromoacetil (0,235 mL, 2,693 mmol), i es deixa reaccionar a temperatura ambient i agitació constant durant 24 hores més. Passat aquest temps, es repeteix el procediment i es deixa reaccionar durant 5 dies.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (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.

Purificació

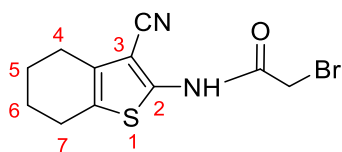
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **69** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (85:15) i s'obté un sòlid marró.

Massa teòrica: 0,671 g

Massa obtinguda: 0,465 g

Rendiment: 69%

Dades analítiques



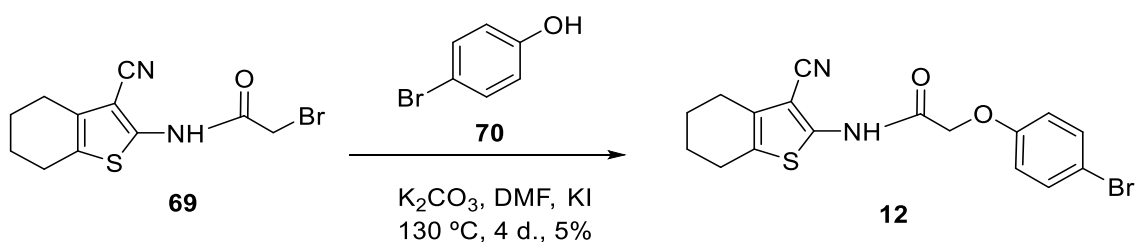
R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,54

Pf: 188-190 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,82-1,85 (m, 4H, H-5, H-6); 2,60-2,66 (m, 4H, H-4, H-7); 4,08 (s, 2H, CH₂-CO); 9,29 (ba, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 22,0 (CH₂, C-4); 23,0 (CH₂, C-5); 23,9 (CH₂, C-6); 24,0 (CH₂, C-7); 27,5 (CH₂, CH₂Br); 94,2 (C, C-3); 114,4 (C, C≡N); 129,3 (C, C-7a); 131,3 (C, C-3a); 146,3 (C, C-2); 163,3 (C, C=O).

Preparació de 2-(4-bromofenoxi)-N-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]tiofen-2-yl)acetamida (**12**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el 4-bromofenol (**70**) (0,112 g, 0,645 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF i el carbonat de potassi anhidre (0,139 g, 1,290 mmol, 2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix l'amida **69** (0,193 g, 0,645 mmol, 1 eq) i KI (quantitat catalítica). La mescla resultat es deixa reaccionar, a 130 °C i sota agitació constant, durant 4 dies.

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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

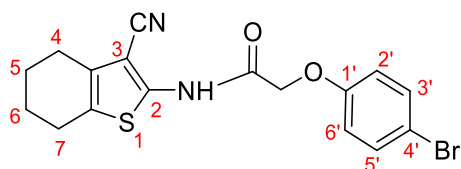
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **12** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid groc.

Massa teòrica: 0,252 g

Massa obtinguda: 0,012 g

Rendiment: 5%

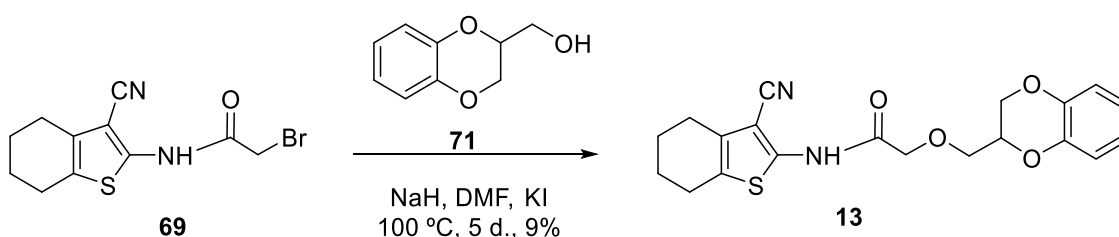
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,13

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,81-1,90 (m, 4H, H-5, H-6); 2,78 (t, *J* = 5 Hz, 2H, H-7); 2,97 (t, *J* = 5 Hz, 2H, H-4); 5,01 (s, 2H, CH₂-CO); 6,89 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,42 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H-3', H-5').

Preparació d'*N*-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*b*]tiofen-2-il)-2-((2,3-dihidrobenzo[*b*][1,4]dioxin-2-il)metoxi)acetamida (**13**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi addiciona l'alcohol **71** (0,064 g, 0,384 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF i l'NaH (0,011 g, 0,461 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix l'amida **69** (0,115 g, 0,384 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, amb agitació constant, a 100 ± 10 °C durant 5 dies.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

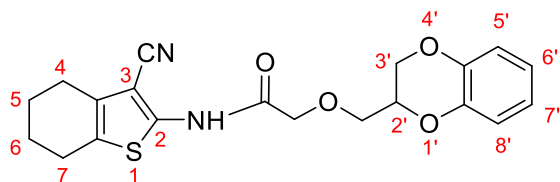
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **13** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté un sòlid taronja.

Massa teòrica: 0,148 g

Massa obtinguda: 0,013 g

Rendiment: 9%

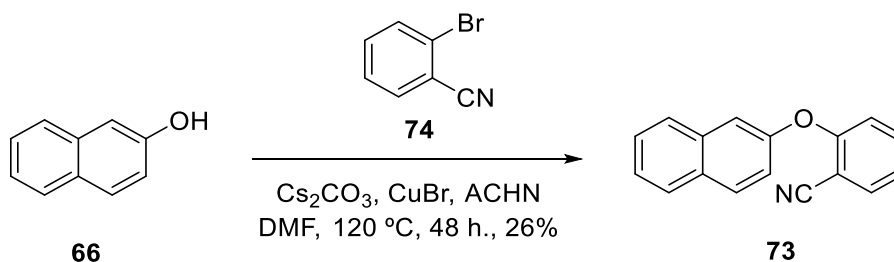
Dades analítiques



R_f (hexà/AcOEt (5:5)): 0,54

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,81-1,84 (m, 4H, H-5, H-6); 2,57-2,64 (m, 4H, H-4, H-7); 3,58 (s, 2H, CH₂-CO); 3,87 (sc, 2H, CH₂-O-); 4,11 (sc, 2H, CH₂-O-); 4,30 (sc, 1H, H-2'); 6,85-6,87 (m, 4H, H-5', H-6', H-7', H-8'); 9,50 (ba, 1H, NH-).

Preparació de 2-(naftalen-2-iloxi)benzoniрил (73)



Procediment

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 β-naftol (**66**) (0,500 g, 3,468 mmol, 1,2 eq), el 2-bromobenzoniрил (**74**) (0,526 g, 2,890 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (1,130 g, 3,468 mmol, 1,2 eq), el ACHN i el CuBr (quantitat catalítica) en el si de DMF (10 mL). El matràs es tanca i la mescla es deixa

reaccionar, amb agitació constant, a 120 ± 10 °C durant 48 hores. Passat aquest temps s'observa en el control de reacció la formació d'una nova taca.

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 amb aigua destil·lada (3 x 20 mL). La fase orgànica obtinguda s'asseca sobre Na_2SO_4 anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

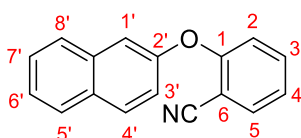
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **73** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (90:10) i s'obté un semisòlid de color groc.

Massa teòrica: 0,851 g

Massa obtinguda: 0,225 g

Rendiment: 26%

Dades analítiques

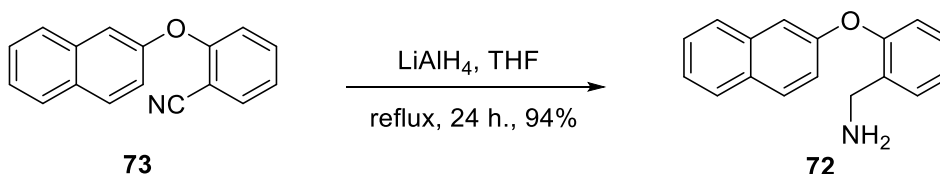


R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,55

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 6,92 (d, $J = 7$ Hz, 1H, H-3'); 7,16 (t, $J = 7$ Hz, 1H, H-7'); 7,38 (t, $J = 7$ Hz, 1H, H-6'); 7,42-7,48 (m, 3H, H-4, H-6, H-4'); 7,65 (d, $J = 7$ Hz, 1H, H-3); 7,79 (d, $J = 7$ Hz, 1H, H-1'); 7,83 (d, $J = 7$ Hz, 1H, H-8'); 7,91 (d, $J = 7$ Hz, 1H, H-5').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 103,9 (C, C-2); 116,1 (C, CN); 116,2 (CH, C-3'); 117,3 (CH, C-1'); 120,1 (CH, C-6); 123,2 (CH, C-6'); 125,6 (CH, C-4); 126,9 (CH, C-8'); 127,4 (CH, C-7'); 127,9 (CH, C-5'); 130,5 (CH, C-4'); 131,0 (C, C-4a); 133,9 (CH, C-5); 134,2 (C, C-8'a); 134,4 (CH, C-3); 152,8 (C, C-2'); 159,7 (C, C-1).

Preparació de (2-(naftalen-2-iloxi)fenil)metilenamina (72)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi introdueix el producte de partida **73** (0,225 g, 0,917 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de THF i, a continuació, el LiAlH₄ (excés), mantenint el matràs en atmosfera inert (argó). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i a temperatura de reflux, durant 24 hores.

Final de reacció i purificació

S'afegeixen gotes d'aigua lentament al cru de reacció i, quan el LiAlH₄ està totalment desactivat, s'hi afegeix el Na₂SO₄ anhidre. La mescla es filtra per gravetat amb paper de filtre i s'evapora el dissolvent a sequedat.

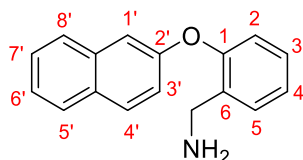
L'espectre d'RMN-¹H confirma l'estructura desitjada **72** amb elevada puresa, de manera que no es procedeix a la purificació del producte procedent de la reducció i es passa directament a la següent etapa de síntesi.

Massa teòrica: 0,229 g

Massa obtinguda: 0,215 g

Rendiment: 94%

Dades analítiques



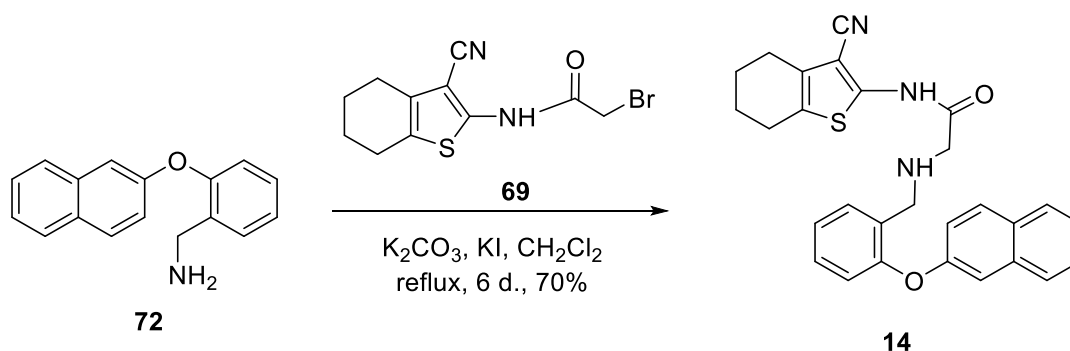
R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,08

Pf: 50-52 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 3,91 (s, 2H, CH₂-N-); 6,97 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4); 7,18 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-3'); 7,20 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-3); 7,25 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 7,38-7,42 (m, 3H, H-5, H-6', H-7'); 7,66 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-4'); 7,82 (m, 2H, H-5', H-8').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 42,0 (CH₂, CH₂-N-); 112,8 (CH, C-1'); 119,4 (CH, C-6); 119,6 (CH, C-3'); 124,3 (CH, C-6'); 124,7 (CH, C-4); 126,5 (C, C-4'a); 126,7 (CH, C-5); 127,1 (CH, C-3); 127,2 (CH, C-8'); 128,4 (CH, C-7'); 129,4 (CH, C-5'); 130,1 (CH, C-4'); 134,4 (C, C-8'a); 134,7 (C, C-2); 154,5 (C, C-1); 155,5 (C, C-2').

Preparació d'*N*-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-2-il)-2-((2-(naftalen-2-iloxi)benzil)amino)acetamida (**14**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el diarilèter de partida **72** (0,100 g, 0,401 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de diclorometà. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,083 g, 0,602 mmol, 1,5 eq), KI (quantitat catalítica) i l'amida **69** (0,120 g, 0,401 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura de reflux durant 6 dies.

Final de reacció

El cru de reacció es renta amb 20 mL d'aigua destil·lada. La fase orgànica s'asseca sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

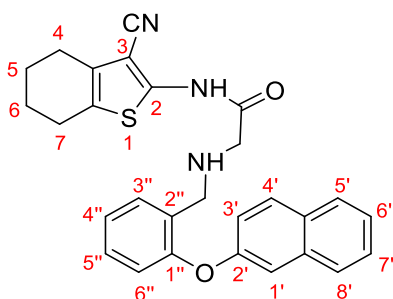
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **14** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (85:15) i s'obté un sòlid groc.

Massa teòrica: 0,188 g

Massa obtinguda: 0,131 g

Rendiment: 70%

Dades analítiques



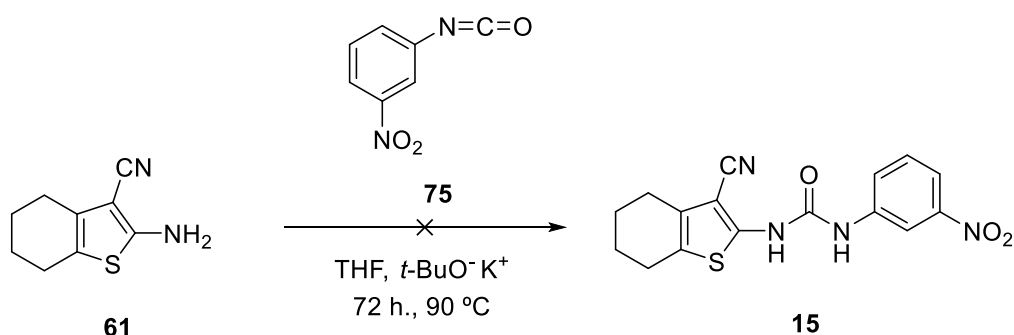
R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,81

EM, ESI (+) m/z: Calculat per a C₂₈H₂₆N₃O₂S 468,1746. Trobat 468,1766.

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,79-1,82 (m, 4H, H-5, H-6); 2,55 (m, 2H, H-7); 2,60 (m, 2H, H-4); 3,55 (s, 2H, CH₂-N); 3,97 (s, 2H, CH₂-Ar); 5,07 (s, 1H, NH-); 6,99 (dd, *J*₁ = 8, *J*₂ = 1,2 Hz, 1H, H-3'); 7,18-7,25 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-6''); 7,31 (dt, *J*₁ = 8, *J*₂ = 1,2 Hz, 1H, H-5''); 7,39 (dt, *J*₁ = 8, *J*₂ = 1,2 Hz, 1H, H-7''); 7,44 (dt, *J*₁ = 8, *J*₂ = 1,2 Hz, 1H, H-6'); 7,52 (dd, *J*₁ = 8, *J*₂ = 1,2 Hz, H-4'); 7,68 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-8); 7,80 (d, *J* = 8 Hz, H-5'); 7,83 (s, 1H, H-1').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 22,1 (CH₂, C-4); 23,0 (CH₂, C-5); 23,9 (CH₂, C-6, C-7); 54,0 (CH₂, CH₂-Ar); 57,9 (CH₂, CH₂-N); 94,0 (C, C-3); 113,2 (C, CN); 114,3 (CH, C-1); 119,3 (CH, C-6''); 119,4 (CH, C-3'); 123,3 (CH, C-4''); 123,5 (CH, C-6'); 126,4 (CH, C-8'); 127,0 (CH, C-C-5'); 128,3 (CH, C-3''); 129,0 (CC, C-4'a); 129,2 (C, C-2''); 129,4 (C, C-7a); 130,9 (CH, C-4', C-5'', C-7'); 133,2 (C, C-8'); 134,5 (C, C-3a); 146,2 (C, C-2); 154,3 (C, C-1''); 154,8 (C, C-2'); 168,2 (C, CO).

Preparació d'1-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-2-il)-3-(3-nitrofenil)urea (15)



Procediment

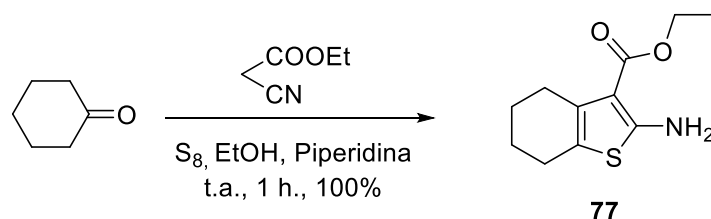
A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i refrigerant, es disposa l'amina de partida **61** (0,108 g, 0,606 mmol, 1 eq) dissolta en 20 mL de THF, el *terc*-butòxid potàssic (0,068 g, 0,606 mmol, 1 eq) i el 3-nitrofenilisocianat (**75**) (0,099 g, 0,606 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a 90 ± 10 °C durant 72 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 reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

L'espectre d'RMN-¹H confirma que no s'ha obtingut l'estructura desitjada **15**, sinó que s'obté el producte aromatitzat.

Preparació de 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (**77**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix el cianoacetat d'etil (0,542 mL, d = 1,063 g/mL, 5,094 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'etanol, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix la ciclohexanona (0,528 mL, d = 0,947 g/mL, 5,094 mmol, 1 eq) i el S₈ (0,490 g, 15,282 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 1 hora.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

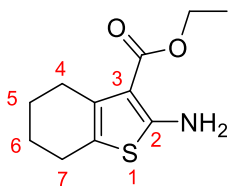
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **77** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid cristal·lí groc.

Massa teòrica: 1,148 g

Massa obtinguda: 1,148 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques

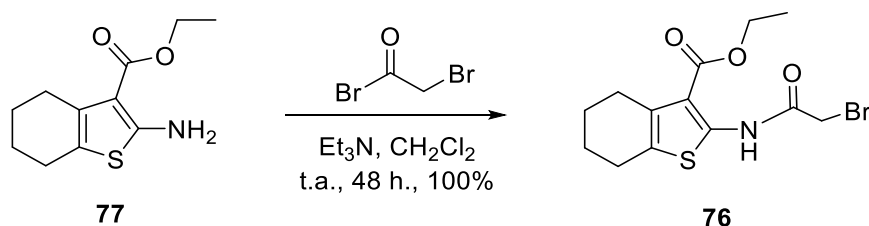


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,84

Pf: 86-88 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,33 (t, J = 7,2 Hz, 3H, CH₃-); 1,72-1,79 (m, 4H, H-5, H-6); 2,50 (t, J = 7 Hz, 2H, H-4); 2,70 (t, J = 7 Hz, 2H, H-7); 4,25 (q, J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-O-); 5,92 (ba, 2H, -NH₂).

Preparació de 2-(2-bromoacetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (76)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi afegeix l'èster de partida **77** (0,240 g, 1,065 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de diclorometà i la trietilamina (0,179 mL, d = 0,726 g/mL, 1,278 mmol, 1,2 eq). A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,110 mL, d = 2,317 g/mL, 1,278 mmol, 1,2 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

A continuació, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i s'observa que no s'ha format totalment el producte. Per tant, es refreda de nou la reacció a 0 °C, s'hi afegeix un equivalent de bromur de bromoacetil i, es deixa reaccionar a temperatura ambient i sota agitació constant durant 24 hores més.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (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.

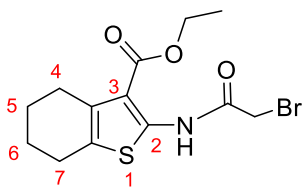
El producte obtingut **76**, un sòlid pulverulent taronja, presenta una puresa suficient per procedir amb la seqüència sintètica.

Massa teòrica: 0,369 g

Massa obtinguda: 0,369 g

Rendiment: 100%

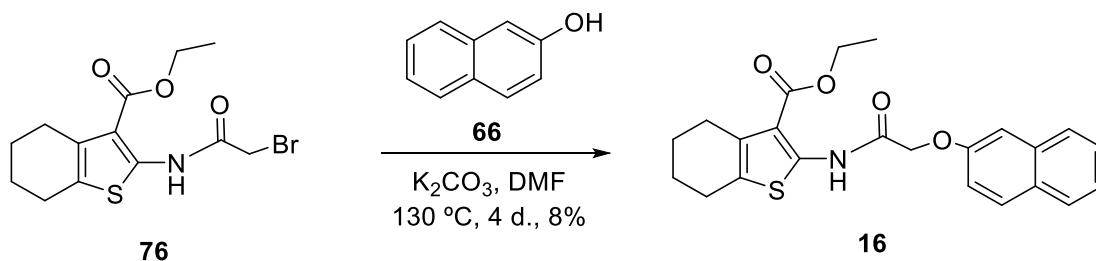
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,62

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,39 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH₃-); 1,78-1,81 (m, 4H, H-5, H-6); 2,66 (t, *J* = 7 Hz, 2H, H-4); 2,78 (t, *J* = 7 Hz, 2H, H-7); 4,07 (s, 2H, CH₂-Br); 4,36 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂-O-).

Preparació de 2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (16)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el β-naftol (**66**) (0,084 g, 0,581 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,160 g, 1,162 mmol, 2 eq), KI (quantitat catalítica) i l'èster de partida **76** (0,201 g, 0,581 mmol, 1 eq). La mescla s'escalfa a 130 ± 10 °C i es deixa reaccionar, sota agitació constant, durant 4 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 obtinguda s'asseca sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al sequedat.

Purificació

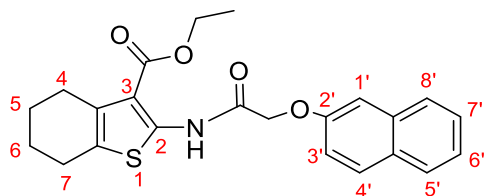
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **16** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (85:15) i s'obté un sòlid de color groc-taronja.

Massa teòrica: 0,238 g

Massa obtinguda: 0,020 g

Rendiment: 8%

Dades analítiques

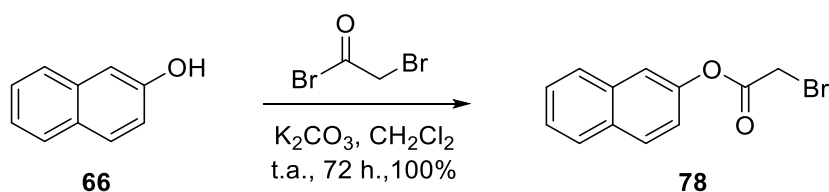


R_f (Hexà/AcOEt (7:3)): 0,72

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,37 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH₃-); 1,77-1,81 (m, 4H, H-5, H-6); 2,66 (t, *J* = 7 Hz, 2H, H-4); 2,78 (t, *J* = 7 Hz, 2H, H-7); 4,36 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂-O-); 4,83 (s, 2H, CH₂-O-); 7,20 (s, 1H, H-1'); 7,36 (d, *J* = 5 Hz, 1H, H-3'); 7,38 (t, *J* = 5 Hz, 1H, H-7'); 7,47 (t, *J* = 5 Hz, 1H, H-6'); 7,74-7,83 (m, 3H, H-4', H-5', H-8').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 14,4 (CH₃); 22,8 (CH₂, C-4); 24,4 (CH₂, C-5); 26,3 (CH₂, C-6); 29,7 (CH₂, C-7); 60,5 (CH₂, CH₂-O-(èster)); 67,2 (CH₂, CH₂-O-); 107,7 (CH, C-1'); 117,1 (C, C-3); 118,6 (CH, C-3'); 124,4 (CH, C-6'); 126,7 (CH, C-7'); 126,9 (CH, C-5'); 127,0 (C, C-7a); 127,3 (C, C-3a); 127,7 (CH, C-8'); 129,6 (C, C-8'a); 129,9 (CH, C-4'); 129,9 (C, C-4'a); 155,1 (C, C-2'); 165,4 (C, CO); 165,9 (C, CO); 173,1 (C, C-2).

Preparació de bromoacetat de 2-naftil (78)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi afegeix el β-naftol (**66**) (0,154 g, 1,068 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de diclorometà i el carbonat potàssic (0,177 g, 1,282 mmol, 1,2 eq). A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,112 mL, d = 2,317 g/mL, 1,282 mmol, 1,2 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

A continuació, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i encara s'observa la taca corresponent al producte inicial. Per tant, es refreda de nou la reacció

a 0 °C, s'hi afegeix un equivalent més de bromur de bromoacetil (0,112 mL, 1,282 mmol) i es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 48 hores més.

Final de reacció

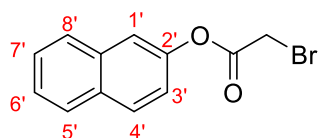
S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. S'obté un líquid oliós marró, corresponent al producte desitjat **78**, que presenta suficient grau de puresa per passar a la següent etapa de síntesi sense purificació prèvia.

Massa teòrica: 0,283 g

Massa obtinguda: 0,283 g

Rendiment: 100%

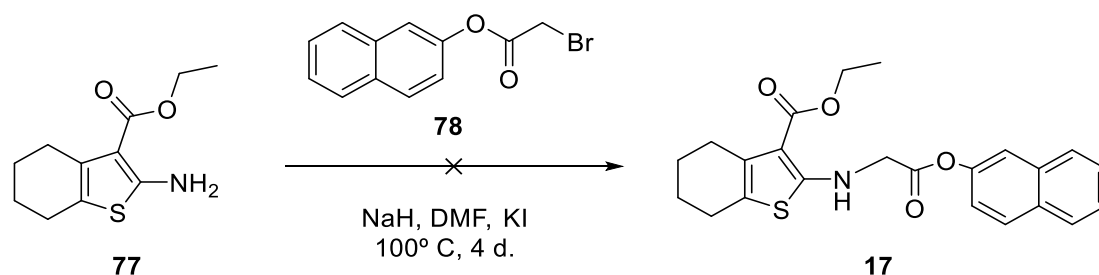
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (9:1)): 0,63

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 4,50 (s, 2H, CH₂-Br); 7,25 (d, 1H, H-3'); 7,50 (t, *J* = 7 Hz, 2H, H-6', H-7'); 7,61 (s, 1H, H-1'); 7,80-7,89 (m, 3H, H-4', H-5', H-8').

Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)2-oxoetil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (**17**)



Procediment

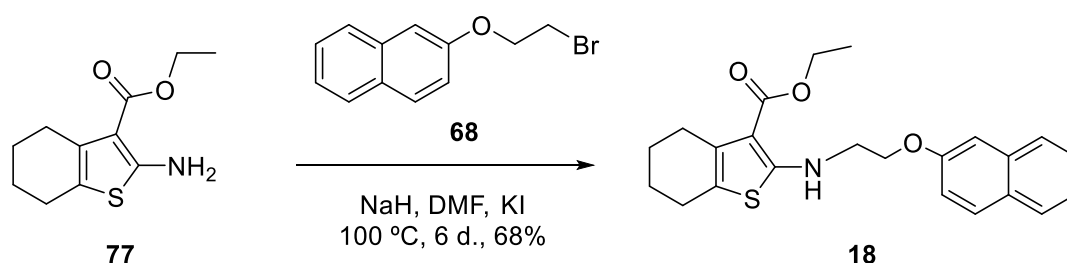
A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi addiciona l'èster de partida **77** (0,241 g, 1,067 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF i l'NaH (0,031 g, 1,280 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix el bromoacetat de 2-naftil (**78**)

(0,283 g, 1,067 mmol, 1 eq) i KI (quantitat catalítica). La mescla resultant es deixa reaccionar, sota agitació constant, a 100 ± 10 °C durant 4 dies.

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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa el producte final esperat **17** en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (**18**)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi addiciona l'èster de partida **77** (0,013 g, 0,056 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF i l'NaH (0,002 g, 0,067 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix el 2-bromoetoxinaftalè (**68**) (0,014 g, 0,056 mmol, 1 eq) i KI (quantitat catalítica). La mescla resultant es deixa reaccionar, sota agitació constant, a 100 ± 10 °C durant 6 dies.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

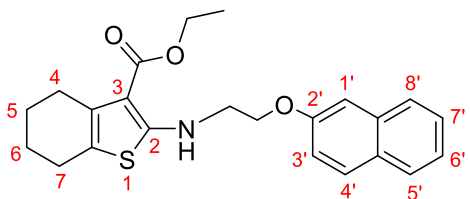
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **18** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (85:15) i s'obté un sòlid marró.

Massa teòrica: 0,022 g

Massa obtinguda: 0,015 g

Rendiment: 68%

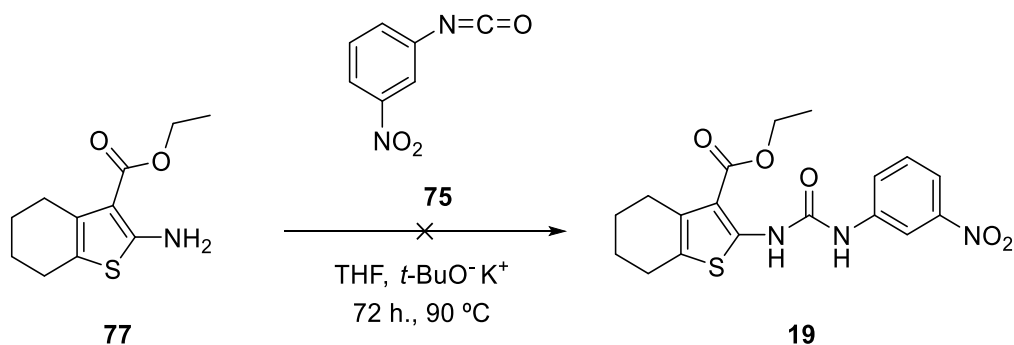
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,79

RMN- ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 1,37 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_3 -); 1,77-1,81 (m, 4H, H-5, H-6); 2,66 (t, $J = 7$ Hz, 2H, H-4); 2,78 (t, $J = 7$ Hz, 2H, H-7); 4,33 (t, $J = 5$ Hz, 2H, CH_2 -N-); 4,36 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2 -O-); 4,60 (t, $J = 5$ Hz, 2H, CH_2 -O-); 7,14 (s, 1H, H-1'); 7,18 (d, $J = 7$ Hz, 1H, H-3'); 7,35 (t, $J = 7$ Hz, 1H, H-7'); 7,45 (t, $J = 7$ Hz, 1H, H-6'); 7,72-7,79 (m, 3H, H-4', H-5', H-8'); 8,15 (s, 1H, NH).

Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (19)



Procediment

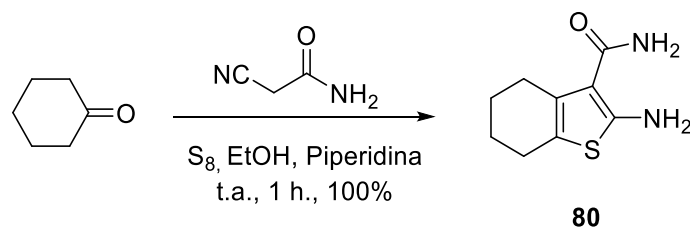
A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb refrigerant, es disposa l'èster de partida **77** (0,106 g, 0,470 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de THF, el *terc*-butòxid potàssic (0,053 g, 0,470 mmol, 1 eq) i el 3-nitrofenilisocianat (**75**) (0,077 g, 0,470 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a 90 ± 10 °C durant 72 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 reunides s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

El sòlid obtingut, tant per CCF com per espectre d'RMN de protó, es veu que correspon als productes de partida.

Preparació de 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofè-3-carboxamida (**80**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix la cianoacetamida (1,000 g, 11,893 mmol, 1 eq) dissolta en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix la ciclohexanona (1,233 mL, d = 0,947 g/mL, 11,893 mmol, 1 eq) i el S₈ (1,144 g, 35,679 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 1 hora.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

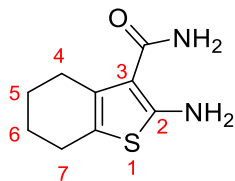
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **80** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (45:55) i s'obté un sòlid ataronjat.

Massa teòrica: 2,334 g

Massa obtinguda: 2,334 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques

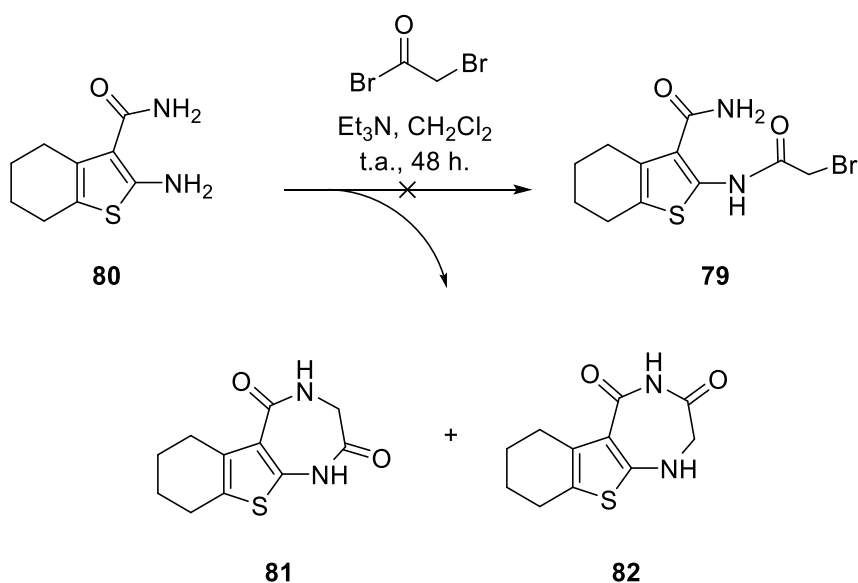


R_f (hexà/AcOEt (5:5)): 0,18

Pf: 147-149 °C (Hexà/Acetat d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,79-1,82 (m, 4H, H-5, H,6); 2,53 (t, J = 6 Hz, 2H, H-7); 2,63 (t, J = 6 Hz, 2H, H-4); 5,50 (ba, 2H, NH₂); 6,15 (ba, 2H, NH₂-CO).

Preparació de 2-(2-bromoacetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxamida (**79**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi afegeix l'amida de partida **80** (0,175 g, 0,892 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL de diclorometà i la trietilamina (0,150 mL, $d = 0,726 \text{ g/mL}$, 1,070 mmol, 1,2 eq). A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,093 mL, $d = 2,317 \text{ g/mL}$, 1,070 mmol, 1,2 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

A continuació, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i encara s'observa la taca corresponent al producte inicial. Per tant, es refreda de nou la reacció a 0 °C, s'hi afegeix més bromur de bromoacetil (0,093 mL, 1,070 mmol) i es deixa reaccionar, a temperatura ambient i agitació constant, durant 24 hores més.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (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.

L'espectre d'RMN-¹H mostra que el producte obtingut no correspon al producte desitjat **79**, sinó als derivats de la ciclació **81** i **82**.

Massa teòrica: 0,211 g

Massa obtinguda: 0,211 g

Rendiment: 100%

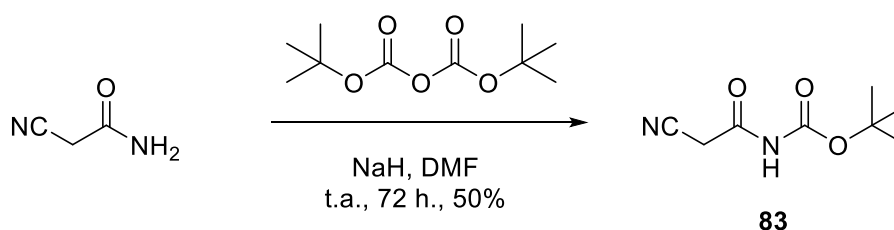
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,42

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,70-1,80 (m, 4H, H-7, H-8); 2,54 (t, *J* = 6 Hz, 4H, H-6, H-9); 3,90 (s, 2H, CH₂-NH); 4,05 (s, 2H, CH₂-NH-CO); 5,99 (ba, 1H, NH).

Preparació de 2-cianoacetilcarbamat de *terc*-butil (**83**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'hi addiciona la 2-cianoacetamida (1,000 g, 11,893 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL de DMF i l'NaH (0,314 g, 13,083 mmol, 1,1 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix el BOC (3,279 mL, *d* = 0,950 g/mL, 14,272 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar durant 72 hores a temperatura ambient.

Final de reacció

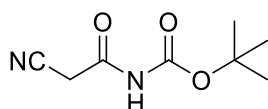
S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. S'obté un líquid viscos groguenc, corresponent al producte **83**, que presenta suficient grau de puresa per passar a la següent etapa de reacció sense purificació.

Massa teòrica: 2,191 g

Massa obtinguda: 1,104 g

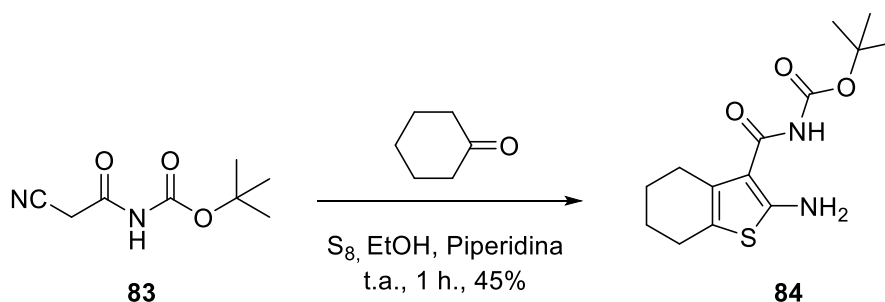
Rendiment: 50%

Dades analítiques



RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,45 (s, 9H, *t*-Bu); 2,85 (s, 2H, CH₂-CN).

Preparació de *tert*-butil (2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carbonil) carbamat (**84**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix la cianoacetamida protegida **83** obtinguda en l'etapa anterior (1,104 g, 5,994 mmol, 1 eq) dissolta en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix la ciclohexanona (0,621 mL, $d = 0,947 \text{ g/mL}$, 5,994 mmol, 1 eq) i el S_8 (0,576 g, 17,982 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 1 hora.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

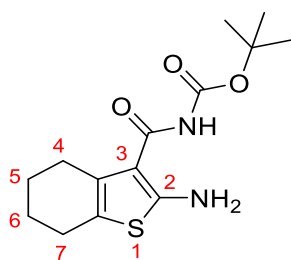
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f . El producte esperat **84** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (85:15) i s'obté un líquid de color groc.

Massa teòrica: 1,777 g

Massa obtinguda: 0,769 g

Rendiment: 43%

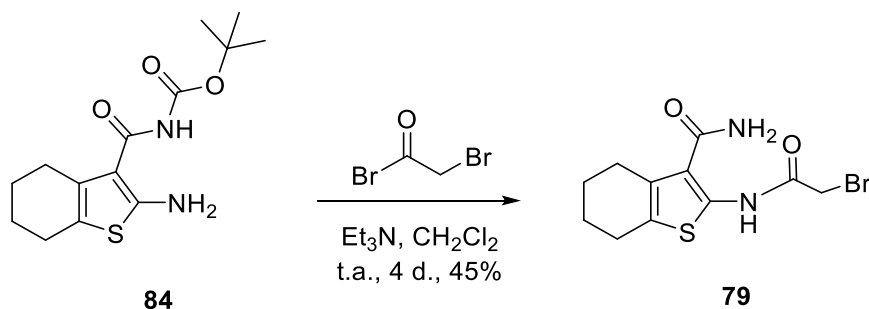
Dades analítiques



R_f (hexà/AcOEt (8:2)): 0,53

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,46 (s, 9H, *t*-Bu); 1,48-1,51 (m, 4H, H-5, H-6); 3,33-3,36 (m, 4H, H-4, H-7).

Preparació de 2-(2-bromoacetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxamida (79)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat s'hi afegeix el benzotiofè de partida **84** (0,202 g, 0,682 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de diclorometà i la trietilamina (0,115 mL, d = 0,726 g/mL, 0,818 mmol, 1,2 eq). A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,071 mL, d = 2,317 g/mL, 0,818 mmol, 1,2 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

A continuació, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i encara s'observa la taca corresponent al producte inicial. Per tant, es refreda de nou la reacció a 0 °C i s'hi afegeix més reactiu i base: bromur de bromoacetil (0,071 mL, 0,818 mmol) i trietilamina (0,115 mL, 0,818 mmol). La mescla resultant es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores. Passat aquest temps, es repeteix el procediment i es deixa reaccionar 48 hores més.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (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.

Purificació

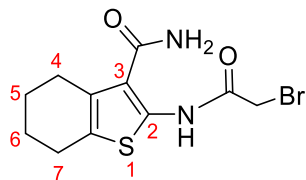
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **79** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (85:15) i s'obté un líquid de color groc.

Massa teòrica: 0,216 g

Massa obtinguda: 0,097 g

Rendiment: 45%

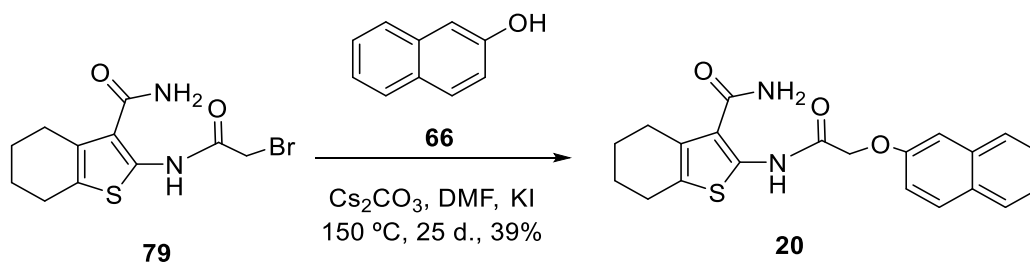
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,44

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,64-1,66 (m, 4H, H-5, H,6); 3,44 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-7); 3,56 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-4); 3,86 (s, 2H, CH₂-CO-).

Preparació de 2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxamida (20)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el β-naftol (**66**) (0,044 g, 0,306 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,085 g, 0,612 mmol, 2 eq), KI (quantitat catalítica) i l'amida de partida **79** (0,097 g, 0,306 mmol, 1 eq). La mescla s'escalfa a 120 °C ± 10 °C i es deixa reaccionar un total de 72 hores.

En un segon intent, es torna a posar la reacció augmentant la temperatura a 150 °C ± 10 °C i, a més, s'hi afegeix un equivalent de carbonat de cesi (0,100 g, 0,306 mmol). Es deixa reaccionar un total de 25 dies mantenint aquestes condicions.

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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

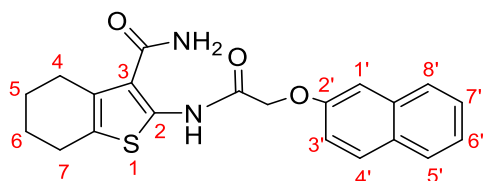
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **20** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (65:35) i s'obté un sòlid de color groc.

Massa teòrica: 0,116 g

Massa obtinguda: 0,045 g

Rendiment: 39%

Dades analítiques



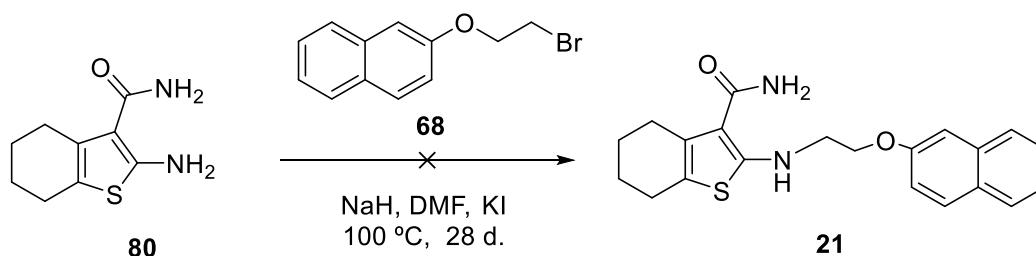
R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,38

Pf: 92-94 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,53-1,63 (m, 4H, H-5, H-6); 3,52 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-7); 3,57 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-4); 4,79 (s, 2H, CH₂-O-); 7,20 (s, 1H, H-1'); 7,22 (d, *J* = 4 Hz, 1H, H-3'); 7,35 (dt, *J*₁ = 7, *J*₂ = 1,2 Hz, 1H, H-7'); 7,44 (dt, *J*₁ = 7, *J*₂ = 1,2 Hz, 1H, H-6'); 7,73-7,78 (m, 3H, H-4', H-5', H-8').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 24,4 (CH₂, C-4, C-5); 25,5 (C, C-6); 26,4 (C, C-7); 67,7 (CH₂, CH₂-O-); 107,2 (CH, C-1'); 118,4 (CH, C-3'); 123,9 (CH, C-6'); 126,1 (C, 8'a); 126,4 (CH, C-7'); 126,9 (CH, C-8'); 127,5 (CH, C-5'); 129,2 (C, C-4'a); 129,6 (CH, C-4'); 134,3 (C, C-2); 155,9 (C, C-2'); 166,0 (C, C = O).

Preparació de 2-((2-(naftalen-2-iloxi)etil)amino)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxamida (**21**)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi addiciona l'amida de partida **80** (0,078 g, 0,398 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL de DMF i l'NaH (0,011 g, 0,438 mmol, 1,1 eq) i es deixa reaccionar a temperatura

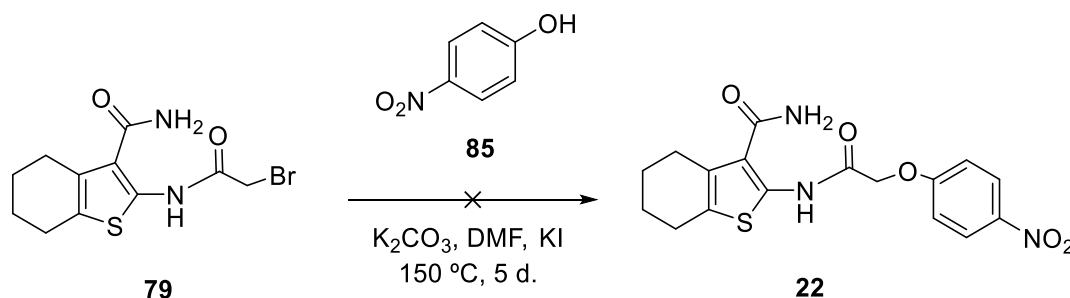
ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix el 2-bromoetoxinaftalè (**68**) (0,100 g, 0,398 mmol, 1 eq) i KI (quantitat catalítica). La mescla resultant es deixa reaccionar a 100 ± 10 °C, sota agitació constant, durant 28 dies.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Es realitza un RMN de protó i un masses, que confirmen que el producte obtingut no és l'esperat.

Preparació de 2-(2-(4-nitrofenoxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxamida (**22**)



Procediment

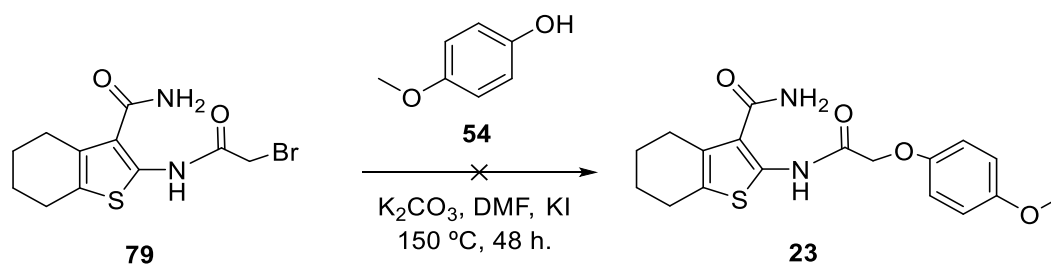
A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el 4-nitrofenol (**85**) (0,062 g, 0,448 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,124 g, 0,896 mmol, 2 eq), KI (quantitat catalítica) i l'amida de partida **79** (0,142 g, 0,448 mmol, 1 eq). La mescla s'escalfa a 150 ± 10 °C i es deixa reaccionar un total de 5 dies.

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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

No s'observa el producte final esperat en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Preparació de 2-(2-(4-metoxifenoxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofè-3-carboxamida (**23**)



Procediment

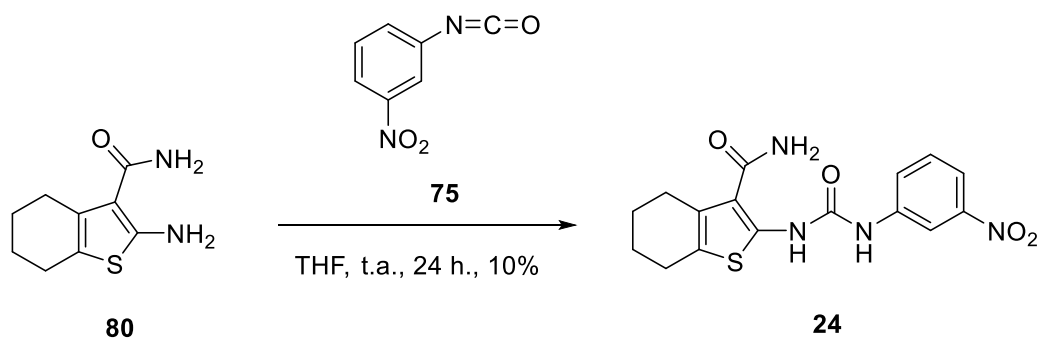
A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el 4-metoxifenol (**54**) (0,099 g, 0,798 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,220 g, 1,596 mmol, 2 eq), KI (quantitat catalítica) i l'amida de partida **79** (0,253 g, 0,798 mmol, 1 eq). La mescla s'escalfa a $150 \pm 10\text{ }^\circ\text{C}$ i es deixa reaccionar un total de 48 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 s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

No s'observa el producte final esperat en l'espectre d'RMN- ^1H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofè-3-carboxamida (**24**)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'introdueix el producte de partida **80** (0,270 g, 1,376 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de THF i es deixa

reaccionar a temperatura ambient fins que es forma una solució homogènia. A continuació, s'hi afegeix l'isocianat **75** (0,226 g, 1,376 mmol, 1 eq) i la mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 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 reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

Purificació

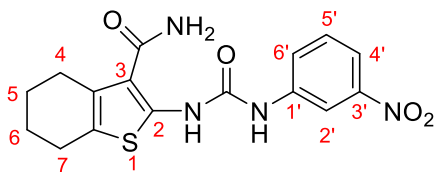
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **24** elueix amb acetat d'etil 100% i s'obté un sòlid marró clar.

Massa teòrica: 0,496 g

Massa obtinguda: 0,048 g

Rendiment: 10%

Dades analítiques



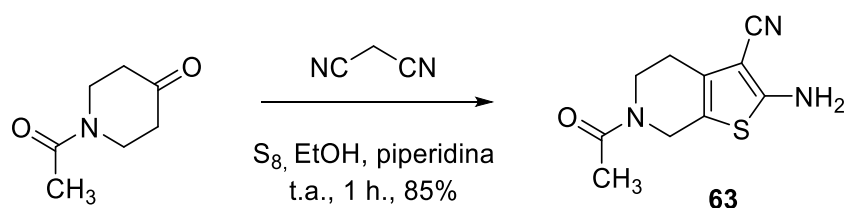
R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,22

Pf: 208-210 °C (Acetat d'etil)

RMN-¹H (DMSO, 400 MHz), δ(ppm): 1,70-1,73 (m, 4H, H-5, H-6); 2,58 (m, *J* = 5 Hz, 2H, H-7); 2,68 (m, *J* = 5 Hz, 2H, H-4); 6,86 (ba, 2H, NH₂); 7,35 (ba, 1H, NH-); 7,56 (t, *J* = 7 Hz, 1H, H-5'); 7,76 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-6'); 7,82 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-4'); 8,54 (s, 1H, H-2'); 10,53 (ba, 2H, NH-).

RMN-¹³C (DMSO, 100,6 MHz), δ(ppm): 22,9 (CH₂, C-6); 23,0 (CH₂, C-5); 24,2 (CH₂, C-7); 25,7 (CH₂, C-4); 112,5 (CH, C-2'); 114,8 (C, C-4'); 116,9 (C, C-3); 124,5 (C, C-3a); 125,2 (CH, C-6'); 129,1 (C, C-7a); 130,6 (CH, C-5'); 141,3 (C, C-1'); 144,5 (C, C-2); 148,5 (C, C-3'); 151,5 (C, CO); 167,9 (C, CONH₂).

Preparació de 6-acetil-2-amino-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carbonitril (63)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix el malononitril (0,144 g, 2,182 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix l'1-acetil-4-piperidona (0,308 g, 2,182 mmol, 1 eq) i el S₈ (0,210 g, 6,546 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 1 hora.

Per tal d'optimitzar el procés, es realitza la mateixa reacció utilitzant microones i ultrasons durant 1 i 15 minuts, respectivament.

	Reactius	Quantitat	Equivalents
Ultrasons	Malononitril	0,148 g (2,238 mmol)	1 eq
	1-acetil-4-piperidona	0,316 g (2,238 mmol)	1 eq
	S ₈	0,215 g (6,714 mmol)	3 eq
Microones	Malononitril	0,047 g (0,708 mmol)	1 eq
	1-acetil-4-piperidona	0,100 g (0,708 mmol)	1 eq
	S ₈	0,068 g (2,124 mmol)	3 eq

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent amb l'ajut del buit.

Purificació

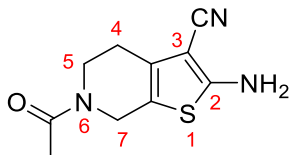
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (10:90) i s'obté un sòlid marró.

Massa teòrica: 0,483 g

Massa obtinguda: 0,411 g

Rendiment: 85%

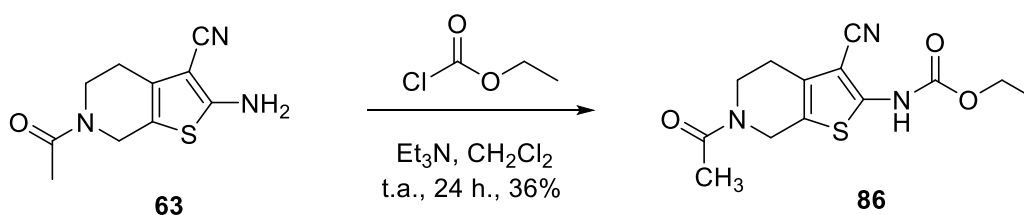
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (3:7)): 0,21

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,18 (s, 3H, CH₃-); 2,67 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-5); 3,69 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-4); 4,52 (s, 2H, H-7); 4,86 (ba, 2H, NH₂).

Preparació de (6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridin-2-il)carbamat d'etil (86)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi introdueix el producte de partida **63** (0,100 g, 0,452 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de diclorometà. S'hi addiciona la trietilamina (0,076 mL, *d* = 0,726 g/mL, 0,543 mmol, 1,2 eq) i la mescla es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi afegeix el cloroformiat d'etil (0,052 mL, *d* = 1,135 g/mL, 0,543 mmol, 1,2 eq) i la mescla es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

Final de reacció

S'afegeixen 20 mL d'aigua al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen sobre sulfat sòdic anhidre, es filtren i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

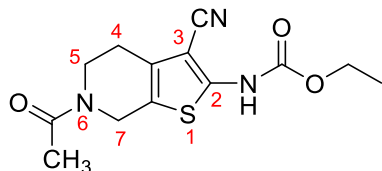
El producte final **86** és un semisòlid marró que no es purifica sinó que es fa en l'etapa següent.

Massa teòrica: 0,133 g

Massa obtinguda: 0,048 g

Rendiment: 36%

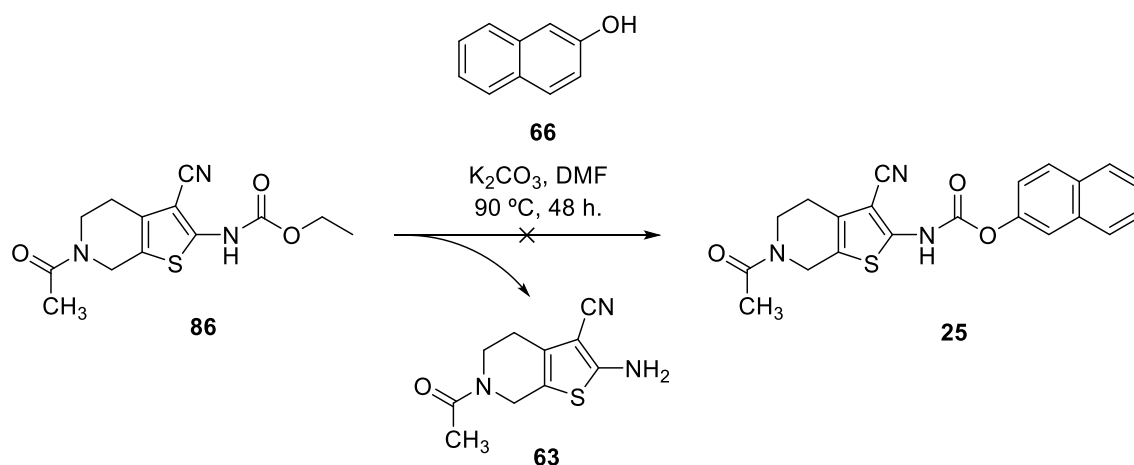
Dades analítiques



R_f (AcOEt): 0,39

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,35 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH₃-); 2,19 (s, 3H, CH₃-); 2,74 (t, 2H, H-4); 3,72 (t, 2H, H-5); 4,32 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂-O-); 4,66 (s, 2H, H-7); 7,82 (ba, 1H, NH-).

Preparació de (6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-*c*]piridin-2-il)carbamat de 2-naftil (25)



Procediment

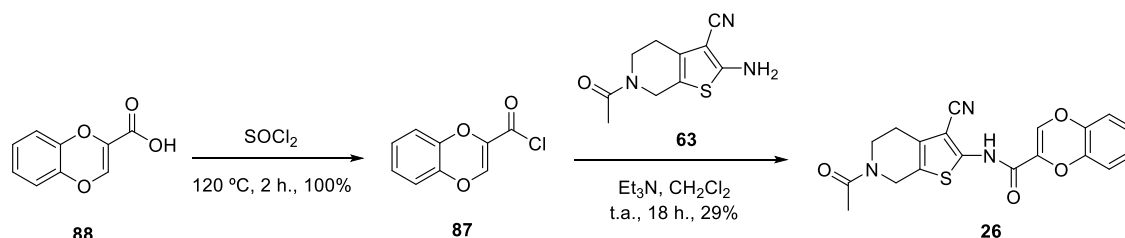
A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el carbamat de partida **86** (0,048 g, 0,164 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,027 g, 0,197 mmol, 1,2 eq) i el β-naftol (**66**) (0,024 g, 0,164 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a 90 ± 10 °C durant 48 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 Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Es realitza un espectre d'RMN-¹H del producte obtingut, que confirma que no s'ha obtingut l'estructura desitjada.

Preparació d'*N*-(6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-*c*]piridin-2-il)benzo[*b*][1,4]dioxina-2-carboxamida (**26**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb refrigerant, es disposa l'àcid de partida **88** (0,096 g, 0,533 mmol, 1 eq) i 3 mL de clorur de tionil. La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant i la temperatura de reflux, durant 2 hores. Passat aquest temps, s'evapora el clorur de tionil i s'afegeix la ciano-amina **63** (0,119 g, 0,533 mmol, 1 eq) dissolta en 20 mL de diclorometà i la trietilamina (0,090 mL, d = 0,726 g/mL, 0,640 mmol, 1,2 eq). La mescla es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 18 hores.

Final de reacció

El cru de reacció s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat.

Purificació

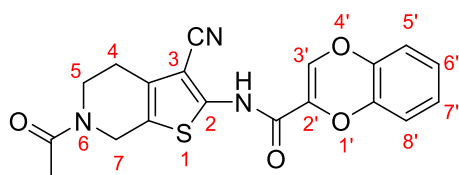
El cru de reacció es purifica per cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **26** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (30:70) i s'obté un sòlid de color groc ocre.

Massa obtinguda: 0,060 g

Massa teòrica: 0,206 g

Rendiment: 29%

Dades analítiques



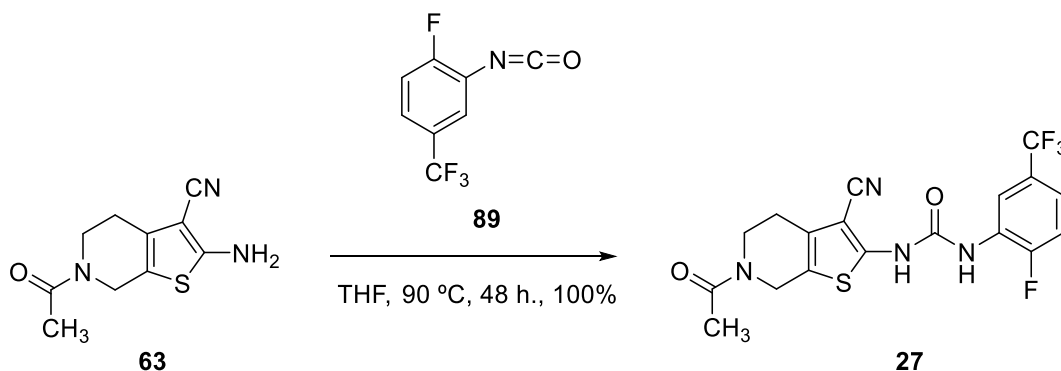
R_f (Hexà/AcOEt (3:7)): 0,46

Pf: 198-200 °C (Hexà/Acetat d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,22 (s, 3H, CH₃-); 2,78-2,84 (m, 2H, H-5); 3,73-3,78 (m, 2H, H-4); 4,70 (s, 2H, H-7); 6,65 (s, 1H, H-3'); 6,77-6,88 (m, 2H, H-5', H-8'); 6,93-6,97 (m, 2H, H-6', H-7'); 8,88 (ba, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 21,4 (CH₃); 24,8 (CH₂, C-4); 40,6 (CH₂, C-7); 43,3 (CH₂, C-5); 89,4 (C, C-3); 117,0 (C, CN); 118,3 (CH, C-5); 118,7 (CH, C-8'); 124,8 (C, C-7a); 125,4 (CH, C-6'); 125,7 (CH, C-7'); 128,1 (C, C-2'); 135,0 (C, C-3a); 143,2 (C-5'a); 143,7 (C, C-8'a); 152,3 (C, C-2); 169,7 (C, CO).

Preparació d'1-(6-acetil-3-ciano-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridin-2-il)-3-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea (27)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb refrigerant, es disposa la ciano-amina de partida **63** (0,100 g, 0,452 mmol, 1 eq) dissolta en THF, una punta d'espàtula d'NaH i el 2-fluoro-5-(trifluorometil)fenilisocianat (**89**) (0,065 mL, d = 1,418 g/mL, 0,452 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a 90 ± 10 °C durant 48 hores.

Final de reacció

El cru de reacció s'extreu amb acetat d'etil (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat.

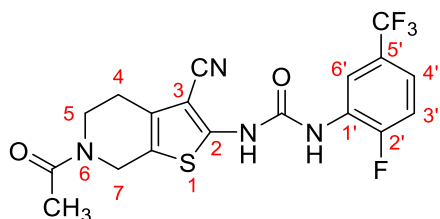
L'espectre d'RMN-¹H confirma l'estructura desitjada **27** amb una puresa acceptable, de manera que no es procedeix a la purificació del producte degut a la baixa estabilitat que presenta. El producte obtingut és un sòlid pulverulent de color taronja.

Massa obtinguda: 0,193 g

Massa teòrica: 0,193 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques

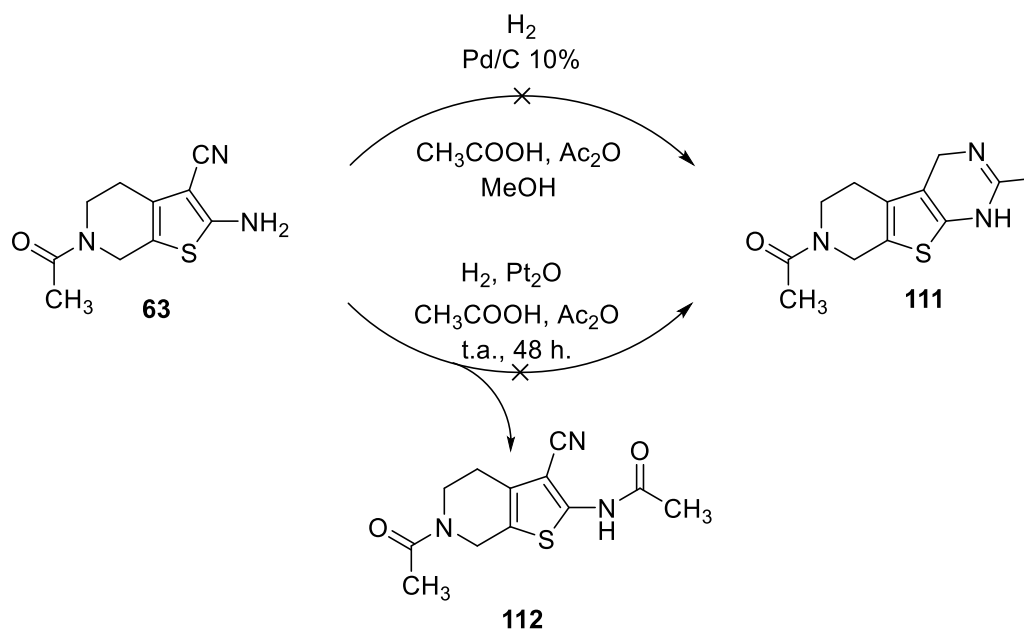


R_f (AcOEt): 0,45

Pf: 240-242 °C (Acetat d'etil)

RMN-¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ(ppm): 2,10 (s, 3H, CH₃-); 2,62-2,69 (m, 2H, H-5); 3,66-3,74 (m, 2H, H-4); 4,53 (s, 2H, H-7); 7,48-7,55 (m, 2H, H-3', H-4'); 8,56 (s, 1H, H-6'); 9,53 (ba, 1H, NH); 10,73 (ba, 1H, NH-).

Preparació d'1-(2-metil-1,5,6,8-tetrahipirido[4',3':4,5]tieno[2,3-*d*]pirimidin-7(4*H*)-il)etan-1-ona (111)



Procediment

Condicions a):

A un matràs de vidre de coll llarg sense esmerilar, emprat per a les reaccions d'hidrogenació, s'hi introdueix el producte de partida **63** (0,111 g, 1,065 mmol, 1 eq) dissolt en 30 mL de metanol. A continuació, s'hi addiciona una suspensió de pal·ladi carbó al 10% (p/p) (0,011 g) en el mateix dissolvent i 0,5 mL d'àcid acètic. El matràs es disposa en un sistema d'hidrogenació proveït amb una columna d'1 L d'hidrogen i es deixa reaccionar, sota agitació constant i a temperatura ambient, durant 48 hores.

Passat aquest temps, donat que el volum d'hidrogen consumit és superior al teòric requerit, es realitza el control de reacció per cromatografia de capa fina i s'observa el producte de partida.

Condicions b):

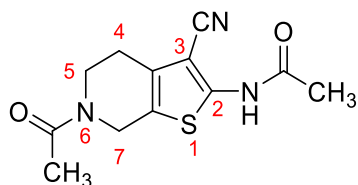
Es repeteix la reacció utilitzant un reactor PARR de 300 mL de capacitat que ens permet dur a terme la hidrogenació a pressions elevades.

A un vas de vidre especial, emprat per a les reaccions d'hidrogenació a pressió, s'hi introdueix el producte de partida **63** (0,111 g, 1,065 mmol, 1 eq), 36 mL d'àcid acètic i 24 mL d'anhídrid acètic. A continuació, s'hi addiciona el diòxid de platí al 10% (p/p) (0,011 g). La barreja es disposa en el sistema d'hidrogenació i es deixa reaccionar, sota agitació constant, temperatura ambient i a 100 psi, durant 48 hores.

Final de reacció

Es filtra el catalitzador a pressió atmosfèrica amb doble paper de filtre i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa el producte final esperat **111** en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al derivat acilat **112**.

Dades analítiques

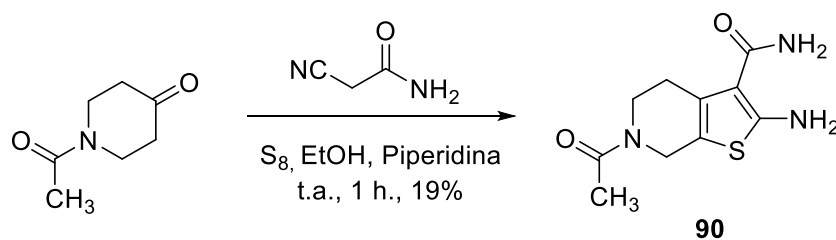


Pf: 252-254 °C (Àcid acètic/Anhídrid acètic)

EM, ESI (+) m/z: C₁₂H₁₄N₃O₂S 264,0727. Trobat 264,0832.

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,19 (s, 3H, CH₃-); 2,30 (s, 3H, CH₃-); 2,76 (t, 2H, H-4); 3,73 (t, 2H, H-5); 4,67 (s, 2H, H-7); 8,72 (ba, 1H, NH).

Preparació de 6-acetil-2-amino-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carboxamida (90)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix la cianoacetamida (0,298 g, 3,542 mmol, 1 eq) dissolta en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix l'*N*-acetilpiperidona (0,500 g, 3,542 mmol, 1 eq) i el S₈ (0,341 g, 10,626 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 1 hora.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

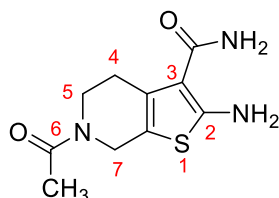
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **90** elueix amb una polaritat d'acetat d'etil/metanol (80:20) i s'obté un sòlid taronja.

Massa teòrica: 0,848 g

Massa obtinguda: 0,164g

Rendiment: 19%

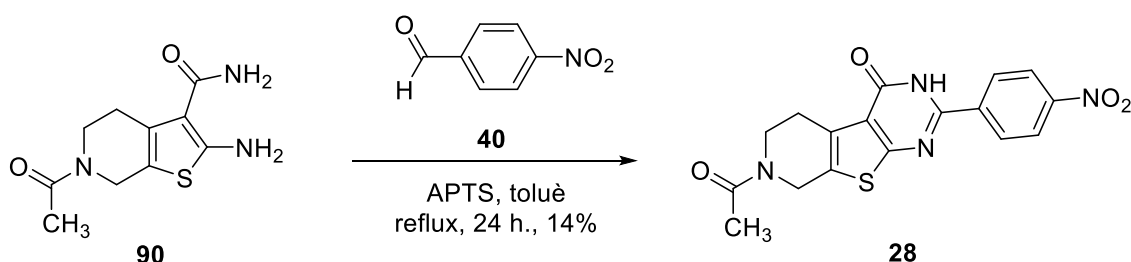
Dades analítiques



R_f (AcOEt): 0,16

RMN-¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ(ppm): 2,07 (s, 3H, CH₃-); 3,20-3,25 (m, CH₂, H-4); 3,59-3,63 (m, CH₂, H-5); 4,37 (s, 2H, H-7); 5,81 (ba, 2H, NH₂); 6,93 (ba, 2H, NH₂).

Preparació de 7-acetil-2-(4-nitrofenil)-5,6,7,8-tetrahidropirido[4',3':4,5]tieno[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona (**28**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb Dean-Stark i refrigerant, es disposen l'amino-amida de partida **90** (0,094 g, 0,393 mmol, 1 eq), el 4-nitrobenzalhid (**40**) (0,071 g, 0,472 mmol, 1,2 eq) i una punta d'espàtula d'APTS, dissolts en toluè anhidre. La mescla es manté a reflux i sota agitació constant durant 24 hores.

Final de reacció

El cru de reacció s'alcalinitza amb una dissolució de NaOH 2N i s'extreu amb acetat d'etil (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat.

Purificació

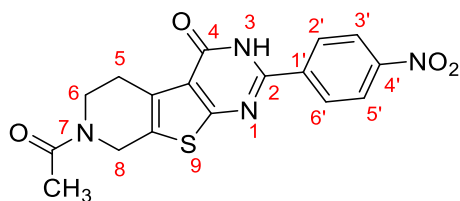
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **28** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (20:80) i s'obté un sòlid pulverulent marró.

Massa teòrica: 0,145 g

Massa obtinguda: 0,021 g

Rendiment: 14%

Dades analítiques



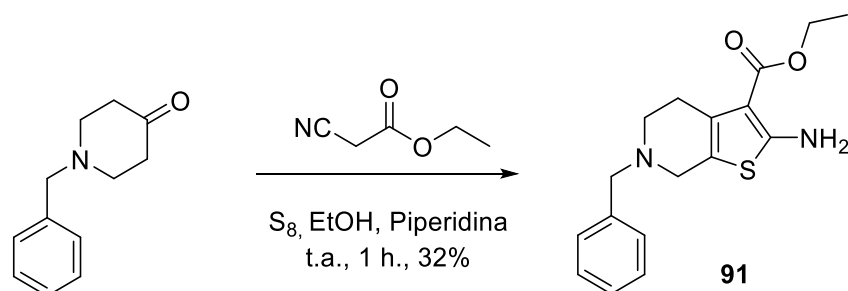
R_f (Hexà/AcOEt (2:8)): 0,14

Pf: 193-195 °C (Hexà/Acetats d'etil)

EM, ESI (+) m/z: Calculat per a C₁₇H₁₇N₄O₄S: 371,0971. Trobat: 371,0822.

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,29 (s, 3H, CH₃); 3,25 (m, 2H, H-5); 3,84 (m, 2H, H-6); 4,86 (s, 2H, H-8); 8,39 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-2', H-6'); 8,47 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-3', H-5').

Preparació de 2-amino-6-benzil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carboxilat d'etil (91)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix el cianoacetat d'etil (0,562 mL, d = 1,063 g/mL, 5,284 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix l'*N*-benzilpiperidona (1,000 g, 5,284 mmol, 1 eq) i el S₈ (0,508 g, 15,852 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 1 hora.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

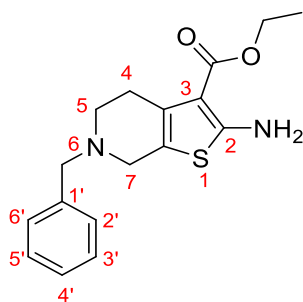
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **91** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (60:40) i s'obté un sòlid cristal·lí marró.

Massa teòrica: 1,672 g

Massa obtinguda: 0,532 g

Rendiment: 32%

Dades analítiques

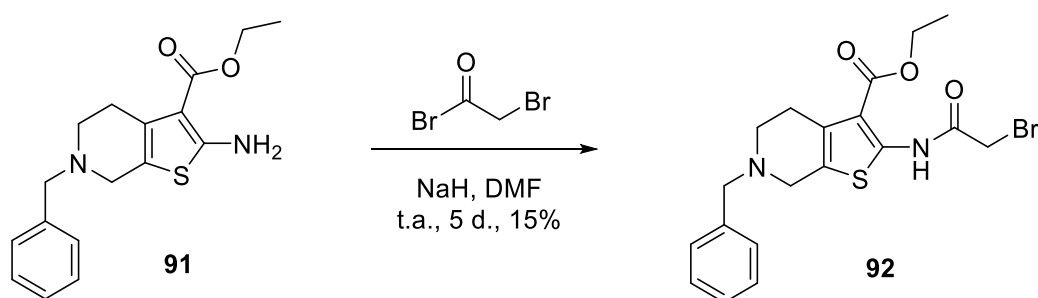


R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,21

Pf: 94-96 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,32 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH₃-); 2,76 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-5); 2,82 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-4); 3,42 (s, 2H, H-7); 3,69 (s, 2H, CH₂-N); 4,25 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂-O-); 5,95 (s, 2H, NH₂); 7,28 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,33 (t, *J* = 7 Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,37 (m, 1H, H-4').

Preparació de 6-benzil-2-(2-bromoacetamido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carboxilat d'etil (92)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi addiciona el producte de partida **91** (0,200 g, 0,632 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF i l'NaH (0,018 g, 0,758 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,061 mL, $d = 2,317 \text{ g/mL}$, 0,695 mmol, 1,1 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 5 dies.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb dietilèter (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.

Purificació

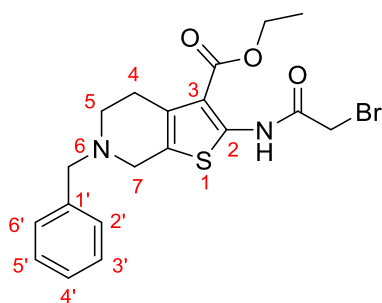
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **92** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (50:50) i s'obté un sòlid de color marró.

Massa teòrica: 0,276 g

Massa obtinguda: 0,042 g

Rendiment: 15%

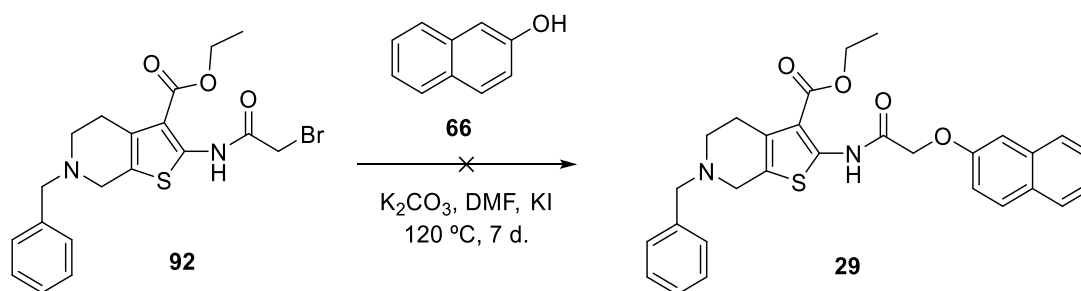
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,34

RMN- ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 1,36 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-O-}$); 2,84 (m, 2H, H-5); 2,95 (t, $J = 6$ Hz, 2H, H-4); 3,60 (s, 2H, H-7); 3,76 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-BN}$); 4,23 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Br}$); 4,31 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O-}$); 7,31-7,42 (m, 5H, Ar).

Preparació de 6-benzil-2-(2-(naftalen-2-iloxi)acetamido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno [2,3-c]piridina-3-carboxilat d'etil (29)



Procediment

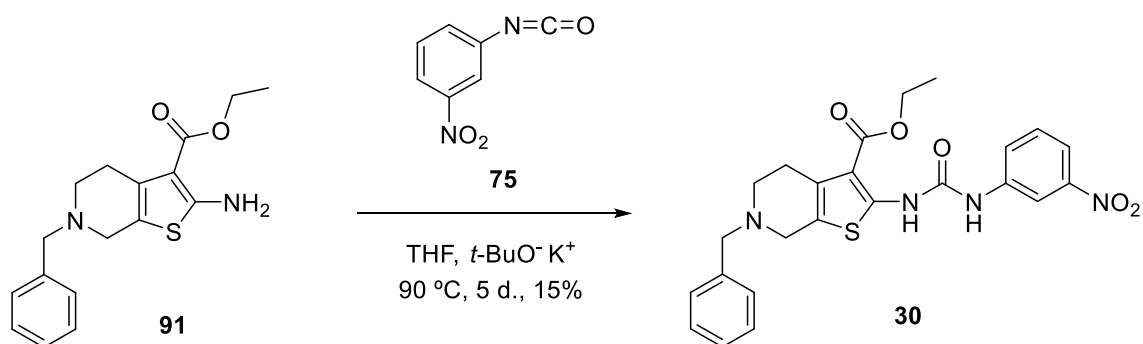
A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el β -naftol (**66**) (0,013 g, 0,091 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF i el carbonat de potassi anhidre (0,015 g, 0,109 mmol, 1,2 eq). A continuació, s'hi afegeix l'èster de partida **92** (0,040 g, 0,091 mmol, 1 eq) i KI (quantitat catalítica). La mescla resultat es deixa reaccionar a 120 ± 10 °C i sota agitació constant durant 7 dies.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

L'espectre d'RMN- ^1H confirma que no s'ha obtingut el producte desitjat **29**.

Preparació de 6-benzil-2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carboxilat d'etil (30)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb refrigerant, es disposa l'amino-èster de partida **91** (0,096 g, 0,303 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de THF, el *tert*-butòxid potàssic (0,034 g, 0,303 mmol, 1 eq) i el 3-nitrofenilisocianat (**75**) (0,050 g, 0,303 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a 90 ± 10 °C durant 5 dies.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

Purificació

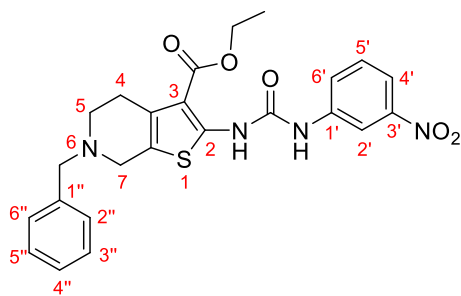
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **30** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (80:20) i s'obté un sòlid marró.

Massa teòrica: 0,146 g

Massa obtinguda: 0,022 g

Rendiment: 15%

Dades analítiques

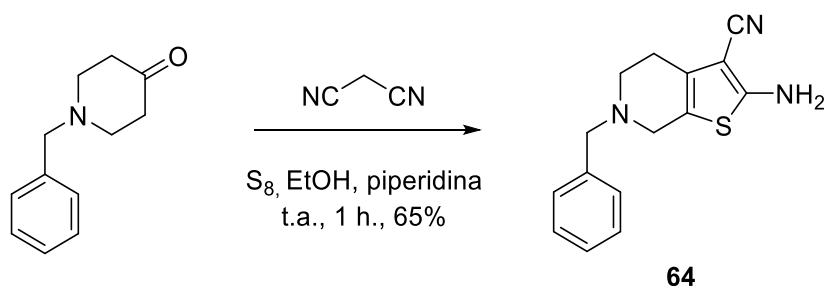


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,25

Pf: 100-102 °C (Hexà/Acetat d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,28 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH₃-); 2,74 (m, 2H, H-5); 2,80 (m, 2H, H-4); 3,40 (s, 2H, H-7); 3,67 (s, 2H, CH₂-N-); 4,22 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂-O-); 7,22-7,35 (m, 5H, Ar); 7,45 (t, *J* = 7 Hz, 1H, H-5'); 7,54 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-6'); 7,73 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-4'); 8,23 (s, 1H, H-2'); 8,90 (ba, 1H, NH).

Preparació de 2-amino-6-benzil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridina-3-carbonitril (64)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix el malononitril (0,101 g, 1,532 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix l'*N*-benzilpiperidona (0,290 g, 1,532 mmol, 1 eq) i el S₈ (0,147 g, 4,596 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 1 hora.

Per tal d'optimitzar el procés, es realitza la mateixa reacció utilitzant microones i l'ultrasò durant 1 i 15 minuts, respectivament.

	Reactius	Quantitat	Equivalents
Ultrasons	Malononitril	0,108 g (1,627 mmol)	1 eq
	1-benzil-4-piperidona	0,308 g (1,627 mmol)	1 eq
	S ₈	0,157 g (4,881 mmol)	3 eq
Microones	Malononitril	0,037 g (0,555 mmol)	1 eq
	1-benzil-4-piperidona	0,105 g (0,555 mmol)	1 eq
	S ₈	0,053 g (1,665 mmol)	3 eq

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

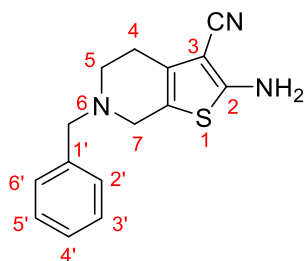
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **64** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté un sòlid marró.

Massa teòrica: 0,413 g

Massa obtinguda: 0,268 g

Rendiment: 65%

Dades analítiques

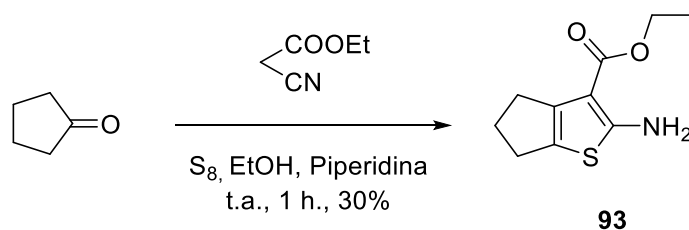


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,86

Pf: 180-182 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,90 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-4); 3,42 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-5); 4,47 (s, 2H, H-7); 4,57 (s, 2H, CH₂-N); 7,27 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,35-7,44 (m, 3H, H-3', H-4', H-5').

Preparació de 2-amino-5,6-dihidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (**93**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix el cianoacetat d'etil (1,542 mL, *d* = 1,063 g/mL, 11,888 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL d'EtOH, i unes gotes de piperidina. A continuació, s'hi afegeix la ciclopentanona (1,000

g, 11,888 mmol, 1 eq) i el S₈ (1,144 g, 35,664 mmol, 3 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a temperatura ambient durant 1 hora.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

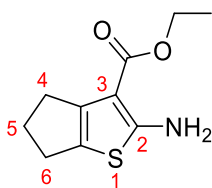
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **93** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (50:50) i s'obté un sòlid negre.

Massa teòrica: 2,512 g

Massa obtinguda: 0,758 g

Rendiment: 30%

Dades analítiques



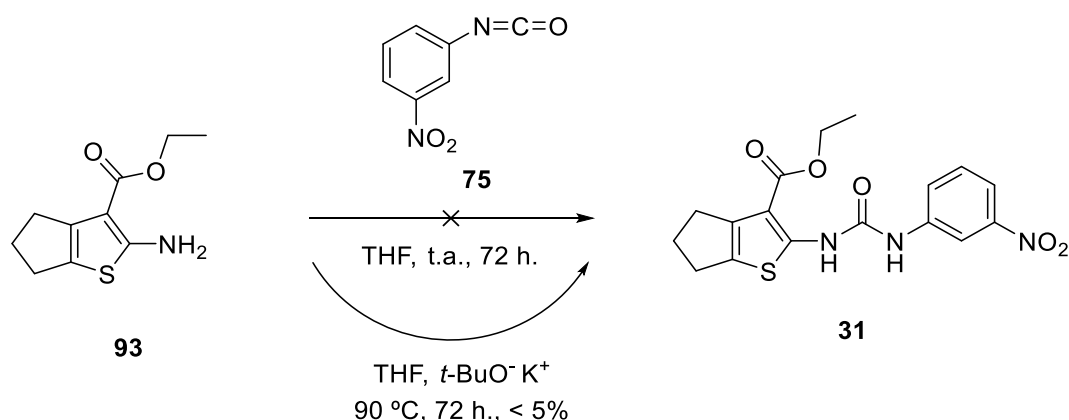
R_f (Hexà/AcOEt (8:2)): 0,17

Pf: 140-142 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,36 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH₃-); 2,62-2,70 (m, 2H, H-5); 2,78 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-6); 2,98 (d, *J* = 7 Hz, 2H, H-4); 4,25 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂-O); 5,95 (ba, 2H, NH₂-).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 14,6 (CH₃); 27,8 (CH₂, C-4); 36,7 (CH₂, C-5); 37,6 (CH₂, C-6); 59,8 (CH₂, CH₂-O-); 102,2 (C, C-3); 128,2 (C, C-3a); 140,1 (C, C-6a); 165,1 (C, C-2); 166,9 (C, CO).

Preparació de 2-(3-(3-nitrofenil)ureido)-5,6-dihidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofè-3-carboxilat d'etil (31)



Procediment

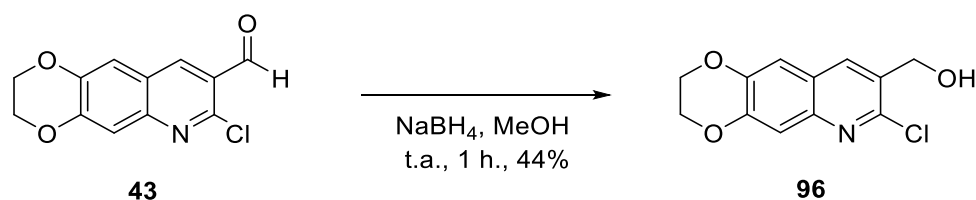
A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i refrigerant, es disposa l'amino-èster de partida **93** (0,089 g, 0,402 mmol, 1 eq) dissolt en THF, el *terc*-butòxid potàssic (0,047 g, 0,402 mmol, 1 eq) i el 3-nitrofenilisocianat (**75**) (0,069 g, 0,402 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, mantenint l'agitació constant, a 90 ± 10 °C durant 72 hores.

Final de reacció

El cru de reacció s'extreu amb acetat d'etil (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat.

Es va repetir la reacció en les mateixes condicions, afegint *t*-BuOK en excés. Es va aconseguir aïllar una petita quantitat de producte, però no la suficient com per caracteritzar-lo.

Preparació de (7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-*g*]quinolin-8-il)metanol (96)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i sortida de gasos, s'hi addiciona l'aldehid de partida **43** (0,302 g, 1,210 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de MeOH. La mescla es refreda en un bany extern de gel i, a continuació, s'hi afegeix a poc

a poc el borohidrur sòdic (excés). La reacció es deixa sota agitació constant i a temperatura ambient durant 1 hora.

Final de reacció

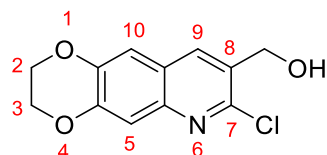
S'evapora el metanol a sequedat. S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat. El residu obtingut és un sòlid cristal·lí groc, corresponent al producte **96**, que no es purifica sinó que s'utilitza directament per a la següent etapa sintètica.

Massa obtinguda: 0,134 g

Massa teòrica: 0,304 g

Rendiment: 44%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,50

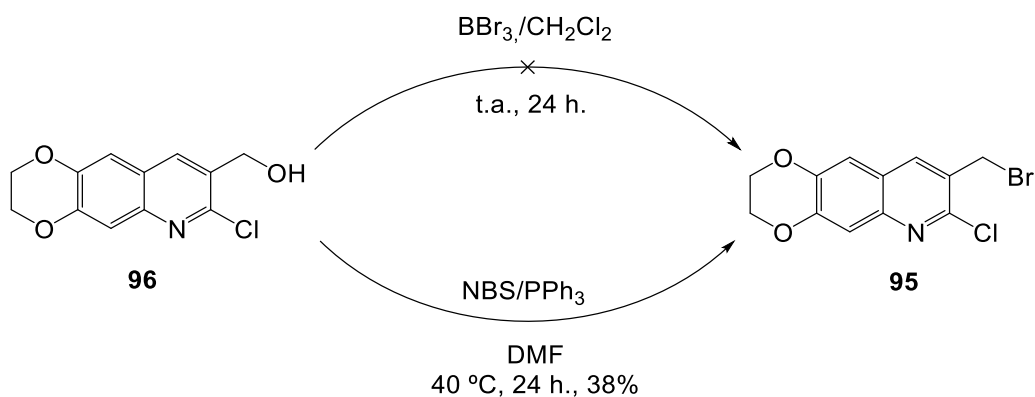
Pf: 207-209 °C (metanol).

IR (KBr) ν (cm⁻¹): 1075 (C-O-); 1235 (Ar-O-); 3280 (OH).

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 4,36 (sc, 4H, CH₂-O (x2)); 4,88 (dd, $J = 5,7$ Hz, $J = 1,0$ Hz, 2H, CH₂-OH); 5,30 (s, 1H, -OH); 7,21 (s, 1H, H-10); 7,48 (s, 1H, H-5); 8,09 (s, 1H, H-9).

RMN-¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz), δ (ppm): 60,1 (CH₂-O-); 64,3 (CH₂-O-); 112,0 (CH, C-10); 112,3 (CH, C-5); 123,3 (C, C-9a); 131,7 (C, C-8); 134,7 (CH, C-9); 142,6 (C, C-5a); 144,8 (C, C-10a); 146,8 (C, C-7); 147,4 (C, C-4a).

Preparació de 8-(bromometil)-7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolina (95)



Condicions a:

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i acoblat a un capçal de vidre i amb clau, s'hi introdueix el producte de partida **96** (0,112 g, 0,445 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de diclorometà. La mescla es refreda a -78 ± 5 °C en un bany extern de gel i, a continuació, s'hi afegeix el BBr₃ (0,042 mL, d = 2,64 g/mL, 0,445 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 24 hores.

Final de reacció

S'afegeix una petita quantitat d'aigua al cru de reacció i s'evapora el metanol a sequedat. S'hi addicionen 20 mL d'aigua i es realitza una extracció amb CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat. El residu obtingut és un sòlid pulverulent marró clar, que per espectre d'RMN-¹H demostra no ser l'estructura desitjada.

Condicions b:

Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'hi introdueix l'alcohol de partida **96** (0,209 g, 0,830 mmol, 1 eq) dissolt en 6 mL de DMF, l'*N*-bromosuccinimida (0,300 g, 1,660 mmol, 2 eq) i la trifenilfosfina (0,441 g, 1,660 mmol, 2 eq). La mescla es deixa reaccionar, sota agitació constant, a 40 ± 10 °C durant 24 hores.

Final de reacció

S'hi addicionen 20 mL d'aigua i es realitza una extracció amb èter (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat.

Purificació

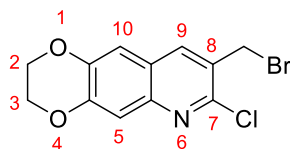
El producte es purifica per cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_i. El producte esperat **95** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté un sòlid pulverulent groc clar.

Massa obtinguda: 0,100 g

Massa teòrica: 0,261 g

Rendiment: 38%

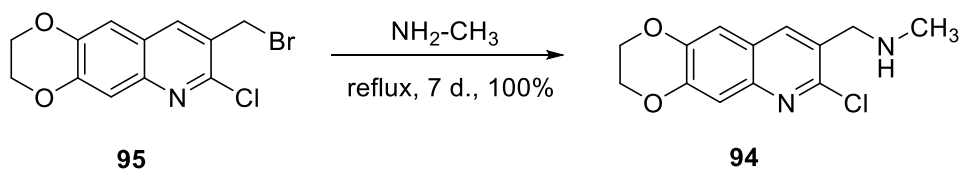
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,53

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 4,41 (sc, 4H, CH₂-O (x2)); 4,90 (s, 2H, CH₂-Br); 7,21 (s, 1H, H-10); 7,31 (s, 1H, H-5); 8,01 (s, 1H, H-9).

Preparació d'1-(7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolin-8-il)-N-metilmetilèna amina (94)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i refrigerant de reflux, s'hi introdueix el producte de partida **95** (0,090 g, 0,286 mmol, 1 eq) i s'afegeixen 3 mL de metilamina. La mescla s'escalfa fins a temperatura de reflux i es deixa reaccionar durant 7 dies, afegint periòdicament petits volums de metilamina.

Final de reacció

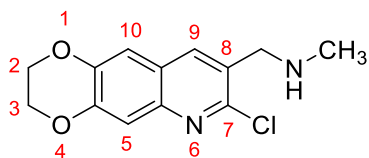
S'addicionen 20 mL d'aigua i es realitza una extracció amb CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat. El producte obtingut **94** és un semisòlid groguenc, que es purificarà a la l'etapa següent.

Massa obtinguda: 0,076 g

Massa teòrica: 0,076 g

Rendiment: 100%

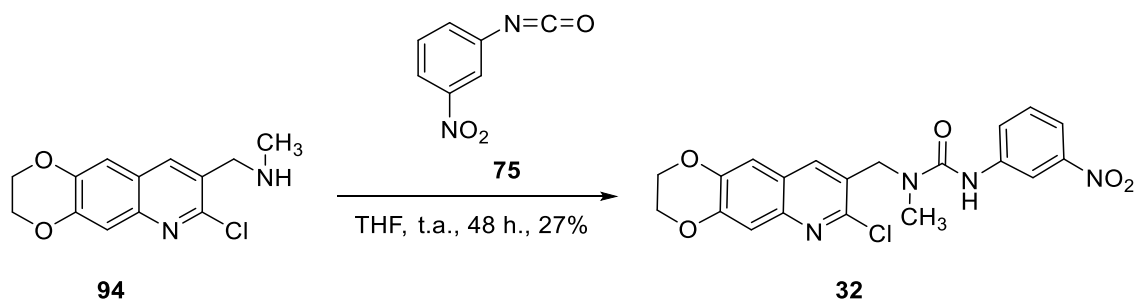
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,18

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,27 (s, 3H, CH₂-N); 3,06 (s, 2H, CH₂-Br); 4,30 (sc, 4H, CH₂-O (x2)); 4,51 (s, 1H, NH); 6,86 (s, 1H, H-10); 7,03 (s, 1H, H-5); 7,17 (s, 1H, H-9).

Preparació d'1-((7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolin-8-il)metil)-1-metil-3-(3-nitrofenil)urea (32)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'introdueix el producte de partida **94** (0,082 g, 0,310 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de THF. A continuació, s'hi afegeix l'isocianat **75** (0,051 g, 0,310 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar durant 48 hores a temperatura ambient.

Final de reacció i purificació

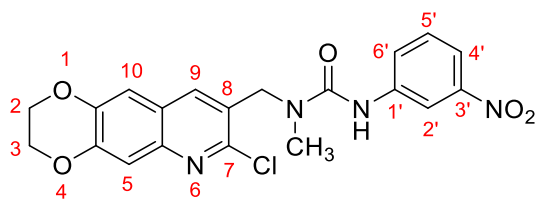
S'evapora el THF i el producte es purifica per cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **32** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté un sòlid de color groc pàl·lid.

Massa obtinguda: 0,030 g

Massa teòrica: 0,133 g

Rendiment: 23%

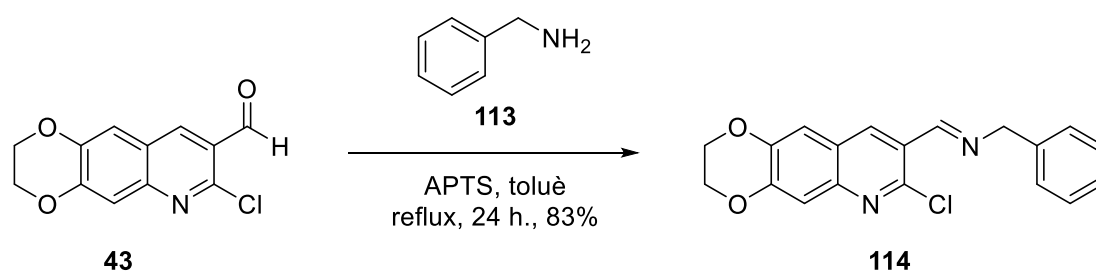
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,18

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 3,08 (s, 3H, CH₂-N); 4,31 (sc, 4H, CH₂-O (x2)); 4,52 (s, 2H, CH₂-Ar); 5,89 (ba, 1H, NH); 6,86 (s, 1H, H-10); 7,06 (s, 1H, H-5); 7,20 (s, 1H, H-9); 7,33 (t, *J* = 7Hz, 1H, H-5'); 7,74 (d, *J* = 7Hz, 1H, H-4'); 7,78 (dd, *J* = 7Hz, *J* = 1,2Hz, 1H, H-6'); 8,08 (s, *J* = 1,2 Hz, 1H, H-2').

Preparació d'(*E*)-*N*-benzil-1-(7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-*g*]quinolin-8-il)metanimina (114)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb Dean-Stark i refrigerant, es disposen la benzilamina (**113**) (0,105 mL, $d = 0,98 \text{ g/mL}$, 0,961 mmol, 1,2 eq), el 7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-*g*]quinolina-8-carbaldehid (**43**) (0,200 g, 0,801 mmol, 1 eq) i una punta d'espàtula d'APTS, dissolts en toluè anhidre. La mescla es manté a reflux i sota agitació constant durant 24 hores.

Final de reacció

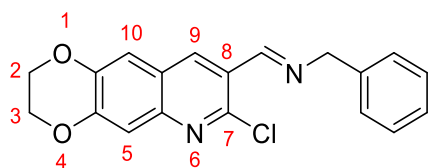
El cru de reacció s'alcalinitza amb una dissolució de NaOH 2N i s'extreu amb acetat d'etil (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat. El producte esperat **114** és un sòlid de color marronós que no es purifica sinó que es farà en la següent etapa sintètica.

Massa obtinguda: 0,224 g

Massa teòrica: 0,260 g

Rendiment: 86%

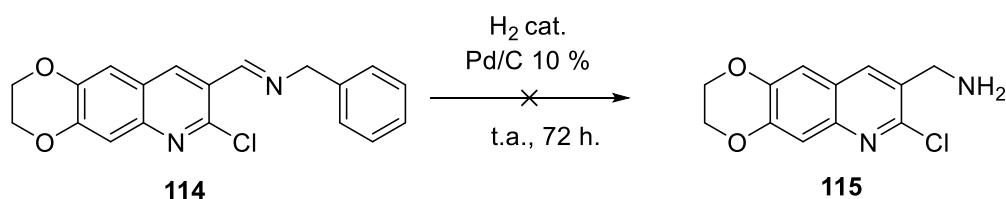
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,68

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 4,35-4,40 (m, 4H, CH₂-O (x2)); 4,90 (s, 2H, CH₂-Ar); 7,13-7,20 (m, 3H, H-3', H-4', H-5'); 7,38 (d, $J = 8\text{Hz}$, 2H, H-2', H-6'); 7,44 (s, 1H, H-10); 7,48 (s, 1H, H-5); 8,68 (s, 1H, H-9); 8,86 (s, 1H, -C=C-H).

Preparació de (7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolin-8-il)metilenamina (115)



Procediment

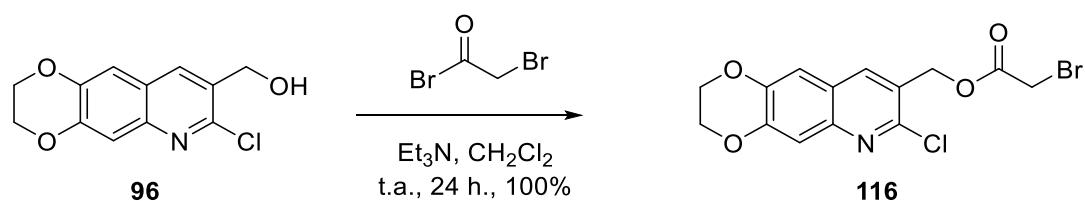
A un matràs de coll llarg, emprat per a les reaccions d'hidrogenació, s'hi introdueix el producte de partida **114** (0,215 g, 0,662 mmol, 1 eq) dissolt en 30 mL de metanol. A continuació, s'hi addiciona una suspensió de pal·ladi carbó al 10% (p/p) (0,022 g) en el mateix dissolvent i el matràs es col·loca en un sistema d'hidrogenació proveït amb una columna d'1 L que conté l'hidrogen. Es deixa reaccionar sota agitació constant i a temperatura ambient durant 72 hores.

Final de reacció

Es filtra el pal·ladi a pressió atmosfèrica amb doble paper de filtre i s'evapora el metanol a sequedat.

Es realitza un espectre d'RMN-¹H del producte obtingut, que confirma que no s'ha obtingut l'estructura desitjada **115**.

Preparació de 2-bromoacetat de (7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolin-8-il)metil (116)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi afegeix el producte de partida **96** (0,063 g, 0,250 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de diclorometà i la trietilamina (0,042 mL, d = 0,726 g/mL, 0,300 mmol, 1,2 eq). A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,026 mL, d = 2,317 g/mL, 0,300 mmol, 1,2 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar a temperatura ambient i sota agitació constant durant 24 hores.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (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.

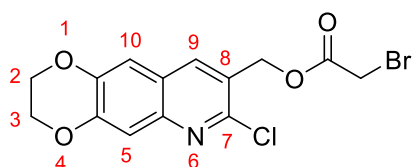
El producte obtingut **116**, un semisòlid marró, s'utilitza per dur a terme la següent reacció sense purificació prèvia per evitar la pèrdua de producte.

Massa teòrica: 0,093 g

Massa obtinguda: 0,093 g

Rendiment: 100%

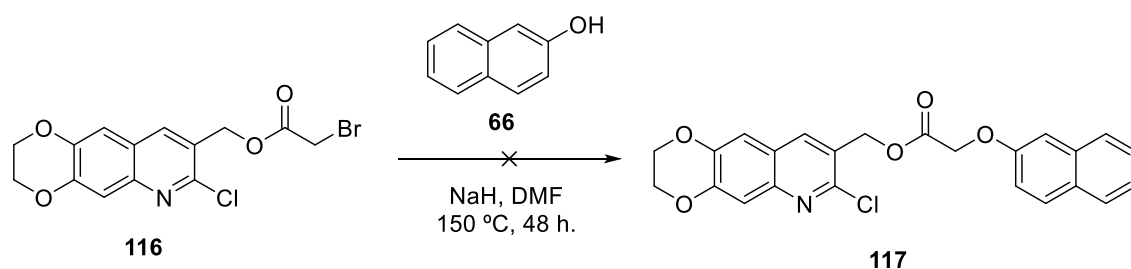
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,74

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 4,37 (sc, 4H, CH₂-O (x2)); 4,73 (s, 2H, CH₂-Br); 5,35 (s, 2H, CH₂-O); 6,86 (s, 1H, H-10); 7,08 (s, 1H, H-5); 8,04 (s, 1H, H-9).

Preparació de 2-(naftalen-2-iloxi)acetat de (7-cloro-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolin-8-il)metil (117)



Procediment

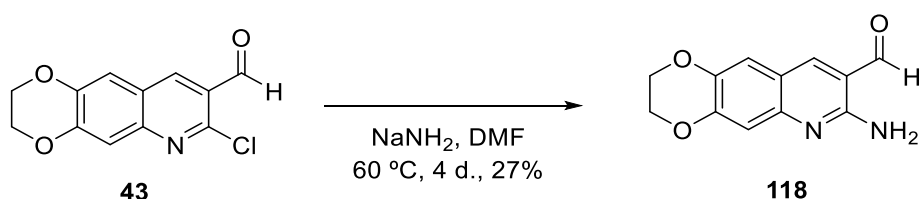
A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi addiciona el β-naftol (**66**) (0,035 g, 0,309 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de DMF i l'NaH (0,008 g, 0,340 mmol, 1,1 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix l'èster **116** (0,115 g, 0,309 mmol, 1 eq). La mescla resultant es deixa reaccionar, amb agitació constant, a 150 ± 10 °C durant 48 hores.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Es realitza un espectre d'RMN-¹H del producte obtingut, que confirma que no s'ha obtingut l'estructura desitjada **117**.

Preparació de 7-amino-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolina-8-carbaldehid (**118**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'aldehid de partida **43** (0,325 g, 1,302 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. Seguidament, s'hi afegeix NaNH₂ (excés) i la mescla es deixa reaccionar durant 4 dies a 60 ± 10 °C, incrementant la temperatura fins a temperatura de reflux les últimes 24 hores.

Final de reacció

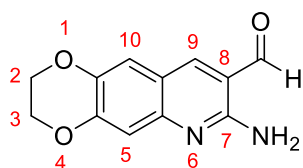
S'addicionen 20 mL d'aigua i es realitza una extracció amb èter dietílic (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtren i s'evaporen a sequedat. El producte obtingut **118** és un sòlid cristal·lí groguenc, que es purificarà a l'etapa següent.

Massa obtinguda: 0,082 g

Massa teòrica: 0,300 g

Rendiment: 27%

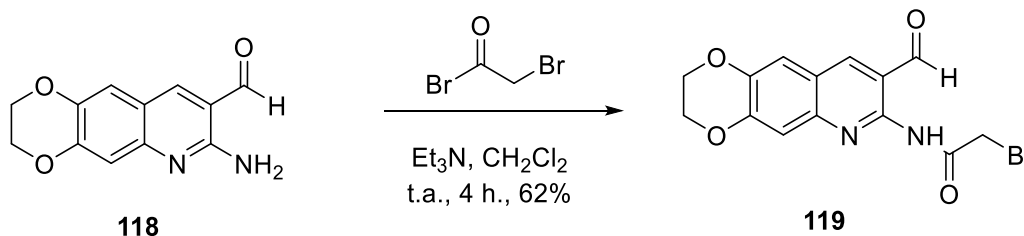
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,68

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 4.32-4.34 (m, 4H, CH₂-O x 2); 7.08 (s, 1H, H-10); 7.16 (s, 1H, H-5); 8.29 (s, 1H, H-9); 10.12 (s, 1H, CHO).

Preparació de 2-bromo-N-(8-formil-2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolin-7-il)acetamida (119)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat s'hi afegeix l'amina de partida **118** (0,082 g, 0,356 mmol, 1 eq) dissolta en 15 mL de diclorometà i la trietilamina (0,060 mL, d = 0,726 g/mL, 0,427 mmol, 1,2 eq). A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,037 mL, d = 2,317 g/mL, 0,427 mmol, 1,2 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 4 hores.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (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.

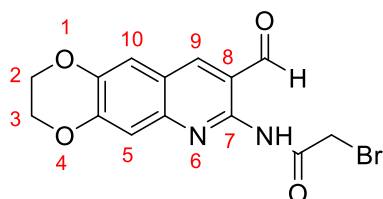
El producte obtingut **119**, un sòlid pulverulent taronja, s'obté amb una puresa suficient per procedir amb la seqüència sintètica.

Massa teòrica: 0,125 g

Massa obtinguda: 0,078 g

Rendiment: 62%

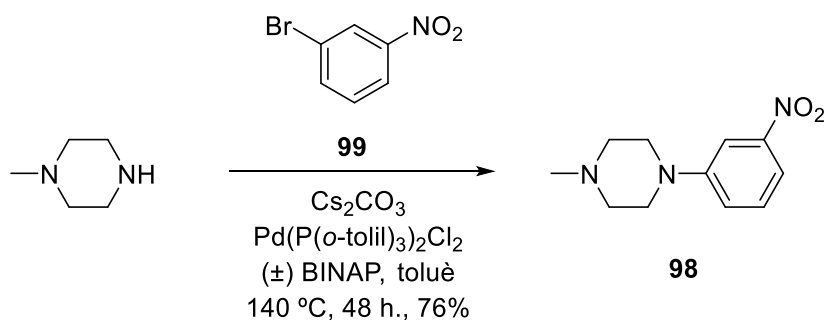
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,76

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 4,32-4,34 (m, 4H, CH₂-O x 2); 5,33 (s, 2H, CH₂-Br); 7,10 (s, 1H, H-10); 7,17 (s, 1H, H-5); 7,88 (ba, 1H, NH); 8,28 (s, 1H, H-9); 10,11 (s, 1H, CHO).

Preparació d'1-metil-4-(3-nitrofenil)piperazina (**98**)



Procediment

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 addicionen, sempre sota atmosfera inert, el 3-bromonitrobenzè (**99**) (0,600 g, 2,970 mmol, 1 eq), l'*N*-metilpiperazina (0,329 mL, d = 0,903 g/mol, 2,970 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (1,161 g, 3.564 mmol, 1,2 eq), el pal·ladi i el (±) BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (20 mL). El matràs es tanca hermèticament i la mescla es deixa reaccionar, amb agitació constant, a 140 ± 10 °C durant 48 hores. Passat aquest temps, s'observa per cromatografia de capa fina la formació d'una nova taca.

Final de reacció i purificació

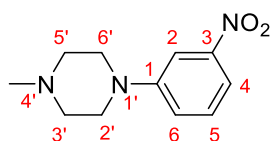
S'evapora el dissolvent a sequedat al rotavapor i el residu obtingut es purifica mitjançant una cromatografia de columna de gel de sílice. S'empren mescles d'hexà i acetat d'etil de polaritat creixent com a eluents. El producte desitjat **98** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (25:75) i s'obté un sòlid marró.

Massa teòrica: 0.657 g

Massa obtinguda: 0,502 g

Rendiment: 76%

Dades analítiques

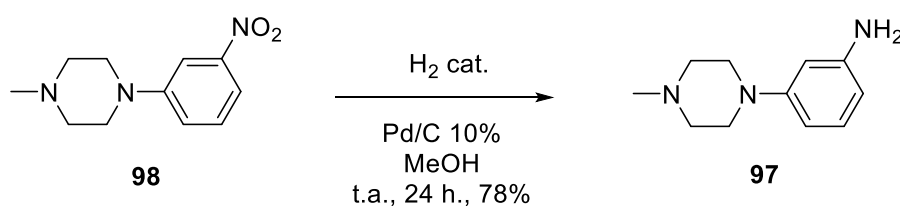


R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,43

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,36 (s, 3H, CH₃-N); 2,58 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N); 3,30 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-Ar); 7,18 (dd, *J* = 2 Hz, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 7,36 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 7,64 (dd, *J* = 2 Hz, *J* = 8 Hz, 1H, H-4); 7,71 (d, *J* = 2 Hz, 1H, H-2).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 46,1 (CH₃-N); 48,6 (CH₂, CH₂-N-Ar); 48,9 (CH₂, CH₂-N-Ar); 54,9 (CH₂, CH₂-N-CH₃); 55,0 (CH₂, CH₂-N-CH₃); 109,3 (CH, C-2); 112,8 (CH, C-4); 118,5 (CH, C-6); 129,1 (CH, C-5); 144,9 (C, C-1); 151,6 (C, C-3).

Preparació d'1-metil-4-(3-aminofenil)piperazina (97)



Procediment

A un matràs de coll llarg, emprat per a les reaccions d'hidrogenació, s'hi introdueix el producte de partida **98** (0,927 g, 4,388 mmol, 1 eq) dissolt en 30 mL de metanol. A continuació, s'hi addiciona una suspensió de pal·ladi carbó al 10% (p/p) (0,093 g) en el mateix dissolvent i el matràs es col·loca en un sistema d'hidrogenació proveït amb una columna d'1 L d'hidrogen. Es deixa reaccionar, sota agitació constant i a temperatura ambient, 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.

Purificació

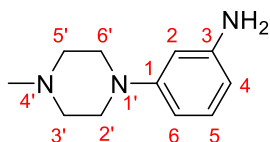
El producte final és un semisòlid marró que no es purifica sinó que es fa en l'etapa següent. El procés de purificació per cromatografia de columna disminueix considerablement el rendiment ja que el producte queda parcialment retingut a la sílice.

Massa teòrica: 0,838g

Massa obtinguda: 0,651 g

Rendiment: 78%

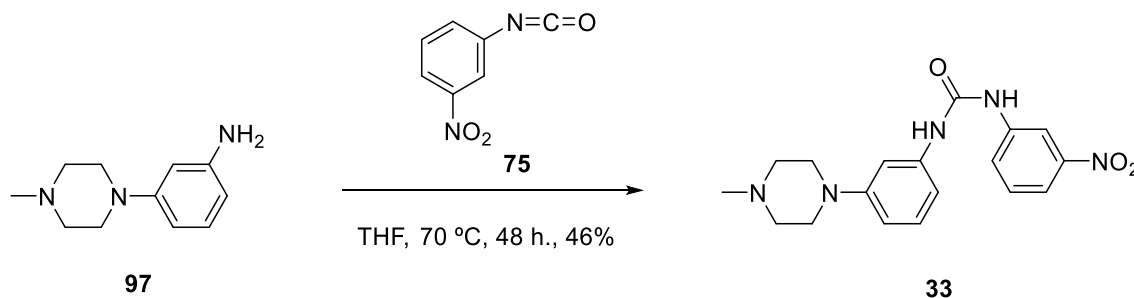
Dades analítiques



R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,25

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,36 (s, 3H, CH₃-N); 2,57 (t, J = 5 Hz, 4H, CH₂-N); 3,19 (t, J = 5 Hz, 4H, CH₂-N-Ar); 3,6 (ba, 2H, NH₂-); 6,20 (dd, J = 2 Hz, J = 8 Hz, 1H, H-4); 6,26 (d, J = 2 Hz, 1H, H-2); 6,35 (dd, J = 2 Hz, J = 8 Hz, 1H, H-6); 7,04 (t, J = 8 Hz, 1H, H-5).

Preparació d'1-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)-3-(3-nitrofenil)urea (33)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'introdueix el producte de partida **97** (0,057 g, 0,298 mmol, 1 eq) dissolt en 15 mL de THF i es deixa reaccionar a temperatura ambient fins que es forma una solució homogènia. A continuació, s'hi afegeix l'isocianat **75** (0,050 g, 0,298 mmol, 1 eq) i la reacció s'escalfa a 70 ± 10 °C durant 48 hores.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb dietilèter (3 x 15 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

Purificació

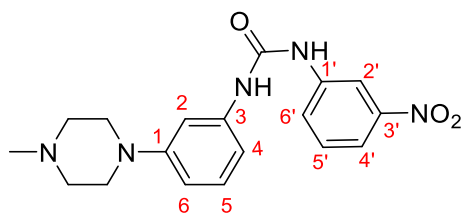
El residu obtingut es purifica mitjançant una columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **33** elueix amb una polaritat d'acetat d'etil/metanol (90:10) i s'obté un sòlid taronja.

Massa teòrica: 0,106 g

Massa obtinguda: 0,049 g

Rendiment: 46%

Dades analítiques



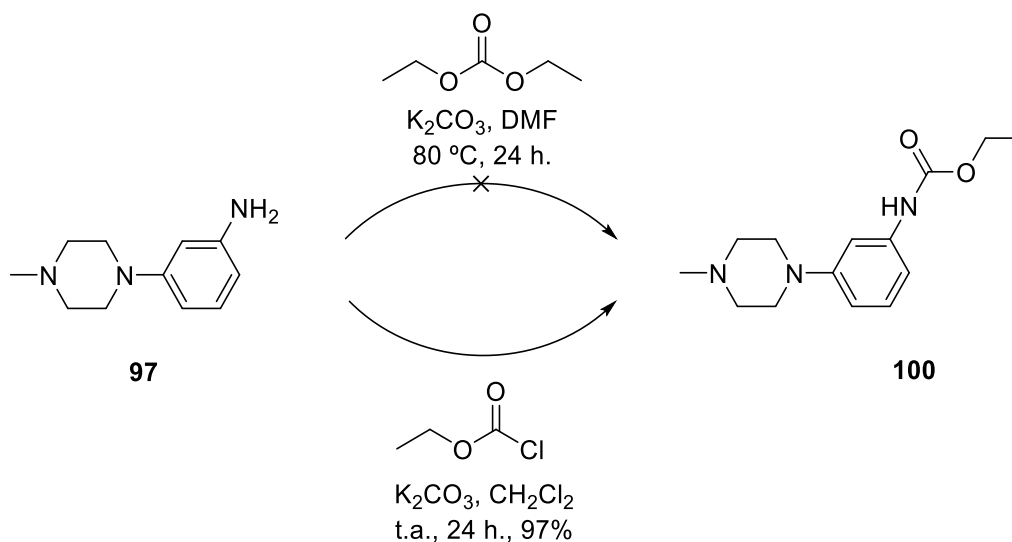
R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,35

Pf: 112-114 °C (Acetat d'etil/Metanol)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,29 (s, 3H, CH₃-N); 2,48 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N); 3,09 (t, 4H, CH₂-N-Ar); 6,58 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 6,96 (s, 1H, H-2); 7,08 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 7,28 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5'); 7,63 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4'); 7,73 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6'); 7,80 (ba, 1H, NH); 8,09 (s, 1H, H-2'); 8,18 (ba, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 45,8 (CH₃-N); 48,4 (CH₂-N-Ar); 54,8 (CH₂-N-); 107,9 (CH, C-2); 111,3 (CH, C-4); 111,6 (CH, C-6); 113,7 (CH, C-2'); 117,1 (CH, C-4'); 125,0 (CH, C-6'); 129,5 (CH, C-5); 129,9 (C, C-3); 138,9 (C, C-1'); 140,2 (CH, C-5'); 148,3 (C, C-3'); 151,8 (C, C-1); 153,6 (C, -CO).

Preparació de (3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)carbamat d'etil (100)



Condicions a):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix l'anilina de partida **97** (0,134 g, 0,701 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,116 g, 0,839 mmol, 1,2 eq). La mescla resultant s'agita constantment a temperatura ambient durant

30 minuts i, posteriorment, s'afegeix el dietilcarbonat (0,094 mL, $d = 0,975 \text{ g/mL}$, 0,770 mmol, 1,1 eq). La mescla s'escalfa a $80 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ i es deixa reaccionar un total de 24 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_2SO_4 anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa el producte final esperat **100** en l'espectre d'RMN- ^1H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Condicions b):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi afegeix l'anilina de partida **97** (0,105 g, 0,549 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL de diclorometà i es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,091 g, 0,658 mmol, 1,2 eq) i el cloroformat d'etil (0,063 mL, $d = 1.135 \text{ g/mL}$, 0,658 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb 20 mL d'aigua destil·lada (3 x 20 mL). La fase orgànica resultant s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

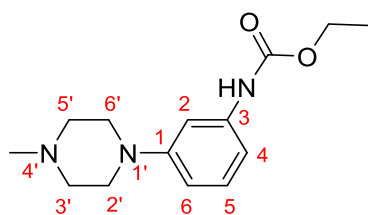
El producte final **100** s'obté amb una puresa suficient per seguir amb la seqüència sintètica i, per tant, no requereix purificació posterior.

Massa teòrica: 0,145 g

Massa obtinguda: 0,140 g

Rendiment: 97%

Dades analítiques

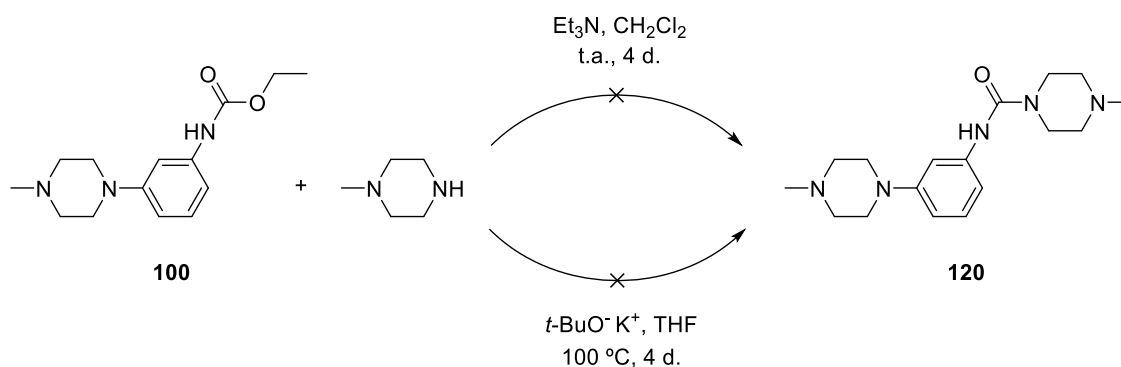


R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,42

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,30 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH₃-); 2,35 (s, 3H, CH₃-N); 2,56 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-); 3,22 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-Ar); 4,20 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂-O-); 6,58 (s, 1H, H-2); 6,62 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 6,72 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4); 7,18 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 14,6 (CH₃-, CH₃-CH₂); 46,0 (CH₃-N); 48,8 (CH₂, CH₂-N-Ar); 48,8 (CH₂, CH₂-N-Ar); 55,0 (CH₂, CH₂-N-CH₃); 14,6 (CH₂-, CH₂-CH₃); 109,9 (CH, C-2); 110,8 (CH, C-4); 123,2 (CH, C-6); 129,4 (CH, C-5); 139,0 (C, C-1); 151,9 (C, C-3); 153,8 (C, C=O).

Preparació de 4-metil-*N*-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)piperazina-1-carboxamida (120)



Condicions a):

Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi introdueix l'*N*-metilpiperazina (0,046 mL, *d* = 0,903 g/mL, 0,418 mmol, 1,1 eq) dissolta en 20 mL de diclorometà i, a continuació, s'hi afegeix la trietilamina (0,064 mL, *d* = 0,726 g/mL, 0,456 mmol, 1,2 eq) i el carbamat de partida **100** (0,100 g, 0,380 mmol, 1 eq). La mescla es deixa reaccionar, sota agitació constant, durant 3 dies. Passat aquest temps, s'observa en el control de reacció que encara queda producte de partida en el cru de reacció. S'hi afegeixen 0,064 mL (0,456 mmol) més de trietilamina i 0,046 mL (0,418 mmol) de piperazina i es deixa reaccionar durant 24 hores més.

Final de reacció

S'afegeix aigua destil·lada al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (3 x 20). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa el producte final esperat **120** en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Condicions b):

Procediment

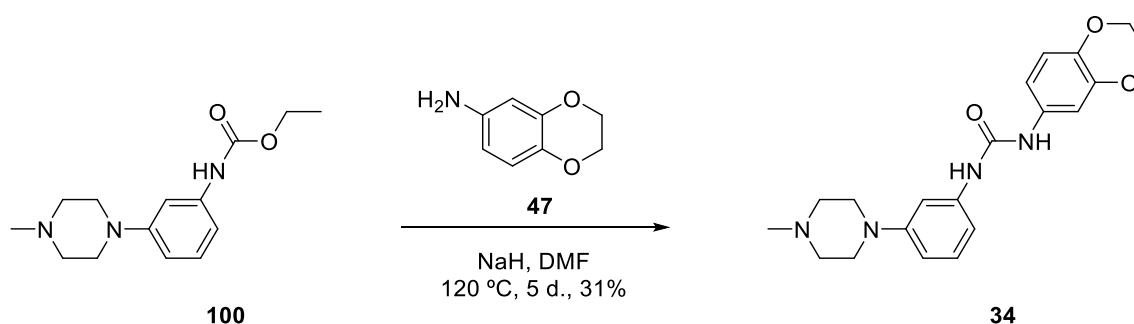
A un matràs de 50 mL de capacitat, prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi introdueix el *terc*-butòxid potàssic (0,085 g, 0,760 mmol, 2 eq) dissolt en 20 mL de THF i es deixa agitant a temperatura ambient durant 1 minut. A continuació, s'hi afegeix el carbamat **100** (0,100 g, 0,380 mmol, 1 eq) i l'*N*-metilpiperazina (0,042 mL, d = 0,903 g/mL, 0,380 mmol, 1 eq) a la mescla i es deixa reaccionar, a temperatura ambient i amb agitació constant, durant 24 hores.

Passat aquest temps, s'observa en el control de reacció que encara no s'ha format producte. S'hi afegeix 0,042 mL (0,380 mmol) de piperazina i la reacció s'escalfa a 100 ± 10 °C. Es deixa reaccionar la mescla amb aquestes condicions durant 72 hores més.

Final de reacció

S'evapora el dissolvent de reacció al rotavapor. El residu obtingut es dissol amb 15 mL d'aigua i s'extreu amb acetat d'etil (3 x 15 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit. No s'observa el producte final esperat **120** en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Preparació d'1-(2,3-dihidrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-il)-3-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)urea (**34**)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'hi addiciona l'1,4-benzodioxà-6-amina (**47**) (0,077 g, 0,505 mmol, 1,1 eq) dissolt en 10 mL de DMF i l'NaH (0,014 g, 0,597 mmol, 1,3 eq) i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 30 minuts. A continuació, s'hi afegeix el carbamat **100** (0,121 g, 0,459 mmol, 1 eq) i la mescla es deixa reaccionar durant 7 dies a temperatura ambient.

No s'observa la formació de producte. Per tal d'afavorir la reacció, s'augmenta la temperatura a 120 °C i s'afegeix Et₃N i CDI en quantitats catalítiques. Es mantenen aquestes condicions durant 5 dies, fins la formació d'una nova taca en el control de reacció per CCF.

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'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

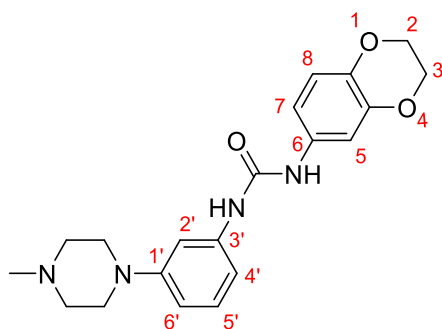
El producte final **34** es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice manualment, eluint amb una polaritat d'acetat d'etil/metanol (80:20). S'obté un semisòlid marró.

Massa teòrica: 0,174 g

Massa obtinguda: 0,054 g

Rendiment: 31%

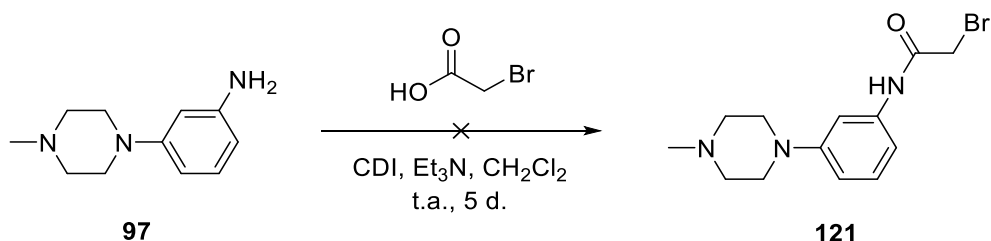
Dades analítiques



R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,34

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,37 (s, 3H, CH₃-N-); 2,58 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-); 3,18 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-Ar); 4,21 (s, 4H, CH₂-O (x2)); 6,59 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6'); 6,77 (s, 1H, H-2'); 6,78-6,82 (m, 2H, H-4', H-5); 6,95 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-8); 7,05 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-7); 7,13 (t, *J* = 8 Hz, H-5').

Preparació de 2-bromo-*N*-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)acetamida (**121**)



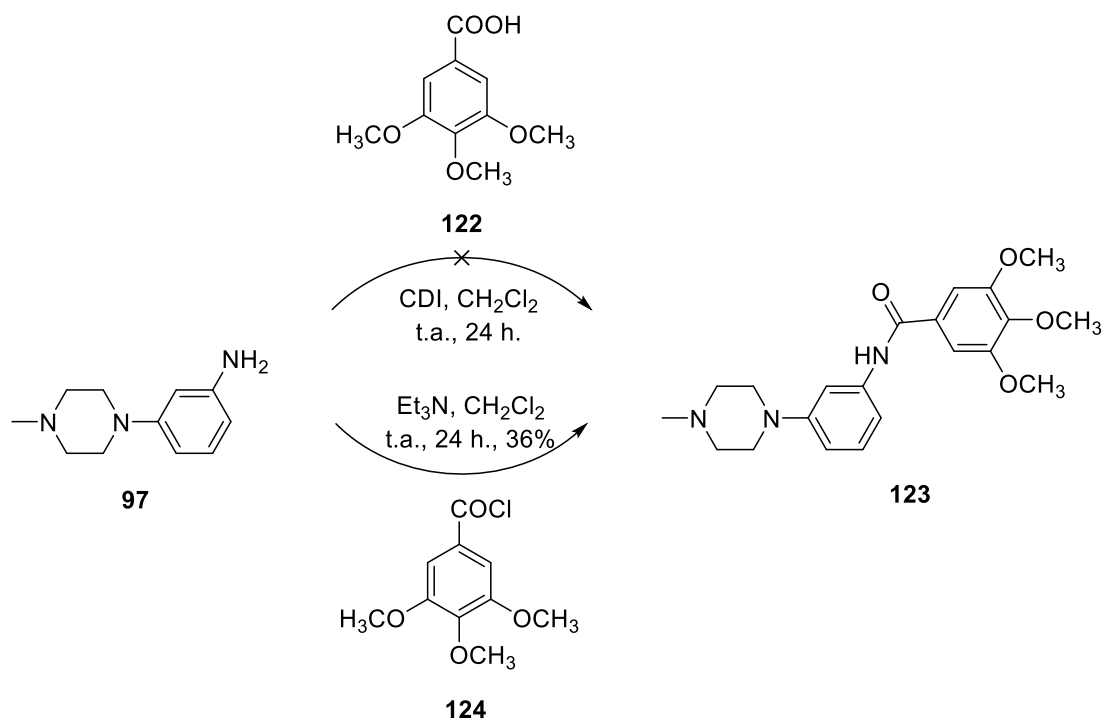
Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat s'hi introdueix l'àcid bromoacètic (0,120 g, 0,863 mmol, 1,3 eq) dissolt en 20 mL de diclorometà i, a continuació, s'hi afegeix el CDI (0,140 g, 0,863 mmol, 1,3 eq) i la trietilamina (0,112 mL, d = 0,726 g/mL, 0,797 mmol, 1,2 eq). La mescla es deixa reaccionar sota agitació constant durant 30 minuts. Finalment, s'hi afegeix la piperazina **97** (0,127 g, 0,664 mmol, 1 eq) i la mescla resultant es deixa reaccionar durant 5 dies a temperatura ambient.

Final de reacció

S'afegeix aigua destil·lada al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (3 x 20). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa el producte final esperat **121** en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Preparació de 3,4,5-trimetoxi-*N*-(3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)benzamida (**123**)



Condicions a):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica, s'hi introdueix l'àcid 3,4,5-trimetoxibenzoic (**122**) (0,438 g, 2,065 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de diclorometà i, a continuació, s'hi afegeix l'*N,N*-carbonilimidazole (0,335 g, 2,065 mmol, 1 eq). La mescla resultant s'agita constantment a temperatura ambient durant 30 minuts i, posteriorment, s'hi afegeix l'anilina **97** (0,395 g, 2,065 mmol, 1 eq). La mescla es deixa reaccionar sota agitació constant durant 24 hores.

Final de reacció

S'afegeix aigua destil·lada al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (3 x 20). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa el producte final esperat **123** en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Condicions b):

Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi afegeix l'anilina de partida **97** (0,212 g, 1,108 mmol, 1 eq) dissolta en 20 mL de diclorometà i la mescla es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi addiciona la trietilamina (0,186 mL, d = 0,726 g/mL, 1,326 mmol, 1,2 eq) i el clorur d'àcid **124** (en excés), prèviament format a través de l'àcid corresponent i el clorur de tionil. La mescla resultant es deixa temperar i es fa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

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 dissolució d'HCl (2N). La fase aquosa es basifica amb NaOH (2N) fins a pH = 8-9 i s'extreu amb diclorometà (3 x 15 mL). A continuació, la fase orgànica resultant s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

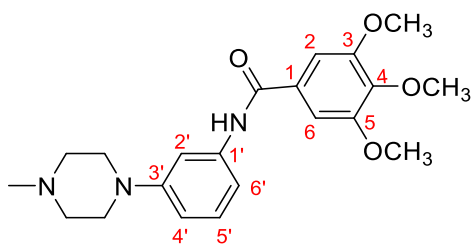
El producte **123** s'obté en forma de sòlid marró i amb un grau de puresa elevat, per tant, no requereix purificació posterior.

Massa teòrica: 0,427 g

Massa obtinguda: 0,155 g

Rendiment: 36%

Dades analítiques

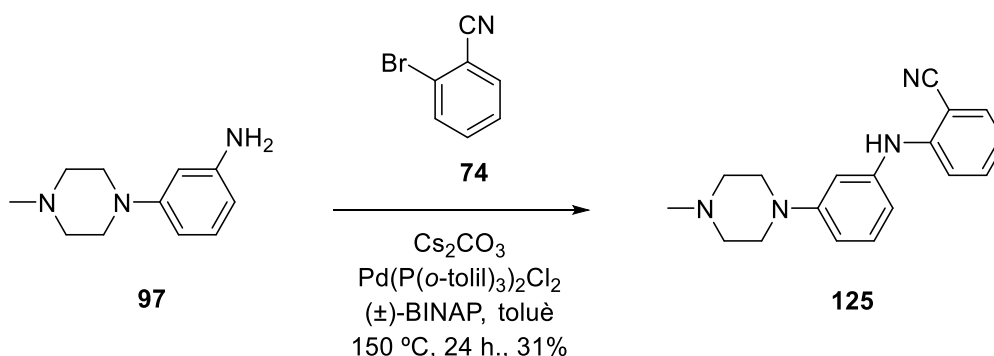


R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,39

RMN- ^1H (CDCl $_3$, 400 MHz), δ (ppm): 2,36 (s, 3H, CH $_3$ -N); 2,57 (t, J = 5 Hz, 4H, CH $_2$ -N (x2)); 3,24 (t, J = 5 Hz, 4H, CH $_2$ -N-Ar (x2)); 3,90 (s, 3H, CH $_3$ -O-); 3,91 (s, 6H, CH $_3$ -O- (x2)); 6,72 (d, J = 8 Hz, 1H, H-4'); 6,95 (d, J = 8 Hz, 1H, H-6'); 7,08 (s, 2H, H-2, H-6); 7,22 (t, J = 8 Hz, 1H, H-5'); 7,47 (s, 1H, H-2'); 7,82 (s, 1H, NH-).

RMN- ^{13}C (CDCl $_3$, 100,6 MHz), δ (ppm): 46,0 (CH $_3$ -N); 48,8 (CH $_2$, CH $_2$ -N-Ar (x2)); 55,0 (CH $_2$, CH $_2$ -N-); 56,2 (CH $_3$ -O- (x2)); 60,9 (CH $_3$ -O-); 104,5 (CH, C-2, C-6); 107,9 (CH, C-2'); 111,3 (CH, C-4'); 112,1 (CH, C-6'); 129,4 (CH, C-5'); 130,5 (C, C-1); 138,9 (C, C-1'); 141,0 (C, C-4); 151,9 (C, C-3'); 153,2 (C, C-3, C-5); 165,7 (C, C=O).

Preparació de 2-((3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)benzoni-tril (125)



Procediment

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'anilina **97** (0,114 g, 0,596 mmol, 1 eq), el 2-bromobenzonitril (**74**) (0,108 g, 0,596 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (0,233 g, 0,715 mmol, 1,2 eq), el pal·ladi i el (\pm)-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (20 mL). El matràs es tanca i la mescla es deixa reaccionar, amb agitació constant, a 150 ± 10 °C durant 24 hores. Passat aquest temps, s'observa en el control de reacció la formació d'una nova taca.

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 dissolució d'HCl (2N). La fase aquosa es basifica amb NaOH (2N) i s'extreu amb diclorometà (3 x 15 mL). A continuació, la fase orgànica resultant s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

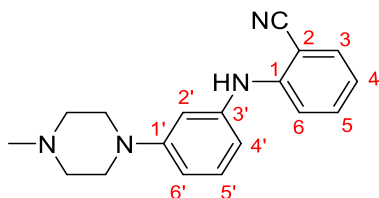
El producte **125** s'obté en forma de sòlid marró i amb un grau de puresa elevat, per tant, no requereix purificació posterior.

Massa teòrica: 0,174 g

Massa obtinguda: 0,054 g

Rendiment: 31%

Dades analítiques



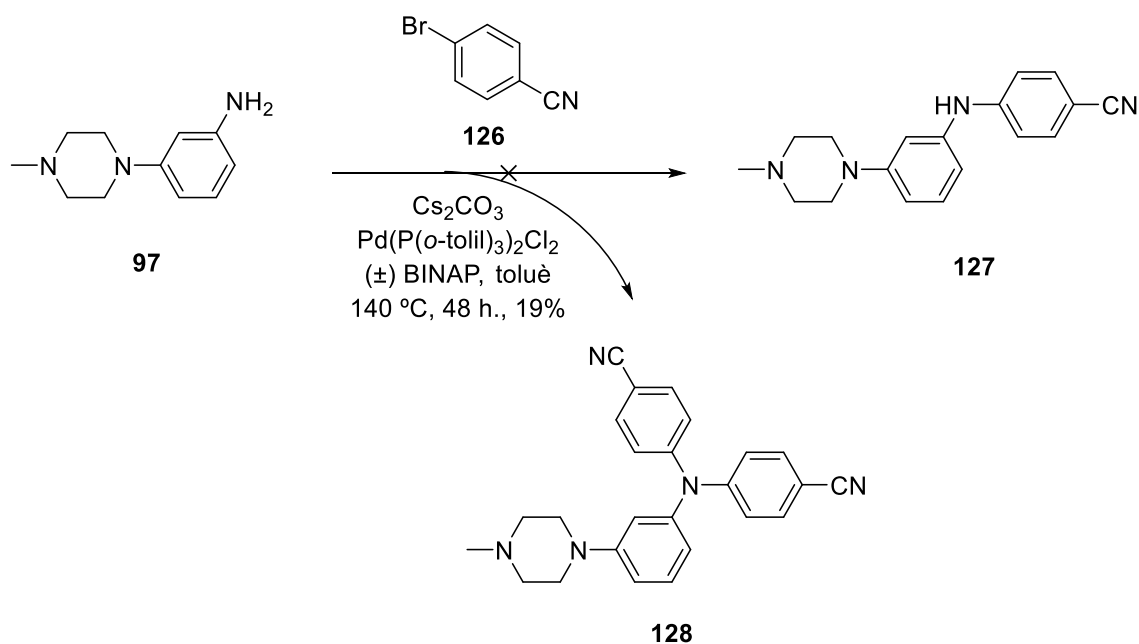
R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,41

Pf: 79-81 °C (Diclorometà)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,35 (s, 3H, CH₃-N); 2,55 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-); 3,21 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-Ar); 6,32 (s, 1H, H-2'); 6,78-6,83 (m, 2H, H-4', H-6'); 6,81 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5'); 7,22-7,27 (m, 2H, H-4, H-6); 7,38 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-3); 7,51 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 46,1 (CH₃-N); 48,8 (CH₂, CH₂-N-Ar (x2)) ; 55,0 (CH₂, CH₂-N- (x2)); 98,2 (C, C-2); 109,3 (CH, C-2'); 111,9 (CH, C-6'); 112,8 (CH, C-4'); 114,4 (CH, C-4); 115,5 (C, C≡N); 119,0 (CH, C-6); 129,7 (CH, C-5'); 133,0 (CH, C-3); 133,9 (CH, C-5); 140,7 (C, C-3'); 147,5 (C, C-1); 152,5 (C, C-1').

Preparació de 4-((3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)benzoni-tril (**127**)



Procediment

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'anilina **97** (0,075 g, 0,392 mmol, 1 eq), el 4-bromobenzonitril (**126**) (0,071 g, 0,392 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (0,153 g, 0,470 mmol, 1,2 eq), el pal·ladi i el (\pm) BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (20 mL). El matràs es tanca i la mescla es deixa reaccionar, amb agitació constant, a 140 ± 10 °C durant 48 hores. Passat aquest temps, s'observa en el control de reacció la formació d'una nova taca corresponent al producte disubstituit **128**.

Final de reacció

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_2SO_4 anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

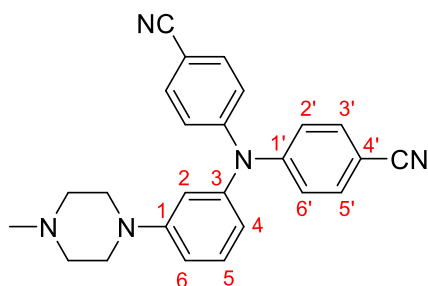
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f . El producte obtingut **128** és un sòlid groc que elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (20:80).

Massa teòrica: 0,075 g

Massa obtinguda: 0,030 g

Rendiment: 19%

Dades analítiques

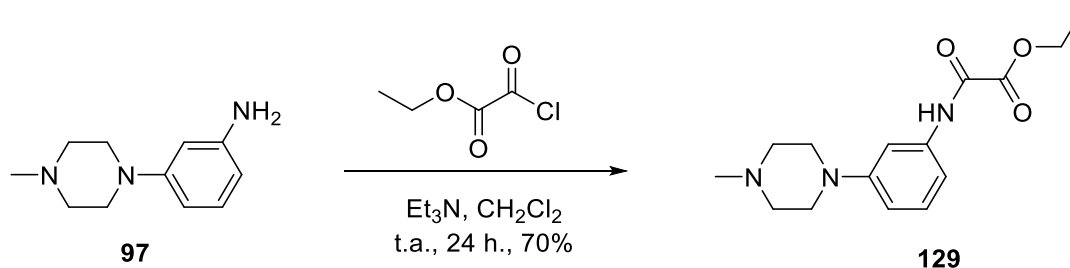


R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,51

Pf: 90-92 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,33 (s, 3H, CH₃-N); 2,54 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-); 3,15 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-Ar); 6,52 (d, *J* = 8 Hz, H-4); 6,62 (s, 1H, H-2); 6,81 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 7,11 (d, *J* = 8,8 Hz, 4H, H-3', H-5'(x2)); 7,25 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 7,52 (d, *J* = 8,8 Hz, 4H, H-3', H-4'(x2)).

Preparació de 2-((3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oxoacetat d'etil (129)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat s'hi afegeix l'anilina de partida **97** (0,114 g, 0,596 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL de diclorometà i es refreda amb un bany extern de gel i aigua. A continuació, s'hi addiciona la trietilamina (0,125 mL, *d* = 0,726 g/mL, 0,894 mmol, 1,5 eq), el cloroacetat d'etil (0,082 mL, *d* = 1,222 g/mL, 0,718 mmol, 1,2 eq) i es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides es renten amb 20 mL d'aigua destil·lada (3 x 20 mL). La fase orgànica resultant s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

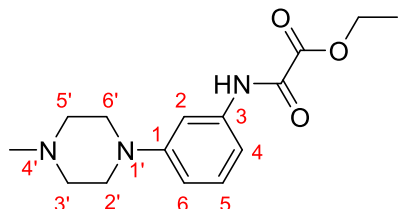
El producte final **129** s'obté amb la puresa suficient per seguir amb la seqüència sintètica.

Massa teòrica: 0,174 g

Massa obtinguda: 0,121 g

Rendiment: 70%

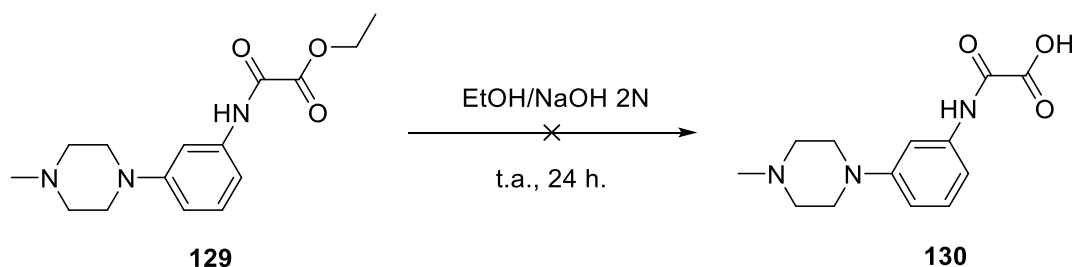
Dades analítiques



R_f (AcOEt/MeOH (5:5)): 0,32

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,42 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH₃-); 2,42 (s, 3H, CH₃-N); 2,68 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-); 3,29 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N-Ar); 4,39 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH₂-O-); 6,74 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 6,99 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4); 7,22 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 7,39 (s, 1H, H-2); 8,82 (ba, 2H, NH₂).

Preparació de l'àcid 2-((3-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-2-oxoacètic (130)



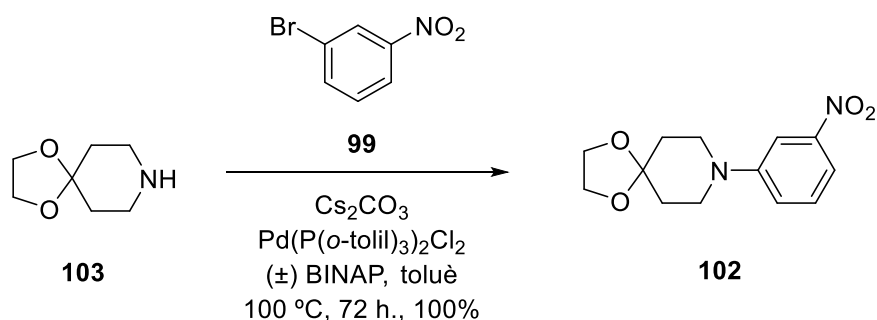
Procediment

A un matràs de 50 mL s'introdueix la piperazina de partida **129** (0,100 g, 0,343 mmol, 1 eq) dissolta en 2 mL d'etanol. A continuació, s'hi afegeixen 8 mL d'una dissolució aquosa de NaOH (2N) i la mescla es deixa reaccionar, sota agitació constant i a temperatura ambient, durant 2 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 (2N) fins a $pH = 3-4$.

Final de reacció

El cru de reacció s'extreu amb diclorometà (3 x 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. Per control de capa fina s'observa que s'ha hidrolitzat l'amida.

Preparació de 8-(3-nitrofenil)-1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decà (102)



Procediment

A un matràs de 100 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'1,4-dioxa-8-azaspiro (103) (0,635 mL, $d = 1,117 \text{ g/mL}$, 4,950 mmol, 1 eq), el 3-bromonitrobenzè (99) (1,000 g, 4,950 mmol, 1 eq), el carbonat de cesi (1,774 g, 5,445 mmol, 1,1 eq), el pal·ladi i el (\pm)-BINAP (quantitat catalítica) en el si de toluè (20 mL). El matràs es tanca i la mescla es deixa reaccionar, amb agitació constant, a $100 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ durant 72 hores. Passat aquest temps, s'observa en el control de reacció la formació d'una nova taca.

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 aigua i s'assequen sobre Na_2SO_4 anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

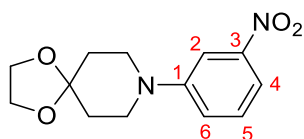
El producte obtingut 102, un semisòlid vermell, s'obté amb elevada puresa, de manera que no es procedeix a la purificació del producte sinó que s'utilitzarà per dur a terme la següent etapa de síntesi.

Massa teòrica: 1,308 g

Massa obtinguda: 1,308 g

Rendiment: 100%

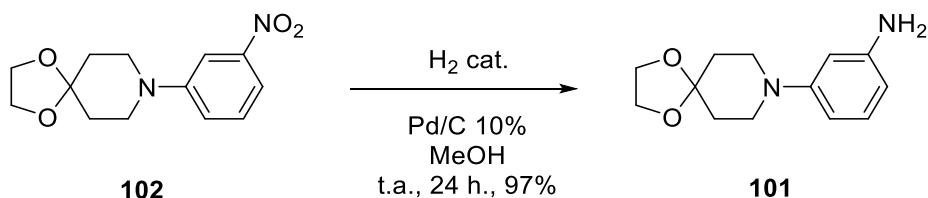
Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,57

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,84 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-C- (x2)); 3,43 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N- (x2)); 4,00 (s, 4H, CH₂-O- (x2)); 6,29 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 6,30 (s, 1H, H-2); 6,42 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4); 7,00 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5).

Preparació de 3-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-8-il)anilina (**101**)



Procediment

A un matràs de coll llarg no esmerilat, emprat per a les reaccions d'hidrogenació, s'hi introdueix el nitroderivat de partida **102** (1,300 g, 4,919 mmol, 1 eq) dissolt en 30 mL de metanol. A continuació, s'hi addiciona una suspensió de pal·ladi carbó al 10% (p/p) (0,130 g) en el mateix dissolvent i el matràs es col·loca en un sistema d'hidrogenació proveït amb una columna d'1 L d'hidrogen. Es deixa reaccionar, sota agitació constant i a temperatura ambient, 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.

Purificació

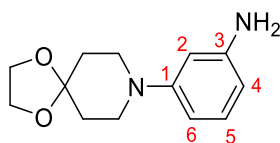
L'espectre d'RMN-¹H confirma l'obtenció del producte desitjat **101**, un sòlid marró amb una puresa suficient per procedir amb la seqüència sintètica.

Massa teòrica: 1,153 g

Massa obtinguda: 1,120 g

Rendiment: 97%

Dades analítiques

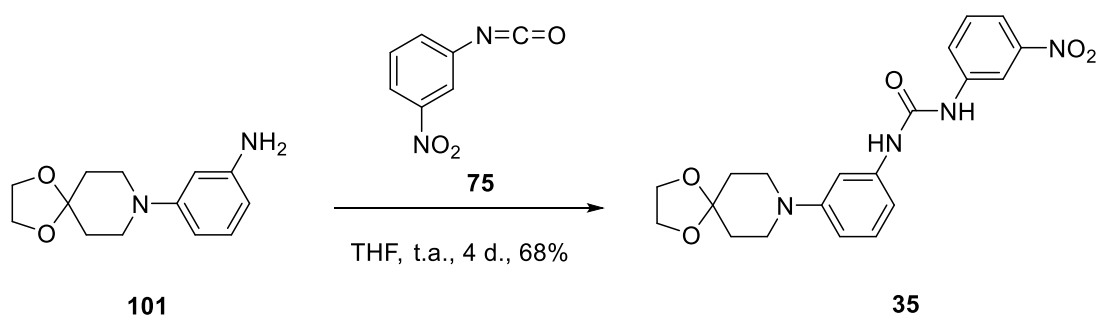


R_f (hexà/AcOEt (5:5)): 0,14

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 1,84 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-C- (x2)); 3,31 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N- (x2)); 4,00 (s, 4H, CH₂-O- (x2)); 6,20 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4); 6,30 (s, 1H, H-2); 6,38 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 7,00 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 34,5 (CH₂, CH₂-C (x2)); 47,7 (CH₂, CH₂-N-(x2)); 64,3 (CH₂, CH₂-O- (x2)); 103,5 (CH, C-2); 106,9 (CH, C-4); 107,2 (C, C-espiro); 107,3 (CH, C-6); 130,0 (CH, C-5); 147,3 (C, C-1); 152,0 (C, C-3).

Preparació d'1-(3-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-3-(3-nitrofenil)urea (35)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i prèviament flamejat sota atmosfera d'argó, s'introdueix el producte de partida **101** (0,104 g, 0,444 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de THF i es deixa reaccionar a temperatura ambient fins que es forma una solució homogènia. A continuació, s'hi afegeix l'isocianat **75** (0,073 g, 0,444 mmol, 1 eq) i es deixa reaccionar durant 24 hores a temperatura ambient.

Passat aquest temps, es realitza control per cromatografia de capa fina i s'observa encara la presència d'isocianat. Es deixa reaccionar, mantenint les mateixes condicions, durant 72 hores més.

Final de reacció

S'afegeix aigua al cru de reacció i s'extreu amb acetat d'etil (3 x 20 mL). Les fases orgàniques reunides s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor amb l'ajuda del buit.

Purificació

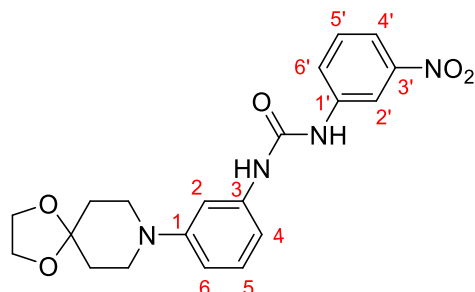
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **35** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (60:40) i s'obté un sòlid daurat.

Massa teòrica: 0.177 g

Massa obtinguda: 0,120 g

Rendiment: 68%

Dades analítiques



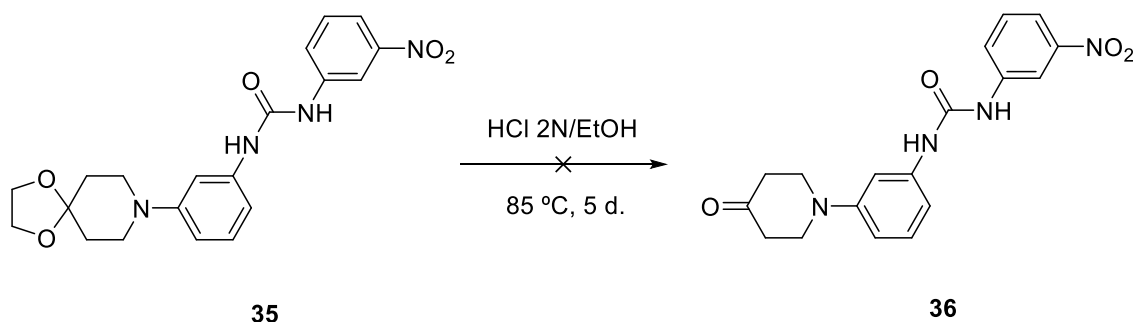
R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,20

Pf: 198-200 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (Acetona, 400 MHz), δ(ppm): 1,77 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-C (x2)); 3,32 (t, *J* = 5 Hz, 4H, CH₂-N- (x2)); 3,96 (s, 4H, CH₂-O- (x2)); 6,67 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6); 6,87 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4); 7,12 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5); 7,31 (s, 1H, H-2); 7,55 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5'); 7,81 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4'); 7,85 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-6'); 8,14 (s, 1H, NH-); 8,54 (s, 1H, NH-); 8,65 (s, 1H, H-2').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 35,3 (CH₂, CH₂-C (x2)); 48,2 (CH₂, CH₂-N (x2)); 64,9 (CH₂, CH₂-O- (x2)); 107,7 (CH, C-2); 110,6 (CH, C-6); 111,7 (CH, C-4); 113,4 (C, espiro); 113,7 (CH, C-2'); 117,3 (CH, C-6'); 125,1 (CH, C-4'); 130,1 (CH, C-5); 130,7 (CH, C-5'); 141,2 (C, C-3'); 142,4 (C, C-1); 149,7 (C, C-3'); 152,6 (C, C-1); 153,3 (C, CO).

Preparació d'1-(3-nitrofenil)-3-(3-(4-oxopiperidin-1-il)fenil)urea (36)



Procediment

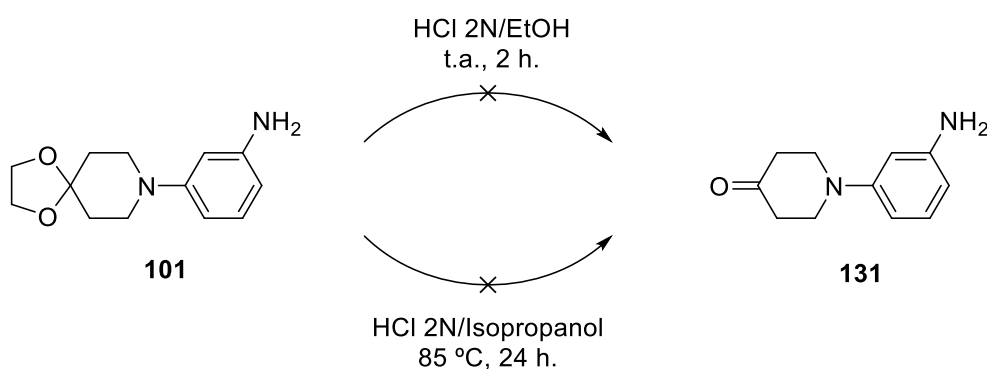
A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica i refrigerant de reflux, s'hi introdueix el producte de partida **35** (0,056 g, 0,141 mmol, 1 eq) dissolt en 3 mL

d'etanol. A continuació, s'addicionen 7 mL d'àcid clorhídric aquós (2N) i es deixa reaccionar, sota agitació constant, a 85 ± 10 °C durant 5 dies.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat i el cru de reacció es basifica amb NaOH (2N). Posteriorment, s'extreu tres cops amb diclorometà (3 x 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa el producte final esperat **36** en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Preparació d'1-(3-aminofenil)piperidin-4-ona (**131**)



Condicions a):

Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'hi introdueix el producte de partida **101** (0,145 g, 0,619 mmol, 1 eq) dissolt en 2 mL d'etanol. A continuació, s'addicionen 8 mL d'àcid clorhídric aquós (2N) i es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 2 hores.

Final de reacció

S'evapora l'etanol a sequedat i el cru de reacció es basifica amb NaOH (2N). Posteriorment s'extreu tres cops amb diclorometà (3 x 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. No s'observa el producte final esperat **131** en l'espectre d'RMN-¹H sinó que el producte obtingut correspon al producte de partida.

Condicions b):

Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'hi introdueix el producte de partida **101** (0,145 g, 0,619 mmol, 1 eq) dissolt en 5 mL d'isopropanol. A

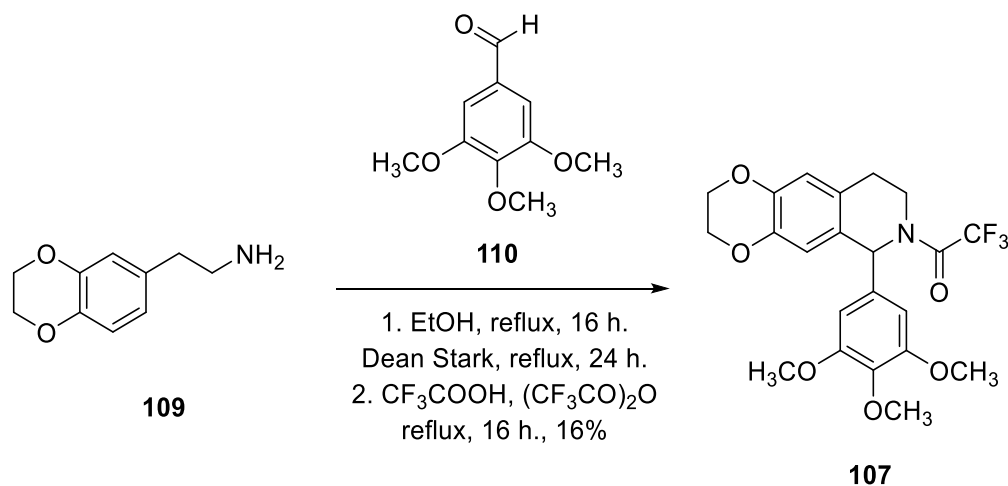
continuació, s'addicionen 5 mL d'àcid clorhídric aquós (2N) i es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 24 hores.

No s'observa la formació de producte. Per tal d'afavorir la reacció, es sotmet la mescla a una temperatura de 85 °C durant 24 hores.

Final de reacció

S'evapora l'isopropanol a sequedat i el cru de reacció es basifica amb NaOH (2N). Posteriorment, s'extreu tres cops amb diclorometà (3 x 15 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat. L'espectre d'RMN-¹H confirma que no s'ha produït la hidròlisi de l'acetat.

Preparació de 2,2,2-trifluoro-1-(6-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,3,8,9-tetrahidro-[1,4]dioxino[2,3-g]isoquinolin-7(6H)-il)etan-1-ona (107)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, prèviament flamejat i equipat d'agitació magnètica i refrigerant de reflux, s'hi introdueix el producte de partida **109** (0,250 g, 1,395 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL d'etanol, 0,1 mL d'HCl i el 3,4,5-trimetoxibenzaldehid (**110**) (0,410 g, 2,092 mmol, 1,5 eq), sota atmosfera inert. A continuació, s'addiciona trietilamina fins assolir pH = 6-7 i la mescla es manté a reflux i sota agitació constant durant 16 hores. Passat aquest temps, s'evapora el dissolvent a sequedat i el residu es dissol en acetat d'etil (20 mL), es neteja amb NaOH 2N (3 x 20 mL), es filtra i s'evapora el dissolvent al rotavapor. Posteriorment, s'afegeixen 3 mL de l'àcid trifluoroacètic i 3 mL de l'anhidrid trifluoroacètic i la mescla es deixa reaccionar, a temperatura de reflux i sota agitació constant, durant 16 hores més.

Final de reacció

S'hi addicionen 20 mL de NaOH 2N i es fa una extracció amb acetat d'etil (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

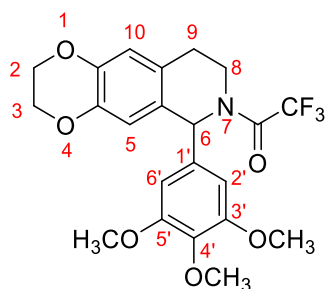
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **107** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté un semisòlid marró.

Massa teòrica: 0,638 g

Massa obtinguda: 0,102 g

Rendiment: 16%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,75

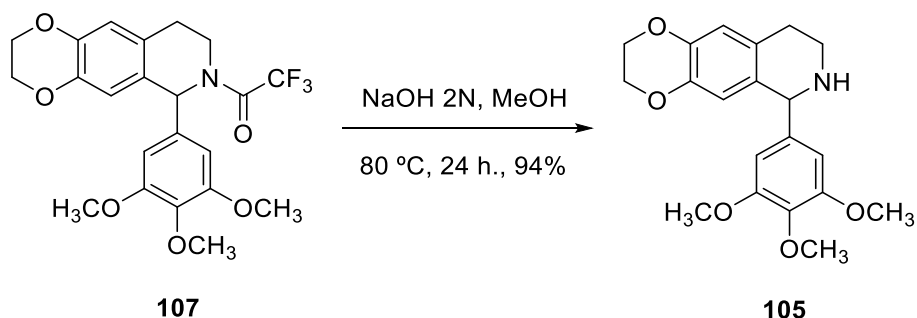
IR (film) ν (cm⁻¹): 1686 (C=O), 1504 (Ar-H), 1299 (Ar-O), 1127 (C-O).

MS (EI) (m/z, %): 453,2 (M⁺, 71), 438,2 (M⁺-CH₃, 100); 286,1 (M⁺-C₉H₁₁O₃, 32).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 2,75-2,82 (m, 1H, H-9); 2,94-3,05 (m, 2H, H-9, CH₂-N); 3,18-3,25 (m, 1H, CH₂-N); 3,77 (s, 6H, CH₃-O- (x2)); 3,83 (s, 3H, CH₂-O); 4,20-4,25 (m, 4H, CH₂-O); 6,45 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,57 (s, 1H, H-5); 6,62 (s, 1H, H-6); 6,70 (s, 1H, H-10).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz), δ (ppm): 28,4 (CH₂, CH₂N); 39,5 (CH₂, CH₂-Ar); 56,2 (CH, C-6); 60,8 (CH₃, OCH₃ (x2)); 64,4 (CH₃, OCH₃); 106,2 (CH, C-2', C-6'); 116,5 (CH, C-5); 116,3 (C, J = 287 Hz, CF₃); 116,8 (CH, C-10); 126,0 (C, C-1'); 136,5 (C, C-5a); 137,8 (C, C-9a); 142,3 (C, C-10a); 142,9 (C, C-4a); 152,9 (C, C-4'); 153,0 (C, C-3', C-5'); 156,4 (C, C=O).

Preparació de 6-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,3,6,7,8,9-hexahidro-[1,4]dioxino[2,3-g]isoquinolina (105)



Procediment

La isoquinolina-*N*-protegida **107** (0,285 g, 0,629 mmol, 1 eq) es dissol en MeOH (10 mL) en un matràs de 100 mL i s'hi addicionen 30 mL de NaOH 2N. La mescla es deixa reaccionar, sota agitació constant, a 80 ± 10 °C durant 24 hores.

Final de reacció

S'evapora el metanol al rotavapor i la fase aquosa s'extreu amb èter dietílic (3 x 20 mL). La fase orgànica resultant s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

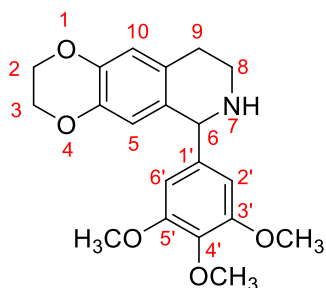
El producte final obtingut **105**, és un sòlid de color marró que s'obté amb la puresa suficient per seguir amb la seqüència sintètica i, per tant, no requereix purificació posterior.

Massa teòrica: 0,225 g

Massa obtinguda: 0,212 g

Rendiment: 94%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,10

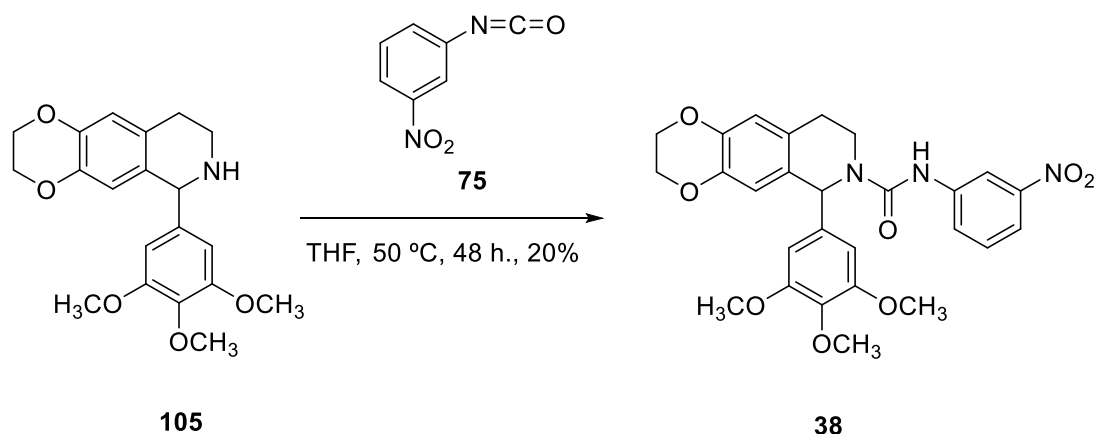
Pf: 131-133 °C (èter dietílic)

IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3100 (NH), 1589 (C=C), 1297 (Ar-O), 1125 (C-O).

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,66-2,73 (m, 1H, H-9), 2,94-3,09 (m, 2H, H-9, CH₂-N), 3,26-3,29 (m, 1H, CH₂-N), 3,82 (s, 6H, CH₃O (x2)), 3,84 (s, 3H, CH₃O), 4,21 (m, 4H, CH₂O (x 2)), 4,91 (s, 1H, H-6), 6,29 (s, 1H, H-5), 6,53 (s, 2H, H-2', H-6'), 6,64 (s, 1H, H-10).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 28,9 (CH₂, C-9); 43,1 (CH₂, CH₂N); 56,0 (CH₃, OCH₃ (x2)); 60,7 (CH₃, OCH₃); 62,4 (CH, C-6); 64,2 (CH₂, OCH₂); 64,3 (CH₂, OCH₂); 105,6 (CH, C-2', C-6'); 115,9 (CH, C-5); 116,6 (CH, C-10); 128,1 (C, C-5a); 131,3 (C, C-9a); 140,1 (C, C-1'); 141,4 (C, C-4a); 141,9 (C, C-10a); 152,8 (C, C-4'); 152,9 (C, C-3', C-5').

Preparació d'*N*-(3-nitrofenil)-6-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,3,8,9-tetrahidro-[1,4]dioxino [2,3-*g*]isoquinolina-7(6*H*)-carboxamida (**38**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'hi introdueix el producte de partida **105** (0,167 g, 0,467 mmol, 1 eq) dissolt en 20 mL de THF. A continuació, s'hi afegeix el 3-nitrofenilisocianat (**75**) (0,077 g, 0,467 mmol, 1 eq) i es deixa reaccionar durant 24 hores a temperatura ambient.

Passat aquest temps, per CCF s'observa que ha començat a formar-se un nou producte, tot i que no ha reaccionat de manera completa degut a la presència de producte inicial. Per tal d'afavorir la reacció, s'escalfa la mescla a 50 ± 10 °C i es mantenen aquestes condicions durant 24 hores més.

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 Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

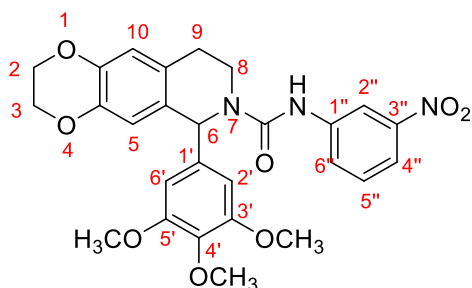
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **38** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (70:30) i s'obté un sòlid taronja.

Massa teòrica: 0,244 g

Massa obtinguda: 0,048 g

Rendiment: 20%

Dades analítiques



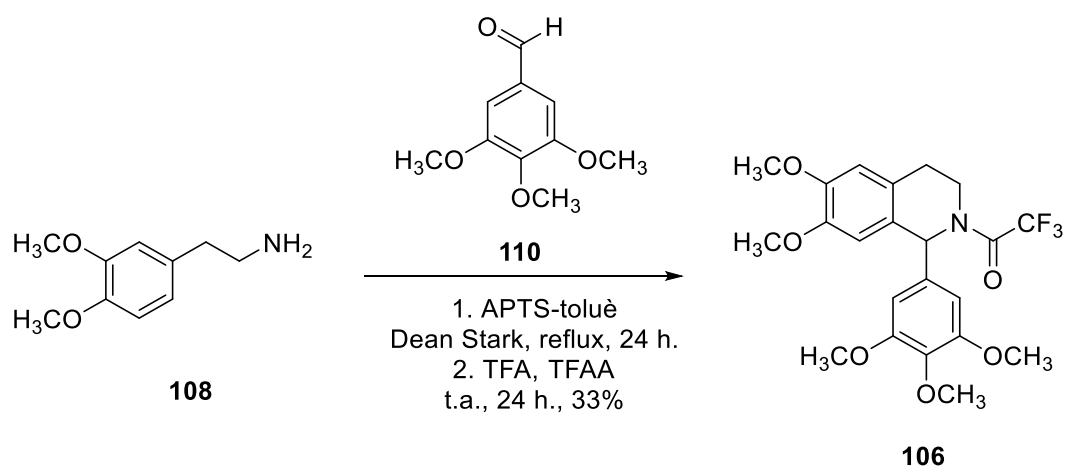
R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,35

Pf: 98-100 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,92 (m, 2H, H-9); 3,78 (m, 2H, CH₂-N); 3,81 (s, 6H, CH₃-O- (x2)); 3,83 (s, 3H, CH₃-O-); 4,25 (s, 4H, CH₂-O(x2)); 6,17 (s, 1H, H-6); 6,53 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,68 (s, 1H, H-10); 6,71 (s, 1H, H-5); 6,76 (s, 1H, NH); 7,41 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-5''); 7,80 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-6''); 7,85 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-4''); 8,18 (s, 1H, H-2'').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 27,8 (CH₂, C-9); 40,4 (CH₂, C-8); 56,2 (CH₃, CH₃-O- (x2)); 57,2 (CH₃, CH₃-O-); 60,4 (CH, C-6); 60,8 (CH₂, CH₂-O- (x2)); 104,9 (CH, C-2', C-6'); 114,4 (CH, C-5); 116,5 (CH, C-10); 116,6 (CH, C-2''); 117,5 (C, C-4''); 125,6 (CH, C-6''); 127,5 (C, C-9a); 128,4 (C, C-6a); 129,5 (CH, C-5''); 137,1 (C, C-1''); 138,1 (C, C-1'); 140,5 (C, C-4'); 142,2 (C, C-10a); 142,9 (C, C-4a); 148,4 (C, C-3''); 153,4 (C, C-3', C-5'); 154,6 (C, C=O).

Preparació de 2,2,2-trifluoro-1-(6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1*H*)-il)etan-1-ona (106)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat amb Dean-Stark i refrigerant de reflux, es disposen la fenetilamina **108** (2,000 g, 11,036 mmol, 1 eq), el 3,4,5-trimetoxibenzaldehid (**110**) (2,380 g, 12,140 mmol, 1,1 eq) i una punta d'espàtula d'APTS, dissolts en toluè anhidre. La mescla es manté a reflux i sota agitació constant durant 24 hores. Passat aquest temps, per control de capa fina s'observa la formació de l'imina corresponent. Es filtra el cru de reacció i s'afegeixen 7 mL d'àcid trifluoroacètic i 7 mL d'anhidrid trifluoroacètic. La mescla es deixa reaccionar, sota agitació constant i a temperatura ambient, durant 24 hores.

Final de reacció

S'hi addicionen 20 mL de NaOH 2N i es fa una extracció amb acetat d'etil (3 x 20 mL). Les fases orgàniques s'ajunten i s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

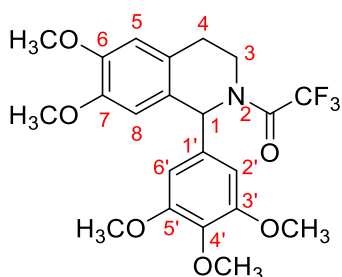
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **106** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (50:50) i s'obté un semisòlid marró clar.

Massa teòrica: 5,023 g

Massa obtinguda: 1,670 g

Rendiment: 33%

Dades analítiques

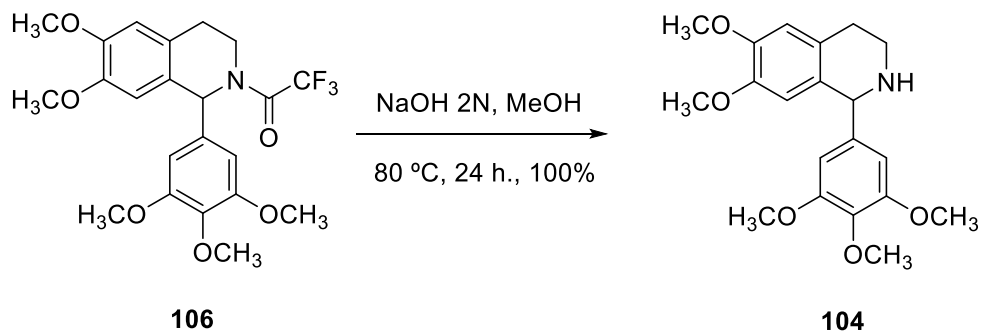


R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,75

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz), δ(ppm): 2,70-2,85 (m, 1H, H-4 ax); 2,90-3,10 (m, 1H, H-4 eq); 3,35-3,50 (m, 1H, H-3 ax); 3,68 (s, 3H, CH₃-O (x2)); 3,71 (s, 3H, CH₃-O-); 3,77 (s, 3H, CH₃-O-); 3,83 (s, 3H, CH₃-O-); 3,85-3,95 (m, 1H, H-3); 6,43 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,46 (s, 1H, H-5); 6,61 (s, 1H, H-1); 6,62 (s, 1H, H-8)

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 28,9 (CH₂, C-4); 39,6 (CH₂, C-3); 56,1 (CH₃, CH₃-O); 56,3 (CH₃, CH₃-O); 56,4 (CH₃, CH₃-O- (x 2)); 56,8 (CH₃, CH₃-O); 61,0 (CH, C-1); 106,5 (CH, C-2', C-6'); 111,2 (CH, C-8); 111,3 (CH, C-5); 116,5 (C, J = 288 Hz, CF₃); 125,1 (C, C-4a); 125,9 (C, C-8a); 136,8 (C, C-1'); 148,1 (C, C-7); 148,8 (C, C-6); 153,5 (C, C-3', C-4', C-5'); 156,0 (C, J = 36 Hz, CO).

Preparació de 6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (104)



Procediment

La isoquinolina substituïda **106** (0,639 g, 1,403 mmol, 1 eq) es dissol en MeOH (10 mL) en un matràs de 100 mL i s'hi addicionen 30 mL de NaOH 2N. La mescla es deixa reaccionar, sota agitació constant, a 80 ± 10 °C durant 24 hores.

Final de reacció

S'evapora el metanol al rotavapor i la fase aquosa s'extreu amb diclorometà (3 x 20 mL). La fase orgànica resultant s'asseca sobre sulfat sòdic anhidre, que posteriorment es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

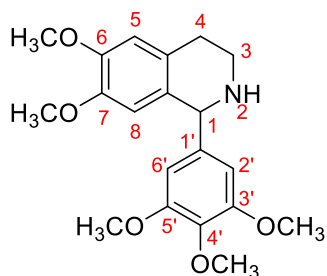
El producte final **104** és un sòlid de color granat que s'obté amb la puresa suficient per seguir amb la seqüència sintètica i, per tant, no requereix purificació posterior.

Massa teòrica: 0,504 g

Massa obtinguda: 0,504 g

Rendiment: 100%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,05

Pf: 95-97 °C (AcOEt).

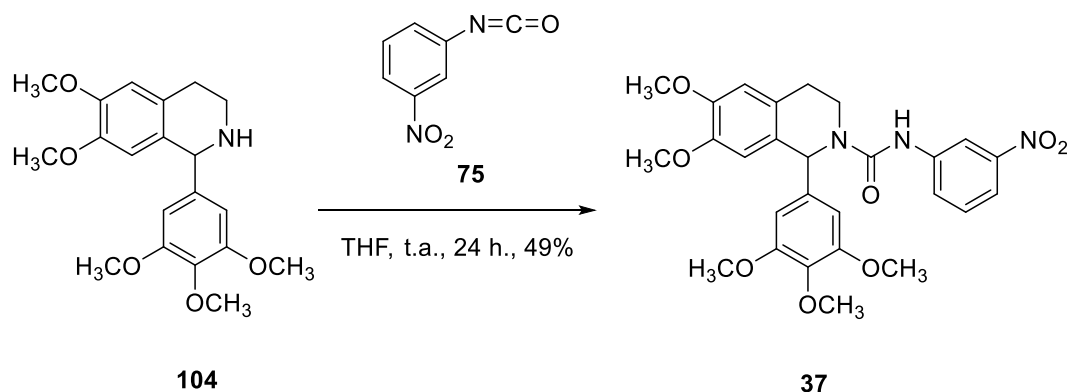
IR (film) ν (cm⁻¹): 3310 (NH); 3002-2828 (C-H); 1736 (C=O); 1590; 1515; 1504; 1461; 1420 (Ar-H); 1251; 1226; 1214 (Ar-O); 1123; 1111 (C-O).

EM, ESI (+) m/z: Calculat per a C₂₀H₂₅NO₅: 359,1733. Trobat: 360,1851.

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 2,73-2,93 (m, 2H, H-4); 3,05-3,25 (m, 2H, H-3); 3,68 (s, 3H, CH₃-O); 3,81 (s, 6H, CH₃-O (x2)); 3,85 (s, 3H, CH₃-O); 3,88 (s, 3H, CH₃-O); 5,29 (s, 1H, H-1); 6,31 (s, 1H, H-5); 6,49 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,63 (s, 1H, H-8).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz), δ (ppm): 29,0 (CH₂, C-4); 39,7 (CH₂, C-3); 56,2 (CH₃, CH₃-O); 56,3 (CH₃, CH₃-O); 56,5 (CH₃, CH₃-O (x2)); 56,8 (CH₃, CH₃-O); 61,1 (CH, C-1); 106,6 (CH, C-2', C-6'); 111,3 (CH, C-5); 111,4 (CH, C-8); 125,2 (C, C-4a); 126,1 (C, C-8a); 136,8 (C, C-1'); 148,2 (C, C-7); 148,9 (C, C-6); 153,5 (C, C-3', C-4', C-5').

Preparació de 6,7-dimetoxi-*N*-(3-nitrofenil)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina-2(1*H*)-carboxamida (**37**)



Procediment

A un matràs de 100 mL de capacitat, equipat d'agitació magnètica, s'hi introdueix la isoquinolina de partida **104** (0,154 g, 0,428 mmol, 1 eq) dissolta en 20 mL de THF. A continuació, s'hi afegeix el 3-nitrofenilisocianat (**75**) (0,070 g, 0,428 mmol, 1 eq) i es deixa reaccionar durant 24 hores a temperatura ambient.

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 Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

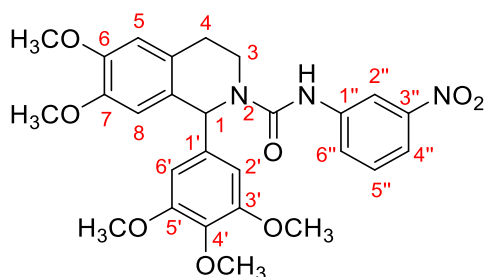
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **37** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (60:40) i s'obté un sòlid taronja.

Massa teòrica: 0,224 g

Massa obtinguda: 0,110 g

Rendiment: 49%

Dades analítiques



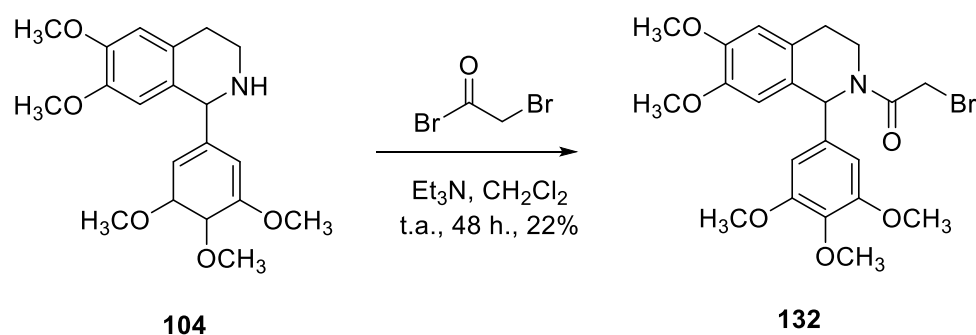
R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,21

Pf: 107-109 °C (Hexà/Acetats d'etil)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 2,71 (t, *J* = 6 Hz, 1H, H-4 ax); 2,75 (t, *J* = 6 Hz, 1H, H-4 eq); 2,94 (m, 1H, H-3 ax); 3,45 (m, 1H, H-3 eq); 3,69 (s, 6H, CH₃-O (x2)); 3,74 (s, 3H, CH₃-O-); 3,76 (s, 3H, CH₃-O-); 3,83 (s, 3H, CH₃-O-); 6,43 (s, 1H, H-1); 6,46 (s, 2H, H-2', H-6''); 6,56 (s, 1H, H-5); 6,64 (s, 1H, H-8); 7,34 (t, *J* = 8 Hz, 1H, H-5''); 7,41 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4''); 7,59 (ba, 1H, NH-); 7,82 (dd, *J*₁ = 2 Hz, *J*₂ = 8 Hz, 1H, H-6''); 8,21 (d, *J* = 2 Hz, 1H, H-2'').

RMN-¹³C (Acetona, 100,6 MHz), δ(ppm): 28,2 (CH₂, C-4); 39,7 (CH₂, C-3); 55,2 (CH₃, CH₃-O (x2)); 55,6 (CH₃, CH₃-O (x2)); 58,7 (CH, C-1); 59,9 (CH₃, CH₃-O-); 105,9 (CH, C-2', C-6'); 112,8 (CH, C-8); 113,0 (CH, C-5); 113,9 (CH, C-2''); 116,5 (CH, C-4''); 124,5 (CH, C-6''); 127,0 (C, C-4a); 129,5 (CH, C-5''); 138,1 (C, C-8a); 140,5 (C, C-1''); 142,0 (C, C-1'); 148,1 (C, C-3''); 149,1 (C, C-6); 149,6 (C, C-7); 152,8 (C, C-4'); 153,2 (C, C-3', C-5'); 155,3 (C, CO).

Preparació de 2-bromo-1-(6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1*H*)-il)etan-1-ona (132)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat s'hi afegeix la isoquinolina de partida **104** (0,250 g, 0,696 mmol, 1 eq) dissolta en 10 mL de diclorometà i la trietilamina (0,146 mL, *d* = 0,726 g/mL, 0,836 mmol, 1,2 eq). A continuació, es refreda el matràs amb un bany extern de gel i aigua i s'hi addiciona el bromur de bromoacetil (0,073 mL, *d* = 2,317 g/mL, 0,836 mmol, 1,2 eq). La mescla resultat es deixa reaccionar, a temperatura ambient i sota agitació constant, durant 48 hores.

Final de reacció

S'afegeix gel al cru de reacció i, tot seguit, s'extreu amb diclorometà (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.

Purificació

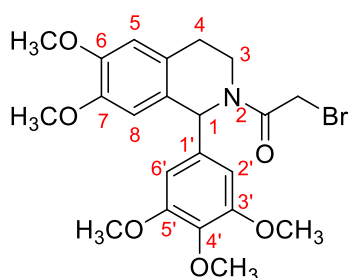
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **132** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (50:50). Es tracta d'un semisòlid marró que no es purifica ni es caracteritza al final de reacció, sinó que s'utilitza directament per dur a terme la següent etapa de síntesi.

Massa teòrica: 0,334 g

Massa obtinguda: 0,074 g

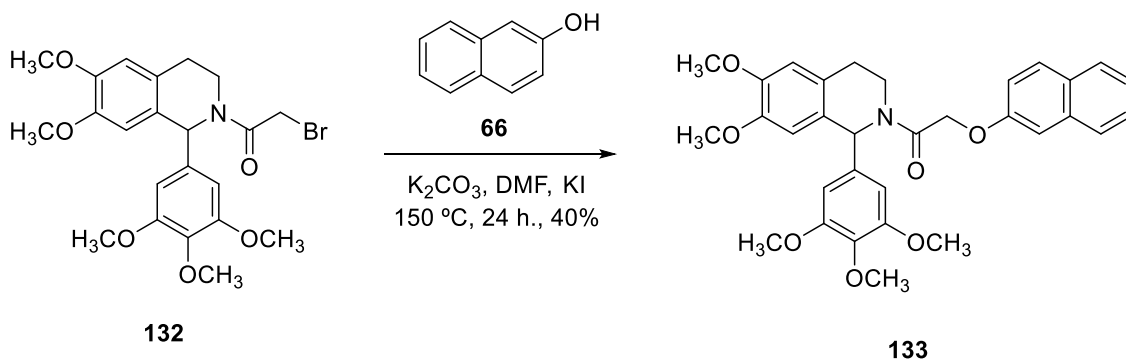
Rendiment: 22%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,27

Preparació de 1-(6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)-2-(naftalen-2-iloxi)etan-1-ona (**133**)



Procediment

A un matràs de 50 mL de capacitat, equipat amb agitació magnètica i un refrigerant de reflux, s'hi introdueix el β -naftol (**66**) (0,023 g, 0,162 mmol, 1 eq) dissolt en 10 mL de DMF. A continuació, s'hi addiciona el carbonat de potassi anhidre (0,027 g, 0,194 mmol, 1,2 eq), KI (quantitat catalítica) i la isoquinolina substituïda **132** (0,078 g, 0,162 mmol, 1 eq). La mescla s'escalfa a 150 ± 10 °C i es deixa reaccionar un total de 24 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 s'assequen sobre Na₂SO₄ anhidre, que es filtra i s'evapora el dissolvent a sequedat.

Purificació

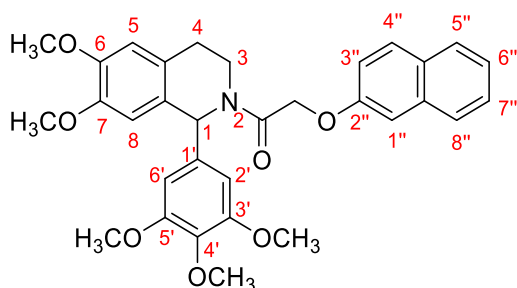
El residu obtingut es purifica mitjançant cromatografia de columna de gel de sílice en el CombiFlash® R_f. El producte esperat **133** elueix amb una polaritat d'hexà/acetat d'etil (50:50) i s'obté un sòlid groc.

Massa teòrica: 0,088 g

Massa obtinguda: 0,035 g

Rendiment: 40%

Dades analítiques



R_f (Hexà/AcOEt (5:5)): 0,30

Pf: 172-174 °C (Èter)

RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ(ppm): 3,01 (m, 2H, H-4); 3,47 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-3); 3,64 (s, 6H, CH₃-O- (x2)); 3,77 (s, 3H, CH₃-O-); 3,81 (s, 3H, CH₃-O-); 3,88 (s, 3H, CH₃-O-); 4,87 (s, 2H, CH₂-O-); 6,46 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,52 (s, 1H, H-1); 6,65 (s, 1H, H-5); 6,79 (s, 1H, H-8); 7,22 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-3''); 7,27 (s, 1H, H-1''); 7,35 (t, *J* = 8 Hz, H-7''); 7,43 (t, *J* = 8 Hz, H-6''); 7,70 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-4''); 7,75 (m, 2H, H-5'', H-8'').

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz), δ(ppm): 28,9 (CH₂, C-4); 39,2 (CH₂, C-3); 55,2 (CH₃, CH₃-O-); 55,9 (CH₃, CH₃-O-); 56,0 (CH₃, CH₃-O-); 56,1 (CH₃, CH₃-O- (x2)); 60,8 (CH, C-1); 68,0 (CH₂, CH₂-O-); 106,2 (CH, C-2', C-6'); 107,3 (CH, C-1''); 111,3 (CH, C-8); 111,4 (CH, C-5); 118,4 (CH, C-3''); 124,0 (C, C-4a); 124,1 (CH, C-6''); 124,1 (CH, C-7''); 126,9 (C, C-8''); 127,0 (C, C-7''a); 127,6 (CH, C-5''); 129,3 (C, C-4''a); 129,7 (CH, C-4''); 134,3 (C, C-8''a); 137,7 (C, C-4'); 137,8 (C, C-1'); 147,1 (C, C-6); 147,9 (C, C-7); 153,0 (C, C-2''); 155,9 (C, C-3', C-5'); 166,4 (C, C=O).

5. CONCLUSIONS

Una vegada dut a terme el treball de laboratori i després d'analitzar amb detall els resultats obtinguts, s'obtenen una sèrie de conclusions rellevants, tant respecte a la síntesi dels nous compostos com pel que fa als resultats procedents de l'avaluació biològica.

1. La condensació entre l'oxindole **39** i l'arilcarbaldehid corresponent, en medi bàsic i a reflux de metanol, condueix amb èxit a les arilmetilidenindolin-2-ones. Per tècniques d'RMN que posen de manifest l'efecte NOE ha estat possible determinar l'estereoquímica *Z/E* de les arilmetilidenindolin-2-ones preparades.
2. Pel que fa a la reducció de l'arilnitro **1** a la corresponent anilina **2**, la utilització de Fe⁰ en el si d'àcid acètic presenta millors rendiments que d'altres condicions assajades. Mentre que en el cas del nitroderivat **5**, resulta més adient la hidrogenació catalítica emprant Pd-C en el si de metanol.
3. La condensació del 3-indolecarbaldehid (**41**) amb l'oxindole **39** seguit de l'*N*-arilació de l'arilmetilidenindolin-2-ona **4** amb el 4-nitrobromobenzè condueix a **5** amb un 49% de rendiment global. En canvi, l'alternativa que contempla en primer lloc l'*N*-arilació del 3-indolecarbaldehid (**41**) i posterior condensació de l'aldehid-*N*-arilat **42** amb l'oxindole, permet l'obtenció de **5** amb només un 7% de rendiment global. L'*N*-arilació del 3-indolecarbaldehid (**41**), emprant condicions d'acoblament catalitzada amb derivats de pal·ladi, constitueix l'etapa responsable del baix rendiment obtingut.
4. La reacció conjunta de la ciclohexanona, malononitril i sofre en proporció 1:1:3, en condicions suaus d'agitació en el si de metanol i en presència de piperidina, constitueix una reacció multicomponent que permet accedir amb èxit al 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carbonitril (**61**) amb rendiments excel·lents. Cal posar de manifest que la reacció multicomponent proporciona millor rendiment (95-100%) que seguint una ruta sintètica de dues etapes (9% de rendiment global).
5. Per a la preparació del tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carbonitril **61** i de les tetrahidrotieno[2,3-*c*]piridines **63** i **64** es va aplicar la reacció multicomponent (ciclohexanona o piperidina, malononitril i sofre) emprant tres tècniques diferents: a) agitació clàssica, b) assistència d'ones d'ultrasons i c) irradiació de

microones. Els resultats indiquen una eficàcia molt semblant dels 3 mètodes en uns casos i, en d'altres, resulta lleugerament superior l'aplicació d'ultrasons.

6. El tractament de la 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofè-3-carboxamida (**80**) amb el bromur de 2-bromoacetil condueix a una barreja de diazepin-diones (**81** i **82**) impedint així l'obtenció de la 2-bromoacetamida esperada **79**. Degut a aquest problema, esdevingué necessària la protecció prèvia de la funció amida de la posició 3 de l'aminoamida **80**. La protecció prèvia de la 2-cianoacetamida amb BOC, permet assolir la preparació de la diamida **20** amb rendiments acceptables.
7. L'addició de l'anilina **94** al 3-nitrofenilisocianat, en el si de THF i a temperatura ambient, condueix a la urea esperada **32**, mentre que en aquestes condicions, l'addició de les anilines **91** i **93** al mateix isocianat, no permet la formació de les urees corresponents. Aquestes últimes anilines requereixen de la presència de *t*-BuOK i alta temperatura i, tot i això, s'obtenen les urees **30** i **31** amb rendiments baixos, fet atribuïble a la poca reactivitat d'aquestes anilines.
8. Els resultats preliminars de determinació de la inhibició de la G6PDH dels compostos **12**, **13**, **16**, **18**, **24**, **26**, **27**, **28** i **30** no han mostrat cap indicatiu d'activitat inhibidora d'aquest enzim a les concentracions de 100 i 200 μ M sense incubació prèvia. Mentre que després de 72 h d'incubació, el compost **13** mostra el mateix grau d'inhibició que el model emprat (DHEA).
9. Els compostos **16**, **24**, **26** i **30** presenten una elevada inhibició del creixement cel·lular de la línia metastàsica de pròstata (PC-3) amb valors d'IC₅₀ de **39**, **21**, **14** i **12** μ M, respectivament.

6. BIBLIOGRAFIA

- ¹ <http://cancer.org> (Data: 06/08/2018)
- ² <https://cancerresearch.org> (Data: 06/08/2018)
- ³ S. E. Mancebo, S. Q. Wang, *Rev. Environ. Health.* **2014**, 29, 265-273
- ⁴ J. J. Centelles. *ISRN Oncol.* **2012**. Review Article. <http://dx.doi.org/10.5402/2012/139268>
- ⁵ <https://www.cancerquest.org> (Data: 06/08/2018)
- ⁶ <http://www.aecc.es> (Data: 06/08/2018)
- ⁷ <https://www.seom.org> (Data: 09/08/2018)
- ⁸ D. C. Whiteman, L. F. Wilson. *Cancer Epidemiol.* **2016**, 44, 203-221
- ⁹ P. Arnand, A. B. Kunnumakkara, C. Sundaram, K. B. Harikumar, S. T. Tharakan, O. S. Lai, B. Sung, B.B. Aggarwal. *Pharm. Res.* **2008**, 25, 2097-2116
- ¹⁰ A. K. Rustgi. *Genes Dev.* **2007**, 21, 2525-2538
- ¹¹ <https://cancer.gov> (Data: 07/08/2018)
- ¹² K. Kehe, L. Szinicz. *Toxicol.* **2005**, 214, 198-209
- ¹³ D. Benford, J. C. Leblanc, R. W. Setzer, *Food Chem. Toxicol.* **2010**, 48, 34-41
- ¹⁴ S. S. Hecht. *Int. J. Cancer* **2012**, 131, 2724-2732
- ¹⁵ N. McColl, A. Auvinen, A. Kesminiene, C. Espina, F. Erdmann, E. Vries, R. Greinert, J. Harrison, J. Schüz. *Cancer Epidemiol.* **2015**, 39, 93-100
- ¹⁶ R. Greinert, E. Vries, F. Erdmann, C. Espina, A. Auvinen, A. Kesminiene, J. Schüz. *Cancer Epidemiol.* **2015**, 39, 75-83
- ¹⁷ D. M. Parkin. *Br. J. Cancer* **2011**, 105, 49-56
- ¹⁸ M. Braoudaki, F. Tzortzatou-Stathopoulou. *J. Infect. Dev. Ctries.* **2011**, 5, 751-758
- ¹⁹ M. Selgrad, P. Malfetheriner, L. Fini, A. Goel, C. R. Boland, L. Ricciardiello. *J. Cell Physiol.* **2008**, 216, 378-388
- ²⁰ T. Shimizu, T. Chiba, H. Marusawa. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **2017**, 400, 305-302
- ²¹ Y. Zhu, T. M. Luo, C. Jobin, H. A. Young. *Cancer Lett.* **2011**, 309, 119-127
- ²² M. E. McLaughlin- Drubin, J. Meyers, K. Munger. *Curr. Opin. Virol.* **2012**, 2, 459-466
- ²³ R. C. Gallo. *Best. Pract. Res. Clin. Haematol.* **2011**, 24, 559-565
- ²⁴ K. M. Shah, L. S. Young. *Clin. Microbiol. Infect.* **2009**, 15, 982-988
- ²⁵ E. Boccardo, L. L. Villa. *Curr. Med. Chem.* **2007**, 14, 2526-2539
- ²⁶ P. Allavena, C. Garlanda, M. G. Borrello, A. Sica, A. Mantovani. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2008**, 18, 3-10
- ²⁷ A. E. Harvey, L. M. Lashinger, S. D. Hursting. *Ann. NY Acad. Sci.* **2011**, 1229, 45-52
- ²⁸ I. Vucenik, J. P. Stains, *Ann. NY Acad. Sci.* **2012**, 1271,37-43
- ²⁹ J. Mauer, J. L. Denson, J. C. Brüning. *Trends Immunol.* **2015**, 36, 92-101
- ³⁰ S. Ghosh, K. Ashcraft. *Front. Biosci. (Elite Ed).* **2013**, 5, 461-478
- ³¹ H. Fujimoto, T. Sangai, G. Ishii, A. Ikehara, T. Nagashima, M. Miyazaki, A. Ochiai. *Int. J. Cancer* **2009**, 125, 1276-1284
- ³² M. Al-Kalbani, I. Burney. *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* **2014**, 14, 294-296
- ³³ Y. Wu, B. P. Zhou. *Br. J. Cancer* **2010**, 102, 639-644
- ³⁴ X. Wang, E. R. Simpson, K. A. Brown. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2015**, 153, 35-44
- ³⁵ D. Wang, R. N. Dubois. *Gut.* **2006**, 55, 115-122
- ³⁶ N. K. Saxena, D. Sharma, *Cell. Adh. Migr.* **2010**, 4, 358-362
- ³⁷ <http://who.int> (Data: 10/04/2019)
- ³⁸ <https://gco.iarc.fr> (Data: 10/04/2019)
- ³⁹ <https://ine.es> (Data: 11/04/2019)
- ⁴⁰ <http://observatorio.aecc.es> (Data: 11/04/2019)
- ⁴¹ <https://www.omakaseconsulting.com> (Data: 11/08/2018)
- ⁴² <https://www.msmanuals.com> (Data: 13/08/2018)
- ⁴³ Sociedad Española de Farmacéuticos De Hospitales (SEFH). *Medicamentos citostáticos*
- ⁴⁴ <https://medlineplus.gov> (Data: 13/08/2018)
- ⁴⁵ <https://mscbs.gob.es> (Data: 13/08/2018)
- ⁴⁶ <http://www.scias.com> (Data: 13/08/2018)
- ⁴⁷ <https://www.botplusweb.portalfarma.com> (Data: 14/08/2018)
- ⁴⁸ <http://oncohealth.eu> (Data: 15/08/2018)
- ⁴⁹ <https://www.cancer.net> (Data: 17/08/2018)
- ⁵⁰ P. W. Kantoff, C. S. Higano, N. D. Shore, E. R. Berger, E. J. Small, D. F. Penson, C. H. Redfern, A. C. Ferrari, R. Dreicer, R. B. Sims, Y. Xu, M. W. Frohlich, P. F. Schellhammer. *N. Engl. J. Med.* **2010**, 363, 411-422

- ⁵¹ R. A. Saxton, D. M. Sabatini. *Cell*. **2017**, 168, 960-976
- ⁵² S. Wullschlegler, R. Loewith, W. Oppliger, M. N. Hall. **2005**, 280, 30697-30704
- ⁵³ R. Zoncu, D. M. Sabatini, A. Efevan. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2011**, 12, 21-35
- ⁵⁴ C. O. Malley, G. P. Pidgeon. *BBA Clinical* **2016**, 5, 29-40
- ⁵⁵ <https://www.nobelprize.org> (Data: 12/04/19)
- ⁵⁶ M. J. Peña-Sanoja, J. B. De Sanctis. *Invest. Clin.* **2013**, 54, 325-337
- ⁵⁷ M. Maciel-Herrerias, S. Cabrera-Benítez. *Neumol. Cir. Torax* **2016**, 75, 227-236
- ⁵⁸ M. A. Costas, M. F. Rubio. *Medicina* **2017**, 77, 314-320
- ⁵⁹ F. Palavra, C. Robalo, F. Reis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2017**. Review article. <https://doi.org/10.1155/2017/9820181>
- ⁶⁰ L. Morera, M. Lübbert, M. Jung. *Clin. Epigenetics* **2016**. Review. <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0223-4>
- ⁶¹ Y. Kondo. *J. Biochem.* **2014**, 156, 249-257
- ⁶² M. T. McCabe, C. L. Creasy. *Epigenomics* **2014**, 6, 341-351
- ⁶³ R. Margueron, D. Reinberg. *Nature* **2011**, 469, 343-349
- ⁶⁴ J. H. A. Vissers, M. van Lohuizen, E. Citterio. *J. Cell. Sci.* **2012**, 125, 3939-3948
- ⁶⁵ P. Völkel, B. Dupret, X. Le Bourhis, P. O. Angrand. *Am. J. Transl. Res.* **2015**, 7, 175-193
- ⁶⁶ H. Yamaguchi, M. C. Hung. *Cancer Res. Treat.* **2014**, 46, 209-222
- ⁶⁷ S. C. Wu, Y. Zhang. *J. Biol. Chem.* **2011**, 286, 28511-28519
- ⁶⁸ T. L. Cha, B. P. Zhou, W. Xia, Y. Wu, C. C. Yang, C. T. Chen, B. Ping, A. P. Otte, M. C. Hung. *Science*. **2005**, 310, 306-310
- ⁶⁹ K. H. Kim, C. W. Roberts. *Nat. Med.* **2016**, 22, 128-134
- ⁷⁰ E. Kim, M. Kim, D. H. Woo, Y. Shin, J. Shin, N. Chang, Y. T. Oh, H. Kim, J. Rhee, I. Nakano, C. Lee, K. M. Joo, J. N. Rich, D. H. Nam, J. Lee. *Cancer Cell*. **2013**, 23, 839-852
- ⁷¹ K. Xu, Z. J. Wu, A. C. Groner, H. H. He, C. Cai, R. T. Lis, X. Wu, E.C. Stack, M. Loda, T. Liu, H. Xu, L. Cato, J. E. Thornton, R. I. Gregory, C. Morrissey, R. L. Vessella, R. Montironi, C. Magi-Galluzzi, P. W. Kantoff, S. P. Balk, X. S. Liu, M. Brown. *Science* **2012**, 338, 1465-1469
- ⁷² C. Han Li, Y. Chen. *Curr. Protein Pept. Sci.* **2015**, 16, 559-570
- ⁷³ A. A. Momtazi, A. Sahebkar. *Curr. Pharm. Des.* **2016**, 22, 4386-4397
- ⁷⁴ M. G. Vander Heiden, L. C. Cantley, C. B. Thompson. *Science* **2009**, 324, 1029-1033
- ⁷⁵ <https://www.sebbm.es/web/es/divulgacion/rincon-profesor-ciencias/articulos-divulgacion-cientifica/1063-glicolisis-efecto-warburg-y-flexibilidad-metabolica-tumoral> (Data: 08/10/2018)
- ⁷⁶ M. V. Liberti, J. W. Locasale. *Trends Biochem. Sci.* **2016**, 41, 211-218
- ⁷⁷ J. Lu, M. Tan, Q. Cai. *Cancer Lett.* **2015**, 356, 156-164
- ⁷⁸ P. Liem Minh, Y. Sai-Ching Jim, L. Mong- Hong. *Cancer Biol. Med.* **2014**, 11, 1-19
- ⁷⁹ C. Riganti, E. Gazzano, M. Polimeni, E. Aldieri, D. Ghigo. *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, 53, 421-436
- ⁸⁰ C. Obiol Pardo, G. Alcarraz Vizán, S. Díaz Moralli, M. Cascante, J. Rubio Martínez. *J. Mol. Graph. Model.* **2014**, 49, 110-117
- ⁸¹ K. C. Patra, N. Hay. *Trends Biochem Sci.* **2014**, 39, 347-354
- ⁸² G. F. Mercaldi, A. Dawson, W. N. Hunter, A. T. Cordeiro. *FEBS Letters.* **2016**, 590, 2776-2786
- ⁸³ A. Hirono, S. Miwa. *Haematologia (Budap.)* **1993**, 25, 85-97
- ⁸⁴ S. W. Au, S. Gover, V. M. Lam, M. J. Adams. *Structure* **2000**, 8, 293-303
- ⁸⁵ <http://www.rcsb.org/structure/1QKI> (Data: 25/07/19)
- ⁸⁶ J. F. Bonilla, M. C. Sánchez, L. Chuaire. *Colomb. Med.* **2007**, 38, 68-75
- ⁸⁷ R. C. Stanton. *IUBMB Life* **2012**, 64, 362-369
- ⁸⁸ W. N. Tian, J. N. Pignatara, R.C. Stanton. *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 14798-14805
- ⁸⁹ E. C. Cheung, R. L. Ludwig, K. H. Vousden. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2012**, 109, 20491-20496
- ⁹⁰ P. Jiang, W. Du, M. Wu. *Protein Cell.* **2014**, 5, 592-602
- ⁹¹ Z. Zhang, K. Apse, J. Pang, R. C. Stanton. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 40042-40047
- ⁹² I. Talukdar, W. Szeszel-Fedorowicz, L. M. Salati. *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 40660-40667
- ⁹³ J. A. Leopold, A. Dam, B. A. Maron, A. W. Scribner, R. Liao, D. E. Handy, R. C. Stanton, B. Pitt, J. Loscalzo. *Nat. Med.* **2007**, 13, 189-197
- ⁹⁴ M. Cifti, I. Ozmen, M. E. Buyukokuroglu, S. Pence, O. I. Kufrevioglu, *Clin. Biochem.* **2001**, 34, 297-302
- ⁹⁵ M. Cifti, I. M. E. Buyukokuroglu, O. I. Kufrevioglu, *J. Basic Clin. Physiol. Pharm.* **2001**, 12, 305-313
- ⁹⁶ C. Ortiz, F. Moraca, A. Medeiros, M. Botta, N. Hamilton, M. A. Comini. *Molecules.* **2016**, 21, 368

- ⁹⁷ S. H. Almaguad, A. Trentini, M. Maritati, C. Contini, G. Rugna, T. Bellini, M. C. Manfrinato, F. Dallochio, S. Hanau. *Chem. Biol. Interact.* **2018**, *294*, 167-177
- ⁹⁸ R. Bhardwaj, P. K. Sharma, S. P. Jadón, R. Varshney. *Tumor Biol.* **2012**, *33*, 1021-1030
- ⁹⁹ L. D. Nord, R. L. Stolfi, A. A. Alfieri, G. Netto, V. Reuter, S. S. Sternberg, J. R. Colofiore, J. A. Koutcher, D. S. Martin. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1997**, *40*, 376-384
- ¹⁰⁰ I. I. Buddihardjo, D. L. Walker, P. A. Svingen, C. A. Buckwalter, S. Desnoyers, S. Eckdahl, G. M. Shah, G. G. Poirier, J. M. Reid, M. M. Ames, S. H. Kaufmann. *Clin. Cancer Res.* **1998**, *4*, 117-130
- ¹⁰¹ F. P. Herter, S. G. Weissman, H. G. Thompson, G. Hyman, D. S. Martin. *Cancer Res.* **1961**, *21*, 31-37
- ¹⁰² <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/nicotinamide> (Data: 20/08/18)
- ¹⁰³ A. Lenglet, S. Liabeuf, P. Guffrov, A. Fournier, M. Brasero, Z. A. Massy. *Drugs* **2013**, *13*, 165-173
- ¹⁰⁴ H. Kolb, V. Burkart. *Diabetes Care.* **1999**, *22*, 16-20
- ¹⁰⁵ R. Biedron, M. Ciszek, M. Tokarczyk, M. Bobek, M. Kurnyta, E. M. Slominska, R. T. Smolenski, J. Marcinkiewicz. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz).* **2008**, *56*, 127-134
- ¹⁰⁶ C. Cantó, R. H. Houtkooper, E. Pirinen, D. Y. Youn, M. H. Oosterveer, Y. Cen, P. J. Fernández Marcos, H. Yamamoto, P. A. Andreux, P. Cettour Rose, K. Gademann, C. Rinsch, K. Schoonians, A. A. Sauve, J. Auwerx. *Cell. Metab.* **2012**, *15*, 838-847
- ¹⁰⁷ R. Jokinen, S. Pirnes-Karhu, K. H. Pietiläinen, E. Pirinen. *Redox. Biol.* **2017**, *12*, 246-263
- ¹⁰⁸ N. Torres Ramírez, L. A. Baiza Gutman, R. García Macedo, C. Ortega Camarillo, A. Contreras Ramos, R. Medina Navarro, M. Cruz, M. A. Ibáñez Hernández, M. Díaz Flores. *Life Sci.* **2013**, *93*, 975-985
- ¹⁰⁹ P. Pacher, C. Szabó. *Cardiovasc. Drug. Rev.* **2007**, *25*, 235-260
- ¹¹⁰ J. M. Mendivil Dacal, V. M. Borges. *Actas urológicas españolas* **2009**, *33*, 390-401
- ¹¹¹ M. Di Monaco, A. Pizzini, V. Gatto, L. Leonardi, M. Gallo, E. Brignardello, G. Boccuzzi. *British J. Cancer* **1997**, *75*, 589-592
- ¹¹² G. Gordon, M. C. Mackow, H. R. Levy. *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, *318*, 25-29
- ¹¹³ A. G. Schwartz, L. L. Pashko. *J. Cell. Biochem. Suppl.* **1995**, *22*, 210-217
- ¹¹⁴ J. Preuss, A. D. Richardson, A. Pinkerton, A. Hedrich, E. Sergienko, S. Rahlfs, K. Becker, L. Bode. *J. Biomol. Screen.* **2013**, *18*, 286-297
- ¹¹⁵ N. M. Hamilton, M. Dawson, E. E. Fairweather, N. S. Hamilton, J. R. Hitchin, D. I. James, S. D. Jones, A. M. Jordan, A. J. Lyons, H. F. Small, G. J. Thomson, I. D. Waddell, D. J. Oqilvie. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 4431-4445
- ¹¹⁶ G. F. Mercaldi, A. T. Ranzani, A. T. Cordeiro. *J. Biomol. Screen.* **2014**, *19*, 1362-1371
- ¹¹⁷ F. Oliviero, A. Lisa, A. Scanu, P. Spinella, G. Ravagnan, A. López-Reyes, L. Punzi, Y. Zamudio-Cuevas. *Investigación en Discapacidad* **2017**, *6*, 12-16
- ¹¹⁸ S. De Maria, I. Scognamiglio, A. Lombardi, N. Amodio, M. Caraglia, M. Carteni, G. Ravagnan, P. Stiuso. *J. Trans. Med.* **2013**, *11*, 264
- ¹¹⁹ L. Mele, F. Paino, F. Papaccio, T. Regad, D. Boocock, P. Stiuso, A. Lombardi, D. Liccardo, G. Aquino, A. Barbieri, C. Arra, C. Coveney, M. La Noce, G. Papaccio, M. Caraglia, V. Tirino, V. Desiderio. *Cell Death Dis.* **2018**, *9*, 572
- ¹²⁰ R. Quek, S. George. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* **2009**, *23*, 69-78
- ¹²¹ https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20161109136193/anx_136193_es.pdf (Data: 12/09/19)
- ¹²² P. M. Hoff, R. A. Wolff, K. Bogaard, S. Waldrum, J. L. Abbruzzese. *Jap. J. Clin. Oncol.* **2006**, *36*, 100-103
- ¹²³ B. Yu, D. Q. Yu, H. M. Liu. *Eur. J. Med.* **2015**, *70*, 9735-9757
- ¹²⁴ S. Praveen Kumar, J. Gut, R. C. Guedes, P. J. Rosenthal, M. M. Santos, R. Moreira. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 927-933
- ¹²⁵ H. Singh, J. Sindhu, J. M. Khurana, C. Sharma, K. R. Aneja. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 145-154
- ¹²⁶ M. Eissenstat, T. Guerassina, S. Gulnik. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 5078-5083
- ¹²⁷ G. N. Walker, R. T. Smith, B. N. Weaver. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *8*, 626-637
- ¹²⁸ C. L. Perrin, K. L. Chang. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 5631-5635
- ¹²⁹ K. W. Blake, B. Jaques. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1973**, *12*, 1660-1663
- ¹³⁰ H. Bayer, C. Batzl, R. W. Hartmann, A. Mannschreck. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2685-2691
- ¹³¹ M. Romero, Y. Harrak, J. Basset, J. A. Orúe, M. D. Pujol. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1955-1956
- ¹³² M. Romero, Y. Harrak, J. Basset, L. Ginet, P. Constans, M. D. Pujol. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9010-9016

- 133 O. Meth-Cohn, B. Narine, B. Tarnowski. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, 1520-1528
- 134 L. Navarro, M. D. Pujol. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 1812-1815
- 135 J. D. Chadwik. *A. Plant. Tetrahedron Lett.* **1987**, *48*, 6085-6088
- 136 M. C. Kloetzel, J. E. Little, D. M. Frisch. *J. Org. Chem.* **1953**, *18*, 1501-1515
- 137 I. Cauquil-Caubere, J. M. Kamenka. *Eur. J. Med. Chem.* **1988**, *33*, 867-877
- 138 <https://www.textoscientificos.com/quimica/inorganica/azufre/diferencias-azufre-oxigeno>
(Data: 25/07/18)
- 139 K. Gewald, E. Schinke, H. Böttcher. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 94-100
- 140 B. I. Kharisov, V. O. Méndez. *Ingenierías* **1999**, *2*, 13-21
- 141 a) D. Bogdal, M. Lukaszewicz, A. Pielichowski, A. Miciak, Sz. Bednarz. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 649-653. b) E. Buxaderas, D. A. Alonso, C. Nájera. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 5864-5870. c) G. G. Brogginì, V. Barbera, E. M. Beccalli, U. Chiacchio, A. Fasana, S. Galli, S. Gazzola. *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 1640-1648. d) H. H. Nguyen, M. J. Kurth. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 362-365. e) W. Qian, L. Zhang, H. Sun, H. Jiang, H. Liu. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 3231-3236. f) M. M. Baghbanzadeh, C. Pilger, C. O. Kappe. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 8138-8142. g) J. F. Cívicos, D. A. Alonso, C. Nájera. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 1683-1687. h) E. M. Beccalli, A. Bernasconi, E. Borsini, G. Brogginì, M. Rigamonti, G. Zecchi. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 6923-6932. i) D. Liptrot, G. Alcaraz, B. Roberts. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 2183-2188
- 142 E. Artuso; I. Degani; R. Fochi; C. Magistris. *Synthesis* **2007**, 3497-3506
- 143 C. Han; J. A. Porco. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1517-1520
- 144 a) J. A. Grzyb; R. A. Batey. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5279-5282; b) M. B. Bertrand; J. P. Wolfe. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6447-6459
- 145 a) D. P. N. Satchell; R. S. Satchell. *Chem. Soc. Rev.* **1975**, *4*, 231; b) E. A. Castro; R. B. Moodie; P. J. Sanson. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1985**, 737
- 146 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
- 147 J. D. Pelletier, D. Poirier. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1051-1054
- 148 J. E. Van Muijlwijk-Koezen, H. Timmerman, R. Link, A. Ijzerman, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3987-3993
- 149 Q. Zeng, Y. Kwok, S. M. Kerwin, V. Mangold, L. H. Hurley. *J. Med. Chem.* **1988**, *41*, 4273-4278
- 150 D. Fischer, H. Tomeba, N. K. Pahadi, N. T. Patil, Y. Yamamoto. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng* **2007**, *46*, 4764-4766
- 151 E. van Quaquebeke, T. Mahieu, P. Dumont, J. Dewelle, F. Ribaucour, G. Simon, S. Sauvage, J. F. Gaussin, J. Tuti, M. El Yazidi, F. Van Vynckt, T. Mijatovic, F. Lefranc, F. Darro, R. Kiss. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4122-4134
- 152 W. J. Cho, Q. M. Le, H. T. M. Van, K. Y. Lee, B. Y. Kang, E. S. Lee, S. K. Lee, Y. Kwon. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3531-3534
- 153 R. D. Larsen, R. A. Reamer, E. G. Corley, P. Davis, E. J. J. Grabowski, P. J. Reider, I. Shinkai. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6034-6038
- 154 J. J. Li. *Name Reactions: a collection of detailed mechanism and synthetic applications*, Springer International, Switzerland. **2014**, 56-58
- 155 A. S. Capilla, M. Romero, M. D. Pujol, D. H. Caignard, P. Renard. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8297-8303
- 156 G. B. Gordon, L. M. Shantz, P. Talalay. *Adv. Enzyme. Regul.* **1987**, *26*, 355-382
- 157 G. B. Gordon, M. C. MacKow, H. R. Levy. *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, *318*, 25-29
- 158 J. M. Bautista, P. J. Mason, L. Luzzatto. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1119*, 74-80
- 159 G. Boccuzzi, M. Di Monaco, E. Brignardello, L. Leonardi, V. Gatto, A. Pizzini, M. Gallo. *Anticancer Res.* **1993**, *13*, 2267-2272
- 160 A. G. Schwartz, L. L. Pashko. *Ageing Res. Rev.* **2004**, *3*, 171-187
- 161 S. J. Olshansky, L. Hayflick, B. A. Carnes. *J. Gerontol. Biol. Sci.* **2002**, *57A*, B292-B297
- 162 T. C. Chou. *Cancer Res.* **2010**, *70*, 440-446
- 163 <https://openinnovation.lilly.com> (Data: 25/08/18)
- 164 N. Babault, A. Allali-Hassani, F. Li, J. Fan, A. Yue, K. Ju, F. Liu, M. Vedadi, J. Liu, J. Jin. *J. Med. Chem.* **2018**, *28*, 2682-2687
- 165 H. S. Loring, P.R. Thompson. *Biochemistry* **2018**, *57*, 5524-5532
- 166 H. Neelakantan, V. Vance, M. D. Wetzel, H-Y. L. Wang, S. F. McHardy, C. C. Finnerty, J. D. Hommel, S. J. Watowich. *Biochemical Pharmacology* **2018**, *147*, 141-152
- 167 <https://www.sebbm.es> (Data: 25/08/18)

¹⁶⁸ D. A. Brown, G. M. Passmore. *Br. J. Pharmacol.* **2009**, *156*, 1185-1195

¹⁶⁹ F. Le Chevalier, A. Cascioferro, L. Majlessi, J. L.Herrmann, R. Brosch. *Future Microbiol.* **2014**, *9*, 969-985