



**Universitat Ramon Llull**

## **TESI DOCTORAL**

<b>Títol</b>	<b>Disseny, síntesi i avaluació biològica d'inhibidors potencials de les etapes inicials del cicle de replicació del VIH</b>
<b>Realitzada per</b>	Raimon Puig de la Bellacasa Cazorla
<b>en el Centre</b>	Escola Tècnica Superior IQS
<b>i en el Departament</b>	Química Orgànica
<b>Dirigida per</b>	Dr. Jordi Teixidó i Closa Dr. José Ignacio Borrell Bilbao

*C. Claravall, 1-3  
08022 Barcelona  
Tel. 936 022 200  
Fax 936 022 249  
E-mail: [urisc@sec.url.es](mailto:urisc@sec.url.es)  
[www.url.es](http://www.url.es)*



A la memòria de la meva mare

Al meu pare i germà

A ma Mamie



*“Qui no hagi experimentat la irresistible atracció de la ciència,  
no podrà comprendre la seva tirania”*

Frankenstein de Mary Shelley



## Agraïments

Sembla que ja és temps de tancar novament una etapa, la tesi doctoral. Fent un anàlisi retrospectiu en el temps, me n'adono que encara que aquest treball porti el meu nom hi hauria d'aparèixer molta més gent, ja que sense ells no hagués estat capaç de finalitzar-ho.

M'agradaria agrair als meus dos directors, el Dr. Jordi Teixidó i el Dr. Iñaki Borrell, pels vostres consells i per la oportunitat que m'heu brindat per ampliar els meus coneixements de química en el laboratori de síntesi.

M'agradaria agrair també el treball desinteressat de la Núria Vallmitjana.

Agrair a l'Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca de la Generalitat de Catalunya pel suport econòmic amb la concessió de la beca FI. També agrair la Fundació de la Marató de TV3 SIDA 2001 de la corporació catalana de radio i televisió (CCRTV) i al Programa Nacional de Biomedicina, Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2007-63622-C02-01) pel suport econòmic amb el qual s'ha pogut desenvolupat part del projecte.

M'agradaria agrair a la família, tots ells sempre interessats en les meves primeres passes com a investigador, sempre preguntant-me pels meus avenços. M'agradaria agrair a tots vosaltres, la paciència que heu tingut i teniu per aguantar els meus mals humors.

Al meu pare pel teu suport, afecte i confiança dipositada, veient sempre amb bons ulls les "grans" decisions de la meua vida i al meu germà, per els teus petits grans detalls que sovint aconsegueixen abstreure'm de les meves cabòries.

A ma Mamie pour ton toujours agréable sourire qui tellement ce contagionne. Pour ne pas parler de quand tu commences à rire, impossible de s'y résister!

A la tia Coquis, tio Fan-Fan, tia M<sup>a</sup> Angeles, i cosins Noelia i Fernando, gràcies a vosaltres també per els grans moments que he passat amb vosaltres.

A l'Èlia, per la seva paciència i per aquests darrers anys.

A la memòria del meu Papi, David #3, Lalo i Martí que han vist començar aquest treball.

Als amics de tota la vida, que compartim la passió pel futbol des de fa molts anys ja... Un esport, que ens permet mantenir un contacte setmanal A alguns de vosaltres us conec des de ja fa prop de 28 anys, són ja moltes les anècdotes a recordar i espero poder tenir-ne moltíssimes més. La llista de titulars és la següent: Lluç #S.N., Nan #S.N., Marc #4, Edu #5, Christian #6, Anthrax #7, Guillem #8, Rafa #9, Alex #10 i Triky #11, Omar #12.

Als amics del "químic", us vaig conèixer durant la carrera i des de llavors hem compartit grans vivències, i n'espero compartir moltes més! Albert, Ana, Carmita, Christian, Dunx, Geo, Jose, K-pry, Lluís, Morros, Noe, Núria "cabell curt", Núria "cabell llarg", Núria "rossa", Pedro, Salva, Xavi Calvo. Destacar en Jose, company de dinars dels darrers anys que vàrem començar la tesi alhora i l'acabarem amb pocs dies de diferència.

Als amics de l'Ametlla de Mar, gràcies per acollir-me tan bé a la vostra terra i pels intensos moments viscuts amb vosaltres. Analís, Ari, Esther, Glòria, Meri, Popi, Sandra, les bessones i Pere.

Als amics de Novelda, per la setmana increïble que any rere any podem gaudir.

Al servei d'espectroscòpia, a la Núria i en especial a la Mari Carmen per la seva tenacitat a l'hora de resoldre un cas per IR d'un producte que presentava polimorfisme cristal·lí. Al Dr. Batllori, per ajudar-me a resoldre algun espectre d'<sup>1</sup>H-RMN "curios".

Als meus companys de laboratori tant amb els que he coincidit (Anna, Àstrid, Gonzalo, Ignasi, Laura, Maria, Marta, Marc, Manel, Mares, Núria, Miki, Palomo, Toni, Sònia, Xavi "el esclavo" i en especial a la Miriam, companya d'"entremeliadures", a l'Ofir per ser un gran mestre, en Juan i la Lyhen per aportar molt bon ambient, en Rubén i l'Irene per haver fet més suportable la calor de l'estiu i en Xavi i la Marta per ser com sou, no canvieu) com amb els que encara estem treballant colze a colze (la "gent gran" d'Ercros (Gemma, Maia i Montse), Iñaki, company de "noves batalles", Laia i Llorenç, l'últim sintètic pur i Sofia, companya de llargues tardes i de discussions químiques i sobretot pels seus consells), a més dels FQ (Ragàs, Maria, Adaya i Roger) i dels Compu (Vio i Roger). A tots gràcies per fer que el dia a dia sigui més amè.

Al Dr. Diaz per la seva amabilitat i per confiar en mi a l'hora de "portar" el laboratori de 2º, Blanquerna i moltes més activitats. Aprofito també per agrair a tots els alumnes que m'han hagut de patir per els nombrosos moments entranyables que hem viscut.

A en Chema, Paco, Antonio, David, Miguel, David i Agustín per estar sempre que sorgís qualsevol problema.

A la gent del departament de materials per adoptar-me entre ells molts dies a l'hora de dinar.

**Moltes gràcies a tots!!!!**



## Abreviatures

(+)RNAs	virus d'RNA de cadena simple de polaritat positiva
(-)RNAs	virus d'RNA de cadena simple de polaritat negativa
3TC	lamivudina
ABC	abacavir
AEO	anàlisi elemental orgànica quantitativa
APV	amprenavir
Ar	anell aromàtic
ARV	<i>AIDS-associated retroviruses</i>
as	asimètrica
ATZ	atazanavir
AZT	azidotimidina
BOC	terc-butil
BSA	<i>N,O</i> -bis-(trimetilsilil)-acetamida
BTAC	clorur de benziltriethylamoni
But	butil
Bz	benzil
<sup>13</sup> C-RMN	resonància magnètica nuclear de carboni 13.
CA	càpsida
CC <sub>50</sub>	<i>cytotoxic concentration</i> ; concentració citotòxica
CCR	receptor de quimiocines de classe CC
CCP	cromatografia de capa prima
CDC	<i>centers for disease control and prevention</i>
CDCl <sub>3</sub>	cloroform deuterat
CMV	citomegalovirus
CXCR	receptor de quimiocines de classe CXC
δ	vibració de deformació
d	doblet
d4T	stavudina
d <sub>6</sub> -DMSO	dimetilsulfòxid deuterat
DABCO	1,4-diazabicyclo-2,2,2-octà
ddC	Zalcitabina
ddI	Didanosine
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropyletilamina
DLV	Delavirdina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfòxid
DNA	àcid desoxiribonucleic
DNAc	DNA complementari

---

DNACd	virus de DNA de cadena doble
DNACd-RT	virus de DNA de cadena doble retrotranscrit
DNACs	virus de DNA de cadena simple
DS	dextran sulfat
DRV	darunavir
EC <sub>50</sub>	<i>effective concentration</i> , concentració efectiva
EFV	efavirenz
EI	impacte electrònic
EM	espectroscòpia de masses
EMAR	espectroscòpia de masses d'alta resolució
ENF	enfuvirtide
<i>env</i>	<i>enveloppe</i>
ESI	ionització per electrospray
Et	etil
eV	electronvolt
FAB	bombardeig d'àtoms ràpids
FDA	<i>food and drug administration</i>
Film	film evaporat de cloroform
FIV	<i>feline immunodeficiency virus</i>
FOS-APV	fosamprenavir
FTC	emtricitabine
$\gamma$	vibració de l'esquelet
$\gamma$ -PCC	clorocromat de $\gamma$ -picolina
<i>gag</i>	<i>group-specific antigen</i>
gp	glicoproteïna
GRID	<i>gay-related immune deficiency</i>
<sup>1</sup> H-RMN	resonància magnètica nuclear de protó
HEPT	1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)timina
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
HLA	<i>human leukocyte antigen</i>
HMDS	hexametildisilazà
HTLV	<i>human T-lymphotropic virus</i>
IDV	indinavir
IN	integrasa
ip	en el pla
i-Pro	isopropil
IR	espectroscòpia d'infraroig
ITIAN	inhibidor de la transcriptasa inversa anàleg de nucleòsid
ITIAN <sup>T</sup>	inhibidor de la transcriptasa inversa anàleg de nucleòtid
ITINAN	inhibidor de la transcriptasa inversa no anàleg de nucleòsid

---

J	constant d'acoblament
LAV	<i>lymphadenopathy-associated virus</i>
LDA	diisopropil amidur de liti
LPV	lopinavir
LR	<i>Lawesson reagent</i> , reactiu de Lawesson
LTR	seqüència Repetida Terminal Llarga
m	multiplet
MA	matriu
MCPBA	àcid metacloroperbenzoic
Me	metil
MS	espectrometria de masses de baixa resolució
MTT	bromur de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,4-difeniltetrazoli
NC	nucleocàpsida
NFV	nelfinavir
NOESY	<i>nuclear Overhauser enhancement spectroscopy</i>
<i>n-</i>	cadena lineal
NVP	nevirapina
<i>nef</i>	<i>negative-regulation factor</i>
ONUSIDA	programa conjunt de les nacions unides sobre el VIH/SIDA
oop	<i>out of plane</i> ; fora del pla
<i>p-</i>	substituent en para
PCC	clorocromat de piridina
Ph	fenil
PIC	<i>preintegration complex</i> ; complex de preintegració
<i>pol</i>	<i>polymerase</i>
PR	proteasa
Py	piridina
q	quadruplet
QSAR	<i>quantitative structure-activity relationship</i>
Rdt.	rendiment
<i>rev</i>	<i>regulator of viral expression</i>
Rf	factor de retenció
RGV	raltegravir
RNA	àcid ribonucleic
RNAcd	virus de RNA de cadena doble
RNAcs-RT	virus de RNA de cadena simple retrotranscrit
RNAm	RNA missatger
RNA <sup>lis3</sup>	RNA de transferència lisina 3
RTV	ritonavir
s	singlet

---

SARS	<i>severe acute respiratory syndrome</i>
SDF-1	<i>stromal cell-derived factor-1</i>
SEM	clorur de 2-(trimetilsilil)etoximetil
SIDA	síndrome de la immunodeficiència adquirida
sim	simètrica
SIV	<i>simian immunodeficiency virus</i>
SQV	saquinavir
SU	superfície
<i>t</i>	tensió
t	triplet
TARGA	tractament antiretroviral de gran activitat
<i>tat</i>	<i>transactivator</i>
TBAI	iodur de tetrabutilamoni
<i>t</i> -But	<i>terc</i> -butil
Td	temperatura de descomposició
TDF	<i>tenofovir disoproxil fumarate</i>
TEA	triètilamina
Tf	temperatura de fusió
THF	tetrahidrofuran
TI	transcriptasa inversa
TM	transmembrana
TMG	1,1,3,3-tetrametilguanidina
TMS	tetrametilsilà
TMV	<i>tobacco mosaic virus</i>
TOF	<i>time-of-flight</i>
TPSCI	trifenilclorosilà
TPV	tipranavir
Troc	2,2,2-tricloroetoxicarbonil
Trp	triptòfan
Ts	tossil-
TSPNa	(trimetilsilil)propionat sòdic
Tyr	tirosina
<i>vif</i>	<i>viral infectivity</i>
VIF	virus de la immunodeficiència en felins
VIH	virus de la immunodeficiència humana
VIS	virus de la immunodeficiència en simis
<i>vpr</i>	<i>viral protein R</i>
<i>vpu</i>	<i>viral protein U</i>
<i>vpx</i>	<i>viral protein X</i>
ZDV	zidovudine

---

## Sumari

El virus de la immunodeficiència humana de tipus 1 (VIH-1) és l'agent que provoca la síndrome de la immunodeficiència adquirida (SIDA). Una malaltia, que va ser descoberta al principi del 80, que pateixen avui en dia entre 31.1 i 35.8 milions d'individus arreu del món i que causa 2.7 milions de nous infectats cada any.

Per tot això, i pels gairebé tres milions de morts que provoca cada any de mitjana aquesta malaltia, es considera important intentar bloquejar el virus (VIH-1), un paràsit que utilitza la maquinària metabòlica de la cèl·lula per replicar-se. Actualment, el tractament més comú és el TARGA (tractament antiretroviral de gran activitat), que consisteix en la combinació d'inhibidors de la transcriptasa inversa i de la proteasa, dos enzims vírics necessaris perquè es produeixi la replicació del virus. La principal problemàtica que presenta un virus d'aquestes característiques és la gran quantitat de mutacions que pot patir i, en conseqüència, la resistència que adquireix front als fàrmacs administrats. Per això és de vital importància trobar noves molècules que puguin no només suplir-ne d'altres front a aquest problema sinó que puguin interaccionar sobre noves dianes terapèutiques.

No va ser fins al segle XXI que van ser aprovats fàrmacs per altres dianes terapèutiques que no fossin la transcriptasa inversa o la proteasa. Destacant-ne Fuzeon® com a inhibidor de fusió entre les membranes del VIH i la cèl·lula hoste i Selzentry® com a inhibidor de CCR5, un dels dos coreceptors d'entrada que pot emprar el virus per infectar la cèl·lula. En canvi, encara a dia d'avui no hi ha cap estructura aprovada per inhibir CXCR4, un altre coreceptor d'entrada. D'entre els compostos estudiats contra aquesta diana terapèutica en destaca l'AMD3100, un compost format per dos macrocicles (ciclams) units per un espaiador *p*-fenilenbismetilènic. Durant les estudis en fases clíniques, es va observar un efecte cardiotòxic i falta de biodisponibilitat oral relacionats amb l'elevada càrrega positiva a pH fisiològic. En el Laboratori de Síntesi de l'IQS, s'ha desenvolupat una família de tetraamines anàlogues del AMD3100 amb les quals, conservant l'espaiador i substituint les unitats de ciclams per diamines, s'han aconseguit bones activitats inhibidores de CXCR4. En el present treball es desenvolupen variants d'aquestes tetraamines per modificació de l'espaiador i per substitució dels ciclams per altres sistemes heterocíclics, respectivament.

D'altra banda, un dels primers ITINANs (Inhibidor de la Transcriptasa Inversa No Anàleg de Nucleòsid) descoberts va ser l'1-[(2-hidroxi)etil]-6-(feniltio)timina (HEPT). En el Laboratori de Disseny Molecular de l'IQS es va seleccionar una quimioteca d'anàlegs d'aquesta estructura i es va proposar una ruta sintètica. Un dels objectius d'aquest treball és doncs, a més d'obtenir anàlegs d'HEPT, confirmar sintèticament la viabilitat de l'itinerari proposat, comprovant que sigui robust, de rendiments elevats i de condicions de reacció prou suaus per poder automatitzar-lo.



## Sumario

El virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) es el agente que provoca el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Una enfermedad, que fue descubierta a principios de los 80, que sufren hoy en día entre 31.1 y 35.8 millones de individuos por todo el mundo y que causa 2.7 millones de nuevos infectados cada año.

Por todo esto, y por los casi tres millones de muertos que provoca cada año de media esta enfermedad, se considera importante intentar bloquear el virus (VIH-1), un parásito que utiliza la maquinaria metabólica de la célula para replicarse. Actualmente, el tratamiento más común es el TARGA (tratamiento antirretroviral de gran actividad), que consiste en la combinación de inhibidores de la transcriptasa inversa y de la proteasa, dos enzimas víricas necesarias para que se produzca la replicación del virus. La principal problemática que presenta un virus de estas características es la gran cantidad de mutaciones que puede sufrir y, en consecuencia, la resistencia que adquiere frente a los fármacos administrados. Por eso es de vital importancia encontrar nuevas moléculas que puedan no sólo suplir a otras frente a este problema sino que puedan interactuar sobre nuevas dianas terapéuticas.

No fue hasta al siglo XXI que fueron aprobados fármacos para otras dianas terapéuticas que no fuesen la transcriptasa inversa o la proteasa. Destacan Fuzeon® como inhibidor de fusión entre membranas del VIH y la célula huésped y Selzentry® como inhibidor de CCR5, uno de los dos correceptores de entrada que puede usar el virus para infectar la célula. En cambio, aún a día de hoy no hay ninguna estructura aprobada para inhibir CXCR4, otro correceptor de entrada. De entre los compuestos estudiados contra esta diana terapéutica destaca el AMD3100, un compuesto formado por dos macrociclos (ciclamo) unidos por un espaciador *p*-fenilenbismetilénico. Durante los estudios en fases clínicas, se observó un efecto cardiotoxico y falta de biodisponibilidad oral relacionados con la elevada carga positiva a pH fisiológico. En el Laboratorio de Síntesis del IQS, se ha desarrollado una familia de tetraaminas análogas al AMD3100 con las cuales, conservando el espaciador y sustituyendo las unidades de ciclamo por diaminas, se han conseguido buenas actividades inhibitoras de CXCR4. En el presente trabajo se desarrollan variantes de estas tetraaminas por modificación del espaciador y por sustitución de los ciclamos por otros sistemas heterocíclicos, respectivamente.

Por otro lado, uno de los primeros ITINANs (Inhibidor de la Transcriptasa Inversa No Análogo de Nucleósido) descubiertos fue el 1-[(2-hidroxi)etoxi]metil]-6-(feniltio)timina (HEPT). En el Laboratorio de Diseño Molecular del IQS se seleccionó una quimioteca de análogos de esta estructura y se propuso una ruta sintética. Uno de los objetivos de este trabajo es pues, además de obtener análogos de HEPT, confirmar sintéticamente la viabilidad del itinerario propuesto, comprobando que sea robusto, de rendimientos elevados y de condiciones de reacción lo suficientemente suaves para poder automatizarlo.





## Summary

The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is the agent which causes acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). A disease that was discovered in the early 80s, that nowadays affects between 31.1 and 35.8 million individuals around the world and causes 2.7 million new infections each year.

For all this, and for the nearly three million deaths caused each year on average by this disease, it is considered important to try to block the virus (HIV-1), a parasite which uses the cell's metabolic machinery to replicate. Currently, the most common treatment is HAART (highly active antiretroviral therapy), which is a combination of reverse transcriptase and protease inhibitors, two viral enzymes necessary for virus replication. The main issues presented by this type of virus are the large number of mutations that can occur and, therefore, the resistance it acquires to administered drugs. It is therefore of vital importance to find new molecules which can not only replace others dealing with this problem, but can interact on new therapeutic targets.

It was not until the 21<sup>st</sup> century that drugs interacting with other therapeutic targets, neither reverse transcriptase nor protease, were approved. Emphasizing Fuzeon® as an inhibitor of membrane fusion between HIV and the host cell and Selzentry® as an inhibitor of CCR5, one of the two coreceptor that the virus can use to infect the cell. However, even today there is not an approved structure to inhibit CXCR4, another entry coreceptor. Among the studied compounds against this therapeutic target highlights the AMD3100, a compound formed by two macrocycles (cyclam) linked by a *p*-phenylenbismethylenic spacer. During clinical trials, there was a cardiotoxic effect and a lack of oral bioavailability associated with its high positive charge at physiological pH. In the Synthesis Laboratory at IQS, a family of tetraamines analogs of AMD3100 which retain the spacer and replace the cyclam units by diamines, have been developed. These compounds showed good CXCR4 inhibitory activity. In this thesis we develop variants of these tetraamines by modification of the spacer and replacement of the cyclams by other heterocyclic systems, respectively.

On the other hand, one of the first NNRTIs (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors) that was discovered was 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT). In the Laboratory of Molecular Design at IQS a chemical library of analogs of this structure was selected and a synthetic route was proposed. Therefore, one objective of this work is to obtain HEPT analogs, confirm the feasibility of the proposed synthetically pathway, checking the robustness of the reactions, that the yields are high and that the reaction conditions are mild enough to automate the process.



# Índex

<b>Introducció</b> .....	1
0.1. La SIDA, història d'una epidèmia.....	3
0.1.1. Els inicis.....	3
0.1.2. Origen del VIH.....	4
0.2. Virus de la immunodeficiència humana (VIH).....	5
0.2.1. El virus.....	5
0.2.2. Retrovirus lentivirus.....	7
0.2.3. Els tipus i subtipus de VIH.....	7
0.2.4. Característiques biològiques del VIH-1.....	9
0.2.5. Cicle reproductiu del VIH.....	11
0.2.5.1. Fase primerenca.....	12
0.2.5.1.1. Reconeixement, unió i fusió del VIH a la cèl·lula.....	12
0.2.5.1.2. Transcripció inversa.....	13
0.2.5.1.3. Integració.....	14
0.2.5.2. Fase tardana.....	15
0.2.5.2.1. Expressió de les proteïnes virals (transcripció genètica i traducció).....	15
0.2.5.2.2. Ensamblatge, alliberament i maduració de les partícules virals.....	16
0.3. Estat actual de l'epidèmia.....	17
0.4. Teràpia antiretroviral.....	18
0.4.1. Teràpia antiretroviral actual i mecanismes d'inhibició.....	18
0.4.2. Fàrmacs en desenvolupament.....	27
0.5. Compostos ciclàmics.....	29
0.5.1. Desenvolupament de biciclams.....	29
0.5.2. Desenvolupament de monociclams.....	31
0.6. 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)timina (HEPT).....	32
0.6.1. Inhibidors de la Transcriptasa Inversa No Anàlegs de Nucleòsid (ITINANs).....	32
0.6.2. Anàlegs d'HEPT.....	33
0.7. Investigació sobre la SIDA a l'IQS.....	35
0.8. Objectius.....	39
Bibliografia.....	40
<b>Capítol 1: Síntesi d'inhibidors d'entrada</b> .....	51
1.1. Antecedents a l'IQS.....	53
1.2. Estudi d'obtenció de tetraamines asimètriques <b>42</b> .....	58
1.2.1. Estudi d'obtenció d'estructures asimètriques <b>42</b> via reacció de Darzens... ..	58
1.2.1.1. Aminació reductora.....	59
1.2.2.2. Protecció de grup amino i reacció de Darzens.....	61
1.3. Estudi d'obtenció de tetraamines simètriques <b>41</b> .....	64
1.3.1. Anàlisi retrosintètica d'estructures simètriques <b>41</b> .....	64
1.3.2. Formació d'amides simètriques <b>55</b> .....	65
1.3.2.1. Formació de clorurs d'àcid.....	65
1.3.2.1.1. Formació del diclorur d'1,4-fenilendiacetil ( <b>58</b> ) a partir d'1,4-fenilendiacètic ( <b>58</b> ) .....	67
1.3.2.1.2. Formació del disililèster <b>59</b> .....	68
1.3.2.1.3. Formació de diclorur d'1,4-fenilendiacetil ( <b>58</b> ) a partir d'1,4-fenilendiacetat de (bistrimetilsilil) ( <b>59</b> ) .....	69
1.3.2.2. Formació d'amides <b>55</b> .....	71

1.3.3. Formació d'amines <b>41</b> .....	77
1.3.3.1. Aspectes generals de reducció d'amides.....	77
1.3.3.2. Reducció d'amides <b>55</b> amb dimetilmercaptà borà.....	77
1.3.3.3. Obtenció d'amines <b>41</b> a partir de les diamides <b>55</b> .....	78
1.4. Avaluació de l'activitat anti-VIH de les amides <b>55</b> i amines <b>41</b> sintetitzades.....	81
Bibliografia.....	89
<b>Capítol 2: Síntesi d'inhibidors d'entrada anàlegs a l'AMD3100</b> .....	95
2.1. Disseny de sistemes bispiridònics, bisglutarimídics i bispirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidínics anàlegs de l'AMD3100.....	95
2.2. Formació d'1,4-fenilendiacetaldehid ( <b>45</b> ).....	77
2.2.1. Estudi d'obtenció de d'1,4-fenilendiacetaldehid ( <b>45</b> ) via reacció de Darzens.....	100
2.2.2. Estudi d'obtenció d'1,4-fenilendiacetaldehid ( <b>45</b> ) via reacció de Wittig.....	101
2.2.2.1. Formació d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè ( <b>79</b> ).....	101
2.2.2.2. Hidròlisi d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè ( <b>79</b> ).....	103
2.2.3. Obtenció d'1,4-fenilendiacetaldehid ( <b>45</b> ) via oxidació.....	105
2.3. Síntesi de dièsters $\alpha,\beta$ -insaturats <b>101</b> .....	109
2.3.1. Síntesi de 3,3'-(1,4-fenilen)bis(2-propenoat) de dimetil ( <b>70</b> {1}) i de dietil ( <b>70</b> {2}).....	109
2.3.2. Síntesi de 4,4'-(1,4-fenilen)bis(2-butenoat) de dimetil ( <b>71</b> {1}).....	110
2.3.3. Síntesi de 1,4-bis(2-metiloxicarbonil-1-etenil)-2,5-bis(hexiloxi)benzè ( <b>104</b> {1}).....	111
2.4. Síntesi d'estructures bispiridòniques <b>105</b> .....	112
2.4.1. Síntesi d'1,4-bis(5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)benzè ( <b>68</b> ).....	114
2.4.2. Síntesi d'1,4-bis((5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)metil)-benzè ( <b>69</b> ).....	115
2.4.3. Síntesi d'1,4-bis(5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)-2,5-di(hexiloxi)benzè ( <b>114</b> ).....	115
2.5. Síntesi d'estructures bisglutarimídiques <b>115</b> .....	116
2.5.1. Síntesi d'1,4-bis(2-cianoglutarimido-3-il)benzè ( <b>73</b> ).....	117
2.5.2. Síntesi d'1,4-bis((2-cianoglutarimido-3-il)metil)benzè ( <b>74</b> ).....	117
2.6. Síntesi d'estructures pirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidíniques <b>116</b> .....	118
2.6.1. Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8 <i>H</i> )-on-5-il)-benzè ( <b>75</b> ).....	119
2.6.2. Síntesi d'1,4-bis((2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8 <i>H</i> )-on-5-il)metil)benzè ( <b>76</b> ).....	120
2.6.3. Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8 <i>H</i> )-on-5-il)-2,5-di(hexiloxi)benzè ( <b>118</b> ).....	121
2.7. Síntesi d'estructures bispirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidíniques metilades <b>124</b> i <b>125</b> .....	122
2.7.1. Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidro-8-metilpirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8 <i>H</i> )-on-5-il)benzè ( <b>124</b> ).....	124
2.7.2. Síntesi d'1,4-bis(2,4-bis(dimetilamino)-5,6-dihidro-6,8-dimetilpirido [2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8 <i>H</i> )-on-5-il)benzè ( <b>125</b> ).....	125
2.8. Estudi d'obtenció d'estructures mixtes amino-piridona <b>141</b> , amino-glutarimida <b>138</b> i amino-pirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina <b>143</b> .....	126
2.8.1. Anàlisi retrosintètic d'obtenció d'estructures mixtes amino-piridona <b>141</b> , amino-glutarimida <b>138</b> , amino-pirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina <b>143</b> .....	127
2.8.2. Síntesi de 3-(4-(dietoximetil)fenil)acrilat de metil ( <b>134</b> {1}) i d'etil ( <b>134</b> {2})...	130
2.8.3. Síntesi de 4-(2-cianoglutarimido-3-il)benzaldehid ( <b>137</b> ).....	130
2.8.4. Estudi d'obtenció de compostos mixtes amino-glutarimida <b>138</b> .....	131
2.8.5. Síntesi de 3-(4-formilfenil)acrilat de metil ( <b>139</b> {1}) i d'etil ( <b>139</b> {2}).....	132
2.8.6. Síntesi de 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)acrilat de metil	

(140{1,3}).....	133
2.8.7. Estudi d'obtenció de 4-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)-fenil)-1,4,5,6-tetrahidro-2-metoxi-6-oxopiridin-3-carbonitril (141{3}).....	133
2.8.8. Síntesi de 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)-4,4-dicianobutanoat de metil (142{1,3}).....	134
2.8.9. Estudi d'obtenció de 5-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)-fenil)-2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8 <i>H</i> )-ona (143{3}).....	135
2.9. Avaluació de l'activitat anti-VIH de les estructures bispíridòniques, bisglutarimídiques i bispírido[2,3- <i>d</i> ]pirimidíniques.....	136
Bibliografia.....	140
<b>Capítol 3: Síntesi d'anàlegs d'HEPT.....</b>	<b>145</b>
3.1. Introducció al disseny de síntesi combinatòria d'anàlegs d'HEPT <b>26</b> .....	147
3.2. Síntesi dels derivats barbitúrics <b>21</b> .....	151
3.3. Síntesi dels 6-clorouracils <b>22</b> .....	156
3.4. Síntesi dels 6-cloro-N1-alkiluracils <b>24</b> .....	160
3.4.1. Síntesi via agent sililant.....	160
3.4.2. Síntesi sense emprar agent sililant.....	164
3.5. Síntesi de disulfurs <b>25</b> .....	167
3.5.1. Síntesi de disulfurs <b>25</b> emprant clorocromat de $\gamma$ -picolina ( $\gamma$ -PCC) ( <b>171</b> ) com a agent oxidant.....	168
3.5.1.1. Síntesi de clorocromat de $\gamma$ -picolina ( $\gamma$ -PCC) ( <b>171</b> ).....	168
3.5.1.2. Síntesi de disulfurs <b>25</b> emprant $\gamma$ -PCC ( <b>171</b> ).....	168
3.5.2. Síntesi de disulfurs <b>25</b> emprant NaBO <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O com a agent oxidant.....	169
3.5.3. Síntesi de disulfurs <b>25</b> emprant DMSO com a agent oxidant.....	169
3.5.4. Caracterització dels disulfurs 25 obtinguts.....	170
3.6. Síntesi dels anàlegs de 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)-timina (HEPT) <b>26</b> .....	172
3.7. Síntesi dels anàlegs de 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)-timina (HEPT) sulfurats <b>177</b> .....	182
3.6. Síntesi dels anàlegs de 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)-timina (HEPT) <b>26</b> .....	172
3.8. Valors d'activitat dels anàlegs de 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)-timina (HEPT) <b>26</b> i <b>177</b> .....	187
Bibliografia.....	191
<b>Part experimental.....</b>	<b>197</b>
4.0. Instrumentation.....	199
4.1. Synthesis of amides.....	201
4.1.1. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(pyrrolidin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene ( <b>55{1}</b> ).....	201
4.1.2. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene ( <b>55{2}</b> ).....	202
4.1.3. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(2-pipecolin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene ( <b>55{3}</b> ).....	203
4.1.4. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(morpholin-4-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene ( <b>55{4}</b> ).....	204
4.1.5. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(piperidin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene ( <b>55{5}</b> ).....	205
4.1.6. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(imidazol-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene ( <b>55{6}</b> ).....	206
4.1.7. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene ( <b>55{7}</b> ).....	207
4.1.8. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(2-(morpholin-4-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonyl-	

methyl)benzene ( <b>55</b> {8}).....	208
4.1.9. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1,4-di(amino-carbonylmethyl)benzene ( <b>55</b> {9}).....	209
4.2. Synthesis of amines.....	210
4.2.1. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(pyrrolidin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)-benzene ( <b>41</b> {1}).....	210
4.2.2. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)-benzene ( <b>41</b> {2}).....	211
4.2.3. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(2-pipecolin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)-benzene ( <b>41</b> {3}).....	212
4.2.4. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(morpholin-4-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)-benzene ( <b>41</b> {4}).....	213
4.2.5. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(piperidin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)-benzene ( <b>41</b> {5}).....	214
4.2.6. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(imidazol-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)-benzene ( <b>41</b> {6}).....	215
4.2.7. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)-benzene ( <b>41</b> {7}).....	216
4.2.8. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(2-(morpholin-4-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)-benzene ( <b>41</b> {8}).....	217
4.2.9. Synthesis of <i>N,N</i> -bis(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene ( <b>41</b> {9}).....	218
4.3. Synthesis of bispiridones, bisglutarimides, bispirido[2,3- <i>d</i> ] pyrimidines and precursors.....	219
4.3.1. Synthesis of dimethyl 3,3'-(1,4-phenylene)bis(2-propenoate) ( <b>70</b> {1}).....	219
4.3.2. Synthesis of diethyl 3,3'-(1,4-phenylene)bis(2-propenoate) ( <b>70</b> {2}).....	220
4.3.3. Synthesis of 1,4-bis(2-methyloxycarbonyl-1-ethenyl)-2,5-bis(hexyloxy)-benzene ( <b>104</b> {1}).....	221
4.3.4. Synthesis of dimethyl 4,4'-(1,4-phenylene)bis(2-butenate) ( <b>71</b> {1}).....	222
4.3.5. Synthesis of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)-benzene ( <b>68</b> ) .....	223
4.3.6. Synthesis of 1,4-bis((5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)-methyl)benzene ( <b>69</b> ) .....	224
4.3.7. Synthesis of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)-2,5-di(hexyloxy)benzene ( <b>114</b> ) .....	225
4.3.8. Synthesis of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin-7( <i>8H</i> )-on-5-yl)benzene ( <b>75</b> ) .....	226
4.3.9. Synthesis of 1,4-bis((2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin-7( <i>8H</i> )-on-5-yl)methyl)benzene ( <b>76</b> ) .....	227
4.3.10. Synthesis of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin-7( <i>8H</i> )-on-5-yl)-2,5-di(hexyloxy)benzene ( <b>118</b> ) .....	228
4.3.11. Synthesis of 1,4-bis(2-cyanoglutarimide-3-yl)benzene ( <b>73</b> ) .....	229
4.3.12. Synthesis of 1,4-bis((2-cyanoglutarimide-3-yl)methyl)benzene ( <b>74</b> ) .....	230
4.3.13. Synthesis of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydro-8-methylpyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin-( <i>8H</i> )-on-5-yl)benzene ( <b>124</b> ) .....	231
4.3.14. Synthesis of 1,4-bis(2,4-bis(dimethylamino)-5,6-dihydro-6,8-dimethylpyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin-7( <i>8H</i> )-on-5-yl)benzene ( <b>125</b> ) .....	232
4.4. Mixed structures.....	233
4.4.1. Synthesis of 1,4-di (2-methoxyvinyl)benzene ( <b>79</b> ) .....	233
4.4.2. Synthesis of <i>N</i> -(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(2-pyrrolidin-1-yl)propan-1-amine ( <b>48</b> {1}).....	234
4.4.3. Synthesis of <i>N</i> -(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(2-pipecolin-1-yl)propan-1-amine ( <b>48</b> {3}).....	235

4.4.4. Synthesis of <i>N</i> -(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(piperidin-1-yl)propan-1-amine ( <b>48</b> {5}).....	236
4.4.5. Synthesis of 4-((3-(pyrrolidin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde ( <b>5</b> {1}).....	237
4.4.6. Synthesis of 4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde ( <b>5</b> {3}).....	238
4.4.7. Synthesis of 4-((3-(piperidin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde ( <b>5</b> {5}).....	239
4.4.8. Synthesis of tert-butyl-4-formylbenzyl-3-(2-pipecolin-1-yl)propylcarbamate ( <b>49</b> {3}).....	240
4.4.9. Synthesis of 2,2,2-trichloroethyl-4-formylbenzyl-3-(piperidin-1-yl)-propylcarbamate ( <b>49</b> {5}).....	241
4.4.10. Synthesis of methyl 3-(4-(diethoxymethyl)phenyl)acrylate ( <b>134</b> {1}).....	242
4.4.11. Synthesis of ethyl 3-(4-(diethoxymethyl)phenyl)acrylate ( <b>134</b> {2}).....	243
4.4.12. Synthesis of methyl 3-(4-formylphenyl)acrylate ( <b>139</b> {1}).....	244
4.4.13. Synthesis of ethyl 3-(4-formylphenyl)acrylate ( <b>139</b> {2}).....	245
4.4.14. Synthesis of methyl 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)-phenyl)-acrylate ( <b>140</b> {1,3}).....	246
4.4.15. Synthesis of methyl 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamine)methyl)-phenyl)-4,4-dicyanobutanoate ( <b>142</b> {1,3}).....	247
4.4.16. Synthesis of 4-(2-cyanoglutarimide-3-yl)benzaldehyde ( <b>137</b> ).....	248
4.5. Synthesis of barbiturates.....	249
4.5.1. Synthesis of barbituric acid ( <b>21</b> {1,1}).....	249
4.5.2. Synthesis of thiobarbituric acid ( <b>21f</b> {2,1}).....	250
4.5.3. Synthesis of 5-methylbarbituric acid ( <b>21</b> {1,2}).....	251
4.5.4. Synthesis of 5-methylthiobarbituric acid ( <b>21</b> {2,2}).....	252
4.5.5. Synthesis 5-ethylthiobarbituric acid ( <b>21</b> {2,3}).....	253
4.5.6. Synthesis of 5-isopropylthiobarbituric acid ( <b>21</b> {2,4}).....	254
4.6. Synthesis of 6-chlorouracils.....	255
4.6.1. Synthesis of 6-chlorouracil ( <b>22</b> {1,1}).....	255
4.6.2. Synthesis of 6-chloro-5-methyluracil ( <b>22</b> {1,2}).....	257
4.7. Synthesis of N1-derivatized uracils.....	258
4.7.1. Synthesis of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyluracil ( <b>24</b> {1,1,1}).....	258
4.7.2. Synthesis of 6-chloro-1-(ethoxymethyl)uracil ( <b>24</b> {1,1,3}).....	259
4.7.3. Synthesis of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)uracil ( <b>24</b> {1,1,4}).....	260
4.7.4. Synthesis of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyluracil ( <b>24</b> {1,2,1}).....	261
4.7.5. Synthesis of 6-chloro-1-(ethoxymethyl)-5-methyluracil ( <b>24</b> {1,2,3}).....	262
4.7.6. Synthesis of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)-5-methyluracil ( <b>24</b> {1,2,4}).....	263
4.7.7. Synthesis of 6-chloro-1-((4-chlorophenoxy)methyl)-5-methyluracil ( <b>24</b> {1,2,2}).....	264
4.8. Synthesis of disulfides.....	265
4.8.1. Synthesis of $\gamma$ -Picolinium chlorochromate ( $\gamma$ -PCC) ( <b>171</b> ).....	265
4.8.2. Synthesis of diphenyl disulfide ( <b>25</b> {1}).....	266
4.8.3. Synthesis of bis(3-aminophenyl) disulfide ( <b>25</b> {2}).....	267
4.8.4. Synthesis of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide ( <b>25</b> {3}).....	268
4.8.5. Synthesis of bis(3-chlorophenyl) disulfide ( <b>25</b> {4}).....	269
4.9. Synthesis of HEPT analogues.....	270
4.9.1. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(phenylthio)uracil ( <b>26</b> {1,1,1,1}).....	270
4.9.2. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)-uracil ( <b>26</b> {1,1,1,2}).....	272
4.9.3. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)	

---

uracil ( <b>26</b> {1, 1, 1, 3}).....	273
4.9.4. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)uracil ( <b>26</b> {1, 1, 1, 4}).....	274
4.9.5. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(phenylthio)uracil ( <b>26</b> {1, 1, 3, 1}).....	275
4.9.6. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)uracil ( <b>26</b> {1, 1, 3, 2}).....	276
4.9.7. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)uracil( <b>26</b> {1, 1, 3, 3})..	277
4.9.8. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)uracil ( <b>26</b> {1, 1, 3, 4}).....	278
4.9.9. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(phenylthio)uracil ( <b>26</b> {1, 1, 4, 1}).....	279
4.9.10. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-aminotiofenol)uracil ( <b>26</b> {1, 1, 4, 2})..	280
4.9.11. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(2,6-dichlorophenylthio)uracil ( <b>26</b> {1, 1, 4, 3}).....	281
4.9.12. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-chlorophenylthio)uracil ( <b>26</b> {1, 1, 4, 4}).....	282
4.9.13. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyl-6-(phenylthio)-uracil ( <b>26</b> {1, 2, 1, 1}).....	283
4.9.14. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 1, 2}).....	284
4.9.15. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorothiofenol)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 1, 3}).....	285
4.9.16. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 1, 4}).....	286
4.9.17. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(phenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 3, 1})..	287
4.9.18. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 3, 2}).....	289
4.9.19. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 3, 3}).....	290
4.9.20. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 3, 4}).....	291
4.9.21. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(phenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 4, 1}).....	292
4.9.22. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 4, 2}).....	293
4.9.23. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(2,6-dichlorophenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 4, 3}).....	294
4.9.24. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil ( <b>26</b> {1, 2, 4, 4}).....	295
4.10. Synthesis of sulphur HEPT.....	296
4.10.1. Synthesis of 6-(3-chlorophenylthio)-1-(ethoxymethyl)-3,4-dihydro-5-methyl-4-thioxopyrimidin-2(1 <i>H</i> )-one ( <b>177</b> {1, 2, 3, 4}).....	296
4.10.2. Synthesis of 6-(phenylthio)-1-(ethoxymethyl)-3,4-dihydro-5-methyl-4-thioxo-pyrimidin-2(1 <i>H</i> )-ona ( <b>177</b> {1, 2, 3, 1}).....	297
Bibliography.....	298
<b>Conclusions</b> .....	299



# **Introducció**



El virus de la immunodeficiència humana (VIH) és el virus responsable de la SIDA (acrònim de la Síndrome de la ImmunoDeficiència Adquirida), responsable d'un dany específic en el sistema immunològic humà que provoca vulnerabilitat front a malalties oportunistes, és responsable de greus infeccions i, en molts casos, de la mort de qui la pateix.

## 0.1. La SIDA, història d'una epidèmia

### 0.1.1. Els inicis

El 5 de juny de 1981, el CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) dels Estats Units d'Amèrica va fer públic que entre l'octubre de 1980 i el maig de 1981, s'havien registrat a Los Angeles (Califòrnia) cinc casos de pneumònia per *Pneumocystis carinii*<sup>[1]</sup>, tots confirmats per biòpsia *antemortem* del pulmó. Val a dir que aquest tipus de pneumònia només s'havia registrat en pacients severament immunodeprimits.<sup>[1]</sup> Uns dies més tard, el CDC va publicar que a les ciutats de San Francisco, New York i Los Angeles havien aparegut un total de 26 casos de sarcoma de Kaposi, un tipus de càncer de pell, una vegada més una malaltia oportunista que afecta a persones immunodeprimides. Davant l'increment de casos de malalties rares, la notícia va arribar a la societat de la mà de diversos mitjans de comunicació com per exemple el *New York Times* amb un article publicat el 3 de juliol de 1981, titulat "*Rare cancer seen in 41 homosexuals*"<sup>[2]</sup> (l'al·lusió als homosexuals és deguda a que tots els primers casos d'aquestes malalties rares es donaven en aquest col·lectiu).

Els casos es van multiplicar en poc temps, tots ells amb un problema de dèficit de limfòcits T (peça clau en la resposta del sistema immunitari) que afectava també al col·lectiu heterosexual, cosa que va forçar a canviar el nom que s'havia emprat fins llavors, GRID (*Gay-Related Immune Deficiency*), en favor del de SIDA (el 17 de juliol de 1982).<sup>[3,4]</sup> Es va observar que el tipus de contagi era molt similar al que es produïa amb el virus de l'hepatitis B.

Davant d'aquesta creixent epidèmia, diferents grups d'investigadors van començar a buscar un virus associat als casos coneguts d'immunodeficiència adquirida, tal com un retrovirus que causa la immunodeficiència dels gats o l'HTLV (*Human T-Lymphotropic Virus*), causant d'un tipus de leucèmia. L'HTLV-I (*Human T-Lymphotropic Virus class I*) fou el primer retrovirus humà, descobert l'any 1979 per R. Gallo i els seus col·laboradors, tot i que la seva publicació es va fer el 1980.<sup>[5]</sup> Dos anys més tard es va descobrir un segon retrovirus HTLV-II (*Human T-Lymphotropic Virus class II*), i un any després, l'any 1983, a l'Institut Pasteur de Paris, L. Montagnier i els seus col·laboradors, varen aïllar un nou retrovirus que van anomenar LAV (*Lymphadenopathy-Associated Virus*).<sup>[6]</sup> En aquella època d'altres grups trobaren nous

---

<sup>1</sup> El 1999 es va aprovar el canvi de nom d'aquest bacteri causant de pneumònia, reanomenant-lo *Pneumocystis jirovecii* en honor al bacteriòleg txec Otto Jirovec i així distingir l'organisme trobat en humans del trobat en rates (*P. Carinii*).

retrovirus, com per exemple l'HTLV-III (*Human T-Lymphotropic Virus class III*) descobert pel grup de R. Gallo<sup>[7]</sup> o l'ARV (*AIDS-associated RetroViruses*) descobert per J. A. Levy i col·laboradors.<sup>[8]</sup>

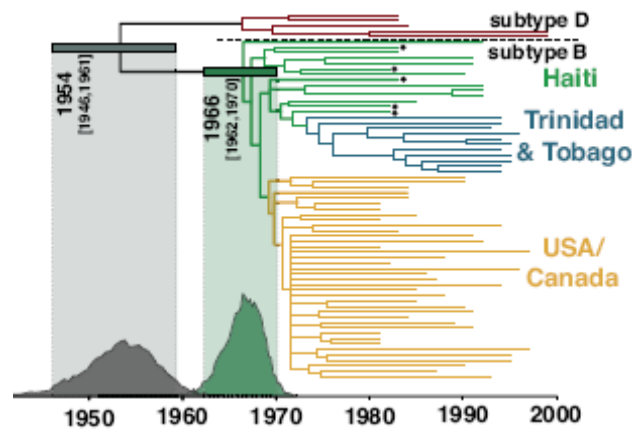
Al gener de 1985, es publica a *Cell* la seqüenciació del LAV, realitzada novament en l'Institut Pasteur,<sup>[9]</sup> i poc temps després es confirma que tant el LAV, l'HTLV-III i l'ARV són tots tres el mateix virus. Però no per això es va deixar d'investigar i, novament, el grup de L. Montagnier va descobrir un nou virus (LAV-2 (*Lymphadenopathy-Associated Virus class 2*)) en un estudi realitzat sobre un pacient de l'Àfrica de l'oest.<sup>[10]</sup> Finalment, el 19 d'abril de 1986, el comitè de taxonomia de virus va anomenar HIV (*Human Immunodeficiency Virus*, VIH Virus d'Immunodeficiència Humana) al virus causant de la SIDA. A conseqüència d'aquest canvi, el LAV-1 (*Lymphadenopathy-Associated Virus class 1*) passa a ser el VIH-1 (Virus d'Immunodeficiència Humana de classe 1) i el LAV-2, el VIH-2 (Virus d'Immunodeficiència Humana de classe 2). De fet, per ser els descobridors del VIH, tant en Luc Montagnier com la seva col·laboradora Françoise Barré-Sinoussi van ser guardonats amb el Premi Nobel de Medicina l'any 2008.<sup>[11,12]</sup>

### 0.1.2. Origen del VIH

Des que l'epidèmia va començar, diverses hipòtesis han sorgit a fi de trobar un culpable o un fet anormal que fos responsable d'aquesta malaltia.<sup>[13]</sup> Finalment, amb estudis filogenètics es va trobar que el VIH tenia llaços familiars amb el VIS (Virus de la Immunodeficiència en Simis).<sup>[14-16]</sup> Els micos d'Àfrica duen naturalment el VIS i l'home hi ha estat exposat durant molt temps. El VIS podria haver franquejat la barrera interespecie moltes vegades a través del temps fins que una de les mutacions que pateix el virus li hagués permès subsistir amb el nou hoste.<sup>[13]</sup>

Actualment es pensa que el VIH es va començar a propagar entre l'any 1884 i 1924. Aquesta datació va ser extreta de l'estudi filogenètic de les dues mostres més antigues conservades fins al moment comparades amb soques actuals. Les esmentades mostres daten dels anys 1959 i 1960, pertanyen a dues persones de Kinshasa, República Democràtica del Congo.<sup>[17]</sup>

Semblaria doncs que la pandèmia va començar a l'Àfrica, i segons un estudi genètic del grup de Gilbert *et al.* el virus de la SIDA hauria passat per Haití abans d'arribar als Estats Units d'Amèrica i finalment a la resta del món.<sup>[18]</sup> L'esmentat estudi es mostra en la Figura 0.1 on s'observa com el virus passa als Estats Units d'Amèrica al voltant de l'any 1969.



**Figura 0.1:** Estudi genètic del VIH a través del temps.<sup>[18]</sup>

Tot i que el VIH prové del VIS, la SIDA no es considera un cas de zoonosi (malaltia animal transmesa a l'home). Aquest fet va quedar demostrat en el cas d'una infecció per VIS de dos treballadors d'un laboratori els quals no van desenvolupar la SIDA<sup>[19,20]</sup> i en algun altre cas descrit al Camerun.<sup>[21]</sup>

## 0.2. Virus de la immunodeficiència Humana (VIH)

### 0.2.1. El virus

Avui en dia, quan es parla de la SIDA de seguida s'associa a la paraula virus, una entitat biològica parasitària que es pot replicar emprant els mecanismes cel·lulars del seu hoste. Com que el virus no posseeix orgànuls i sobretot no té cap autonomia metabòlica, no es pot considerar cèl·lula. El seu cicle de vida té dues fases, una extracel·lular i metabòlicament inert, i l'altra intracel·lular, que és reproductiva. Així doncs, es poden agrupar les característiques que defineixen els virus entorn a tres paràmetres: la seva mida, el fet que puguin ser cristal·litzables i que siguin paràsits intracel·lulars o microcel·lulars obligats. D'aquí la dificultat de considerar un virus com a un ésser viu o com una cosa inert.

El cicle vital d'un virus sempre necessita de la maquinària metabòlica de la cèl·lula hoste per poder replicar el seu material genètic, produint després moltes còpies del virus original. En aquest procés resideix la capacitat destructora dels virus, ja que poden perjudicar la cèl·lula fins a destruir-la.

L'any 1892, un biòleg ucraïnès anomenat Dimitri Ivanovski va demostrar, quan investigava sobre una malaltia que afectava el tabac, que la sàvia de les plantes malaltes contenia un agent infeccios que no es retenia en passar la mostra a través dels filtres de Chamberland. Va atribuir la causa de la malaltia a toxines o a bacteris molt petits. Cinc anys després, l'any 1898, un microbiòleg holandès anomenat Martinus Beijerinck va realitzar

experiments molt similars als d'Ivanovski. Aquest va poder descartar la idea del bacteris, ja que els agents infecciosos difonien en un gel d'Agar, per tant es tractava d'un agent soluble a diferència dels bacteris. D'altra banda, també va poder descartar la hipòtesi de la toxina, degut a que es tractava d'un agent capaç de reproduir-se, ja que mantenia el seu poder infecciós d'unes plantes a unes altres. L'agent en qüestió va ser batejat amb el nom de TMV (*Tobacco Mosaic Virus*) i per tant fou el primer virus descobert. L'honor de ser els descobridors del virus com a tal va recaure sobre aquests dos científics, Ivanovski i Beijerinck.<sup>[22]</sup>

Els virus es poden classificar de moltes maneres (Figura 0.2). Una d'elles és la classificació de Baltimore (Taula 0.1), que ho fa distribuint els virus en set grups fonamentals segons la base química del seu genoma. El VIH forma part del grup 6, és a dir, virus amb RNA (Àcid RiboNucleic) monocatenari retrotranscrit, també anomenats retrovirus.

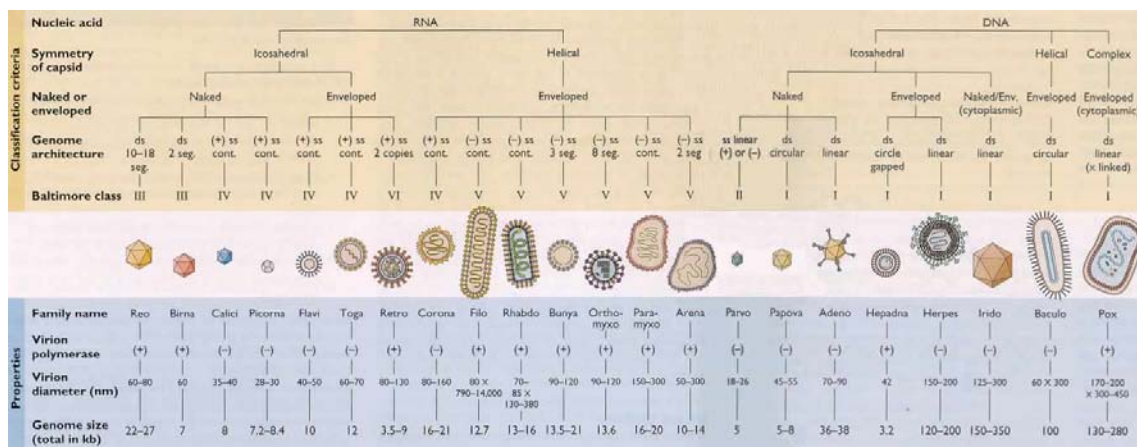


Figura 0.2: Representació d'alguns dels criteris de classificació dels virus<sup>[23]</sup>

Taula 0.1: Classificació de Baltimore dels virus<sup>[24,25]</sup>

Grup	Descripció	Exemple
I	Virus de DNA bicatenari (DNAcd)	Adenovirus, herpes, verola
II	Virus de DNA monocatenari (DNAcs)	Paràsits de plantes i insectes bacteriòfags
III	Virus d'RNA bicatenari (RNAcd)	Rotavirus, virus de la llengua blava
IV	Virus d'RNA monocatenari de polaritat positiva ((+)RNAcs)	Hepatitis C, febre aftosa, coronavirus (SARS)
V	Virus d'RNA monocatenari de polaritat negativa (-)RNAcs)	Xarampió, galteres, èbola
VI	Virus d'RNA monocatenari retrotranscrit amb intermedi de replicació de DNA (RNAcs-RT)	VIH
VII	Virus de DNA bicatenari retrotranscrit amb intermedi de replicació d'RNA (DNAcd-RT)	Hepatitis B

## 0.2.2. Retrovirus lentivirus

Els retrovirus són qualssevol virus que posseeixen un enzim del tipus DNA-polimerasa anomenat transcriptasa inversa o retrotranscriptasa que dirigeix la síntesi de DNA (Àcid DesoxiriboNucleic) bicatenari a través d'RNA monocatenari. S'anomena així ja que el procés normal de la transcripció és codificar l'RNA a partir de la seqüència inicial de DNA. Aquest enzim no té mecanisme corrector com la DNA-polimerasa, cosa que provoca que es donin molts errors, elevant el número de mutacions del DNA retroviral. Posteriorment, emprant els enzims cel·lulars, s'elabora un missatger. Aquests virus són capaços d'arribar fins al nucli de les cèl·lules, integrant el seu DNA en el genoma de l'hoste. De fet, no va ser fins l'any 1970 que es van poder identificar els retrovirus gràcies al treball de D. Baltimore, un microbiòleg americà que va descobrir la transcriptasa inversa, treball pel qual ve ser guardonat amb el premi Nobel de medicina l'any 1975.<sup>[26]</sup>

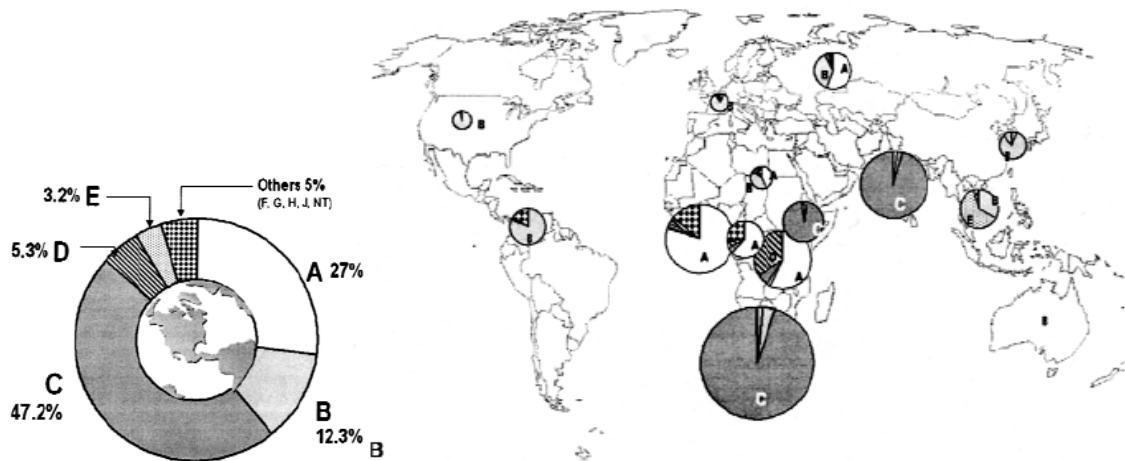
A més de pertànyer a la família dels retrovirus, dels tres gèneres que existeixen (oncovirus, lentivirus, spumavirus) el VIH pertany al dels lentivirus, és a dir, que provoquen patologies d'evolució lenta. Els lentivirus són exògens i infecten principalment les cèl·lules del sistema immunitari (macròfags i limfòcits T CD4), conseqüentment, les infeccions lentivirals resisteixen als atacs del sistema immunitari i causen immunodeficiències en períodes de temps llargs. Una altra característica distintiva d'aquest gènere i en particular del VIH, consisteix en la seva capacitat d'infectar cèl·lules en repòs i/o en diferenciació terminal. Els seus genomes contenen la informació per a tots els gens essencials i els accessoris essencials per a l'expressió de les proteïnes virals en les cèl·lules hostes. Els lentivirus tenen també la capacitat de reduir l'expressió de les seves proteïnes en les cèl·lules hostes i d'establir un estat de latència. Aquest estat pot perdurar un llarg període fins que una resposta cel·lular a un agonista pugui reactivar el virus. Aquesta existència de cèl·lules reserva (infectades de manera latent) és un dels principals problemes per a l'eliminació del VIH en un pacient.

## 0.2.3. Els tipus i subtipus de VIH

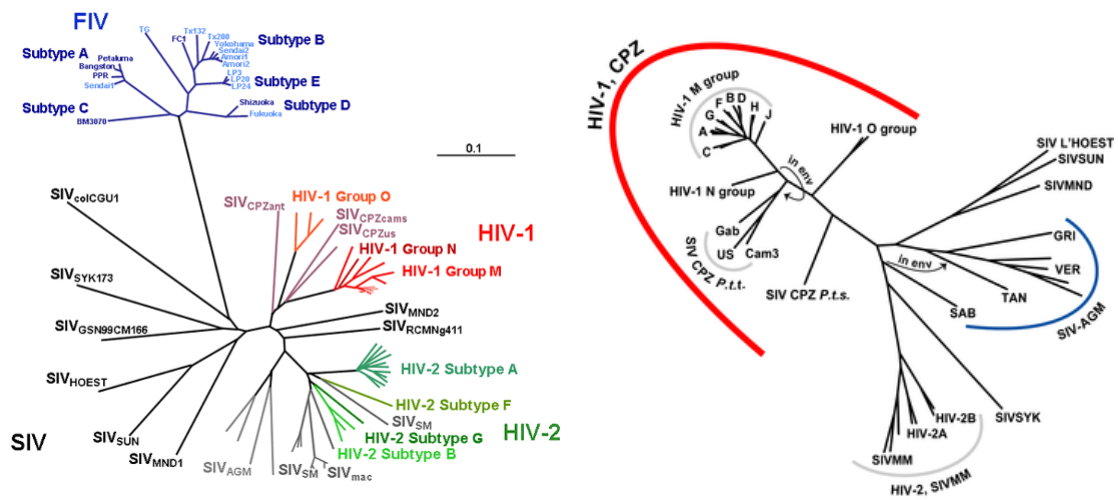
Existeixen dos tipus de VIH, el VIH-1 i el VIH-2, que es poden diferenciar pel seu origen geogràfic, l'organització del seu genoma i el seu lligam de parentesc amb el VIS. Algunes dades indiquen que el VIH-1 prové originalment de la subespècie de ximpanzé *Pan troglodytes troglodytes*,<sup>[14]</sup> mentre que el VIH-2 provindria originalment del mico *Cercocebus torquatus*.<sup>[10]</sup> El VIH-2 es troba principalment a l'Àfrica occidental, rarament es troba fora d'aquesta regió i guarda una semblança major amb el SIV que no pas amb el VIH-1. Comparativament, el VIH-2 té la particularitat de tenir un període de latència més llarg que el VIH-1.

Existeixen quatre subgrups de VIH-1 segons criteris filogenètics, M (*major group*), N (*non-M, non-O group*), O (*outlier group*) provinents del ximpanzé i més recentment s'ha

descobert el grup P provinent del goril·la.<sup>[27]</sup> L'M és el més estès arreu del món i es subdivideix en nou subtipus o clades (A, B, C, D, F, G, H, J, K), basats en l'anàlisi genètic dels gens *env* i *gag*. El subtipus B infecta a la majoria de malalts a Europa, Amèrica, Àsia i Austràlia, mentre que els clades A, C, D i E infecten sobretot a l'Àfrica. Els subgrups N i O es troben principalment al Camerun, però són més rars<sup>[28,29]</sup> (Figura 0.3). En la Figura 0.4 es pot observar a l'esquerra com l'estudi filogenètic del gen *gag* relaciona el FIV (*Feline Immunodeficiency Virus*), el SIV (*Simian Immunodeficiency Virus*) i els HIV-1 (*Human Immunodeficiency Virus class 1*) i HIV-2 (*Human Immunodeficiency Virus class 2*) i a la dreta l'estudi filogenètic del gen *env* del SIV i HIV amb més detall.



**Figura 0.3:** Distribució filogenètica del gen *env* global i regional dels afectats segons subtipus de VIH-1 a l'any 2000<sup>[30]</sup>



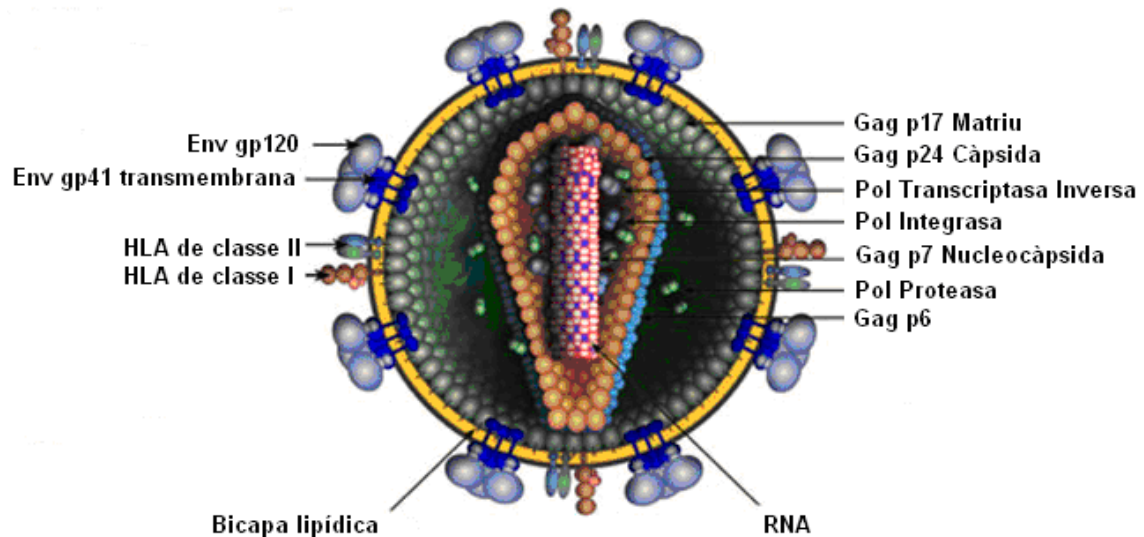
**Figura 0.4:** Arbres filogenètics del FIV, SIV i HIV<sup>[31,32]</sup>

L'existència de tants subgrups és principalment deguda a què com ja s'ha comentat amb anterioritat, el VIH és un retrovirus i per tant no té mecanisme de detecció i correcció



d'errors de transcripció i per recombinació genètica.<sup>[12,33]</sup> Els errors produïts són freqüents (1 per cada 1700 nucleòtids<sup>[34]</sup> o 1 per cada 10000 nucleòtids<sup>[12,35]</sup> segons la font bibliogràfica). Tenint en compte també que cada dia es generen entre  $10^{10}$  i  $10^{12}$  virions,<sup>[33,36]</sup> això representa un gran número de noves unitats virals mutades.

#### 0.2.4. Característiques biològiques del VIH-1



**Figura 0.5:** Estructura del VIH<sup>[37]</sup>

L'aspecte extern del VIH és d'una esfera de diàmetre entre 90 i 120 nm. El seu embolcall és una bicapa lipídica provinent dels restes de la membrana de la cèl·lula infectada. Aquest embolcall està recobert de dos tipus de glicoproteïnes, la gp41 que travessa la membrana i la gp120 que recobreix la part de gp41 que sobresurt de la membrana. Existeix un fort lligam entre la gp120 i els receptors CD4 presents en la superfície de les cèl·lules CD4+. Per aquesta raó, el VIH només infecta cèl·lules que tenen receptors CD4 que principalment són els limfòcits T i els macròfags. La membrana conté també les proteïnes HLA-I (*Human Leukocyte Antigen class I*) i HLA-II (*Human Leukocyte Antigen class II*)

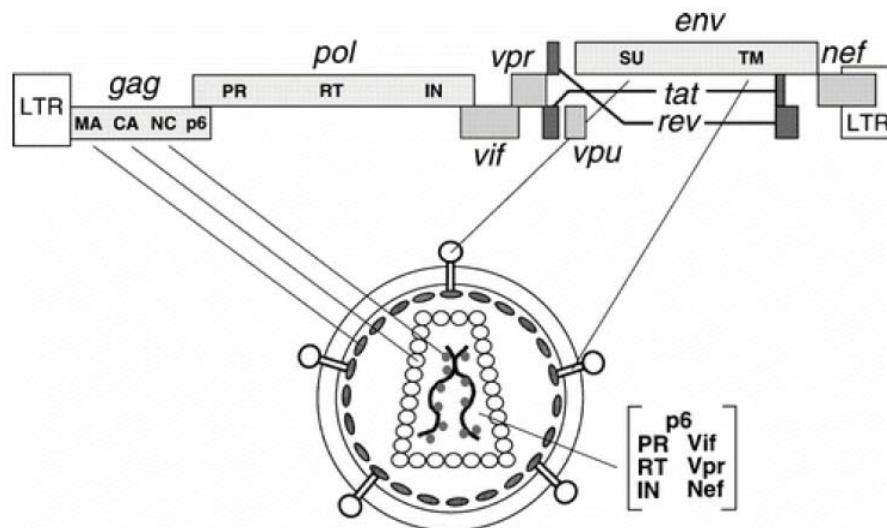
A l'interior de l'embolcall es troba una matriu proteica composta de proteïnes anomenades p17 (MA) i, encara més cap a l'interior, la càpsida composta de proteïnes p24 (CA). La càpsida té una estructura icosaèdrica que té per objectiu protegir l'RNA viral. De fet, a més de contenir el genoma del virus, conté diferents enzims, la transcriptasa inversa (TI), que s'encarrega de transcriure l'RNA viral a DNA viral, i la integrasa (IN), que integra el DNA viral a DNA cel·lular. Existeix un altre enzim, la proteasa (PR), que participa en l'ensamblatge del virus, que no es troba a dins de la càpsida, però sí en la matriu p17. La nucleocàpsida està composta de proteïnes p6 i p7 (Figura 0.5).

El genoma del VIH (Taula 0.2 i Figura 0.6) es basa en nou gens que es localitzen en la regió central del DNA proviral, dels quals els tres principals, *gag* (*group-specific antigen*), *pol* (*polymerase*) i *env* (*envelope*), són presents en tot retrovirus i els sis altres gens són *tat* (*transactivator*), *rev* (*regulator of viral expression*), *nef* (*negative-regulation factor*), *vif* (*viral infectivity*), *vpr* (*viral protein R*) i *vpu* (*viral protein U*) o *vpx* (*viral protein X*) en el cas de VIH-2. Les proteïnes codificades per aquests gens es poden dividir en tres classes:

1. Proteïnes estructurals: Gag (cor del virió), Pol (enzims essencials al VIH) i Env (embolcall viral).
2. Proteïnes reguladores: Tat i Rev
3. Proteïnes accessòries: Vpu, Vpr, Vif, Nef

**Taula 0.2:** Gens i proteïnes del VIH<sup>[38]</sup>

GEN	PROTEÏNA	FUNCIÓ	LOCALITZACIÓ
<i>gag</i>	Matriu (MA)	Estabilitzar la partícula viral. Interaccionar amb Env. Transport nuclear de la càpsida	Virió
	Càpsida (CA)	Formació de la càpsida viral	Virió
	Nucleocàpsida (NC)	Nucleocàpsida, estabilització de l'RNA	Virió
	P6	Unió Vpr	Virió
<i>pol</i>	Proteasa (PR)	Hidròlisi dels precursors i maduració viral	Virió
	Transcriptasa inversa (TI)	Transcripció inversa	Virió
	Integrasa (IN)	Integració del genoma viral al genoma de la cèl·lula hoste	Virió
<i>env</i>	Glicoproteïna transmembrana (TM, gp41)	Fusió de membranes	Membrana viral
	Glicoproteïna de superfície (SU, gp120)	Reconeixement del receptor CD4	Membrana viral
<i>tat</i>	Tat	Transactivador transcripcional viral	Nucli cel·lular
<i>rev</i>	Rev	Transport de l'RNA del nucli al citoplasma	Nucli i citoplasma cel·lular
<i>nef</i>	Nef	Regulació del CD4. Influència en l'activació cel·lular. Augment de la capacitat d'infeccions dels virions	Membrana plasmàtica, citoplasma cel·lular, virió
<i>vpr</i>	Vpr	Transport del complex de pre-integració. Atura el cycle de les cèl·lules infectades a G2/M. Implicada en apoptosi	Virió, nucli cel·lular
<i>vpu</i>	Vpu	Augment de l'alliberament dels virions	Proteïna integral de membrana
<i>vif</i>	Vif	Promou la maduració viral i la capacitat d'infecció	Citoplasma, virió



**Figura 0.6:** Organització genòmica del VIH<sup>[39]</sup>

Mentre que les proteïnes petites són sintetitzades directament en la seva forma madura, les proteïnes grans són proteolitzades per la proteasa vírica durant el procés de maduració dels virions, donant lloc a proteïnes en la seva forma madura capaces de realitzar la seva funció. El precursor Pol és processat per donar lloc a la proteasa (PR), la transcriptasa inversa (TI), l'RNasa H i la integrasa (IN). El precursor Gag és proteolitzat per donar lloc a proteïnes estructurals com la proteïna de la matriu (MA), la proteïna de la càpsida (CA), la proteïna de la nucleocàpsida (NC) i la proteïna p6. Finalment, el precursor Env és processat per donar lloc a la glicoproteïna de superfície (SU, gp120), responsable del reconeixement de la cèl·lula diana i la proteïna transmembrana (TM, gp41) encarregada de la fusió de les membranes vírica i cel·lular. Tots aquests processos de proteòlisi els realitza la proteasa viral PR.

### 0.2.5. Cicle replicatiu del VIH

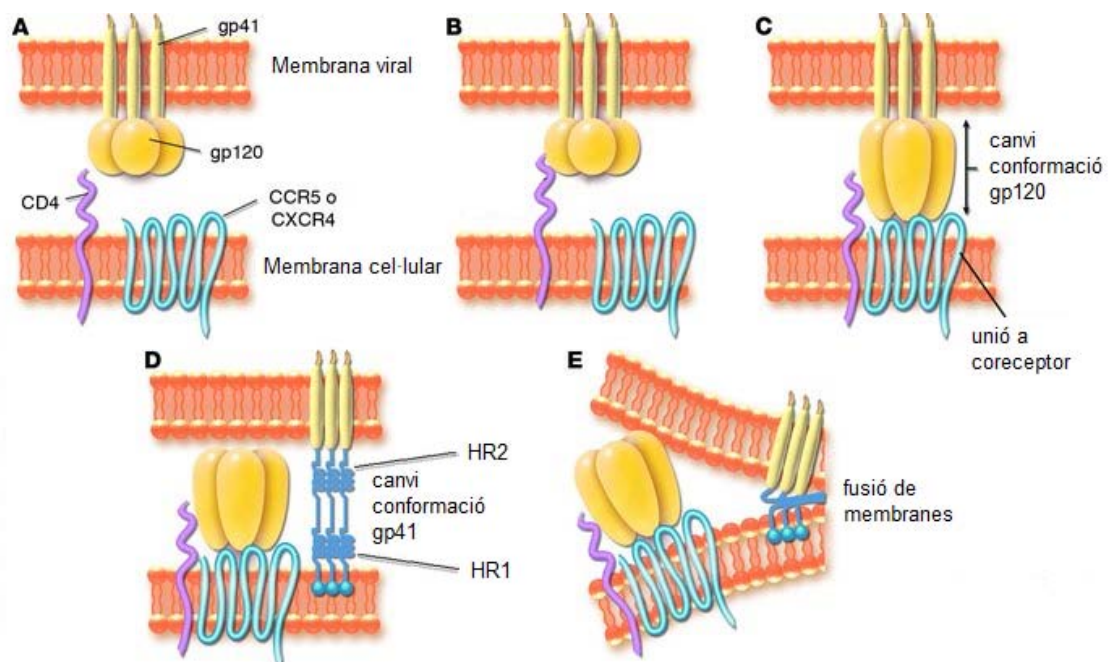
La intrusió del virus en l'hoste, comporta una lluita entre el virus i les cèl·lules del sistema immunitari. La seva capacitat d'establir-se i d'esquivar les defenses del sistema immunitari és el resultat d'una estratègia eficaç on les proteïnes virals i cel·lulars participen activament. El virus adapta el seu cicle vital segons el seu hoste, els limfòcits T CD4+ i els macròfags, les seves dues principals dianes. El cicle replicatiu del VIH-1 es pot subdividir en dues fases, la *fase primerenca* que inclou des del reconeixement de la cèl·lula objectiu per part del virió fins a la integració del DNA víric en el genoma de la cèl·lula hoste i la *fase tardana* que inclou des de l'expressió de les proteïnes virals fins a la maduració del virió.

### 0.2.5.1. Fase primerenca<sup>[40]</sup>

Aquesta fase es pot dividir en diferents etapes: el reconeixement, la unió i fusió del VIH a la cèl·lula; la transcripció inversa i la integració (Figura 0.9)

#### 0.2.5.1.1. Reconeixement, unió i fusió del VIH a la cèl·lula

El VIH-1 s'uneix específicament a les cèl·lules que presenten el marcador CD4. Així doncs, els limfòcits T i els macròfags –responsables de la resposta immunitària– són principalment la seva diana. De fet l'operació es realitza en un seguit d'intermedis estructurals, tal com mostra la Figura 0.7.



**Figura 0.7:** Entrada i fusió del VIH amb la cèl·lula<sup>[41]</sup>

En una primera etapa (B), s'uneixen les glicoproteïnes gp120 presents en l'embolcall del VIH amb els receptors de membrana cel·lular CD4. La glicoproteïna gp120 està formada per un domini intern i un d'extern, aquest segon molt més variable. Aquesta variabilitat es concentra principalment en 5 regions (V1-V5) encara que en destaca la hipervariabilitat del *loop* V3. Una vegada format el complex CD4-gp120, es produeixen canvis conformationals que porten a la unió de gp120 mitjançant el *loop* V3 amb un dels coreceptors de membrana cel·lular CXCR4 i/o CCR5 (C). De fet, la unió a un o altre coreceptor dependrà de la conformació de V3. Aquesta nova unió de gp120 al coreceptor provoca nous canvis conformationals, aquesta vegada sobre gp41, una altra glicoproteïna transmembrana vírica que es caracteritza per tenir dues regions d'hèlix  $\alpha$ , una en l'extrem N terminal (HR1) i l'altra en l'extrem C terminal (HR2). El domini HR1 es fusiona llavors amb la membrana cel·lular i posteriorment es forma una

estructura tipus llaç degut a la unió entre els trímers HR1 i HR2 (D). Aquesta unió provoca el contacte i fusió de les membranes del virus i de la cèl·lula hoste (E), generant-se el porus de fusió pel qual s'allibera la nucleocàpsida viral dins el citoplasma cel·lular.<sup>[42-55]</sup>

És important mencionar en aquest punt que, per entrar en la cèl·lula hoste, el VIH pot usar com a coreceptor els receptors de quimiocines CXCR4 o CCR5 depenent de la soca del virus. Existeixen tres soques de VIH, les M-tròpiques, les T-tròpiques i les D-tròpiques. Mentre les soques M-tròpiques infecten els macròfags degut a que aquests presenten CCR5 en la seva membrana, les soques T-tròpiques infecten les cèl·lules T que presenten CXCR4 en la seva membrana. Existeixen també les soques anomenades D-tròpiques que són capaces d'interaccionar amb ambdós coreceptors.<sup>[56,57]</sup> De manera general, la soca que usa CCR5 és la predominant en la primera etapa de la infecció, mentre que en una fase més avançada el virus muta cap a l'ús de CXCR4 com a coreceptor.<sup>[44]</sup>

#### 0.2.5.1.2. Transcripció inversa

Una vegada la nucleocàpsida es troba a l'interior de la cèl·lula hoste, es produeix l'alliberament del complex de transcripció inversa. Aquest complex, immobilitzat en el citoplasma pel citoesquelet d'actina,<sup>[58]</sup> inclou dues cadenes d'RNA viral, l'RNA de transferència lisina 3 (RNA<sup>lis3</sup>) cel·lular que actua com esquer per la transcripció inversa, la transcriptasa inversa, la integrasa, la matriu, la nucleocàpsida i la proteïna viral Vpr.

La transcriptasa inversa és un heterodímer compost de dues subunitats de 66kDa (p66) i de 51 kDa (p51).<sup>[59]</sup>

La subunitat p66 conté dos centres actius:<sup>[60]</sup>

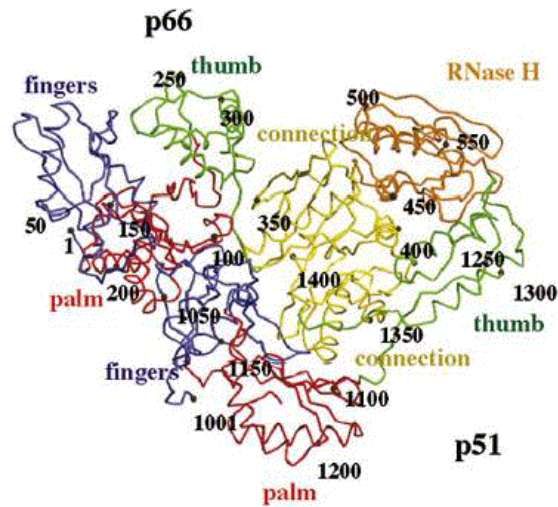
- La part N-terminal, de 440 aminoàcids, constitueix el domini polimerasa
- La part C-terminal, de 120 aminoàcids (del 427 al 560), amb el domini RNasa H<sup>[61]</sup>

En canvi la subunitat p51 només presenta el domini polimerasa.

Ambdues subunitats p66 i p51 tenen el domini polimerasa dividit en 4 subdominis. Es detallen amb més precisió els subdominis de p66<sup>[61]</sup> (Figura 0.8):

- Dits (*fingers*): aminoàcids 0-85
- Palmell (*palm*): aminoàcids 86-117 i 156-237
- Polze (*thumb*): aminoàcids 238-318
- Connexió (*connection*): aminoàcids 319-426

El centre actiu del domini polimerasa de p66 es destaca per tres residus catalítics (Asp<sup>110</sup>, Asp<sup>185</sup> i Asp<sup>186</sup>) anomenats tríada catalítica que tenen un rol molt important en la unió de metalls iònics, i permeten les interaccions amb nucleòtids fosforilats.<sup>[59]</sup>



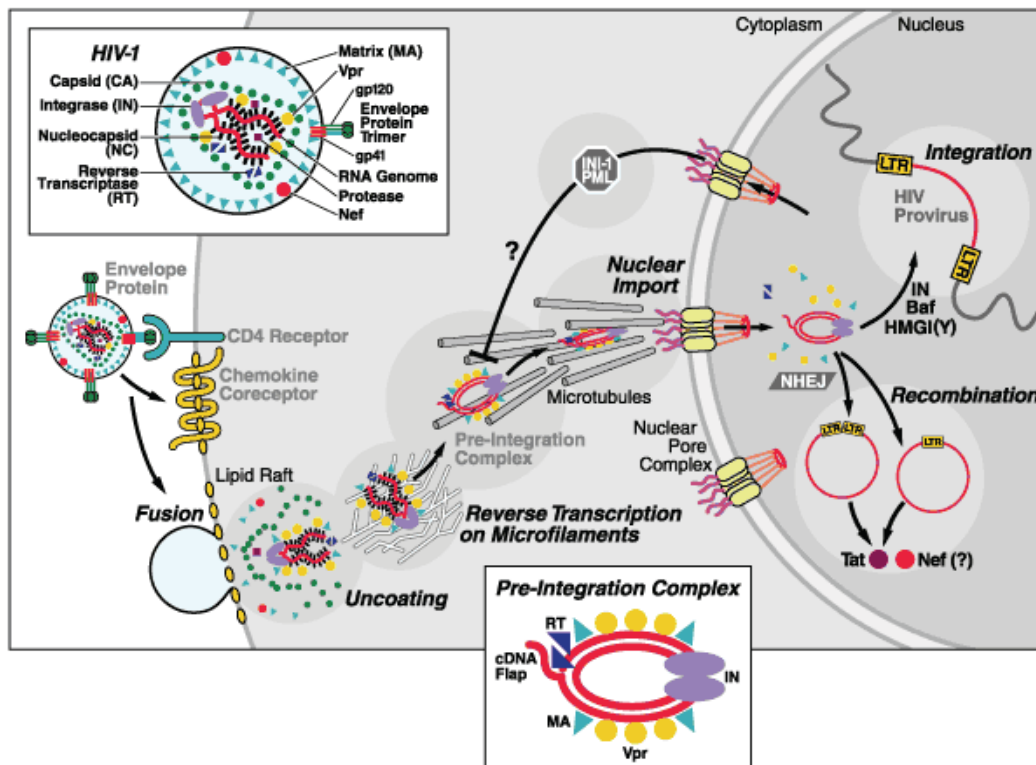
**Figura 0.8:** Representació de la transcriptasa inversa colorada per subdominis: dits en blau, palmell en vermell, polze en verd, connexió en groc i RNasa H en taronja. Estan marcats els residus cada 50, sent p66 d'1 a 556 i p51 de 1001 a 1427.<sup>[59]</sup>

La funció principal de la transcriptasa inversa és formar una cadena simple de DNA a partir del RNA víric com a model. Aquesta formació s'efectua en el centre actiu de la polimerasa de la subunitat p66. De fet, la majoria d'interaccions entre nucleòtids i la transcriptasa inversa es produeixen entre l'RNA i el domini p66. Els subdominis polze i dits de la subunitat p66 realitzen la funció de pinça per sostenir l'RNA en el centre actiu del subdomini de la palma. La tríada catalítica s'uneix a dos ions metàl·lics (probablement magnesi), i aquests interaccionen amb els fosfats del DNA encebador i els nucleòtids incorporats.<sup>[62]</sup> La subunitat de p51 actua com a lloc d'unió per l'anticodó mare i el *loop* de RNA<sup>tis3</sup> que actua com a encebador per començar la síntesi del primer bri de DNA complementari (DNAC).<sup>[63]</sup> Una vegada que el DNAC s'ha format a partir de l'RNA original del VIH com a model, aquest últim és degradat en el subdomini de la nucleasa RNasa H. Alliberat el primer bri de DNAC, es forma el segon bri de DNA per tal de formar la doble hèlix de DNA. Aquest procés es produeix de nou en el centre actiu de la polimerasa p66

### 0.2.5.1.3. Integració

Un cop sintetitzat, el DNA viral és transportat en forma de complex (complex de preintegració (PIC de l'anglès *PreIntegration Complex*), format pel DNA bicatenari, la matriu, la integrasa, el Vpr, la transcriptasa inversa i altres proteïnes (HMG1(γ)) de la cèl·lula hoste)<sup>[64]</sup>. Aquest complex viatja cap al nucli emprant els microtúbuls (proteïnes que formen el

citoesquelet cel·lular) i penetra a través de porus nuclears mitjançant la implicació de proteïnes com les carioferines  $\alpha$  i  $\beta$  de la matriu del virus i de la proteïna viral Vpr.<sup>[65,66]</sup> Una vegada a dins del nucli, el DNA viral s'integra en el genoma de la cèl·lula hoste mitjançant la integrasa, una proteïna de 32 kDa. Aquesta s'uneix a un extrem (3') del DNA viral i n'elimina alguns nucleòtids; tot seguit, talla el DNA cel·lular i elimina alguns nucleòtids amb l'objectiu de catalitzar la unió entre el DNA viral i el cromosoma cel·lular.<sup>[67]</sup> En aquest punt, el provirus pot romandre de forma latent durant llargs períodes de temps.



**Figura 0.9:** Fase primària de cicle vital del VIH<sup>[68]</sup>

### 0.2.5.2. Fase tardana<sup>[40]</sup>

Aquesta fase també es pot subdividir en diferents etapes: expressió de les proteïnes virals (transcripció genètica i traducció); ensamblatge, alliberament i maduració de les partícules virals.

#### 0.2.5.2.1. Expressió de les proteïnes virals (transcripció genètica i traducció)

Arribats a aquest punt, es poden donar dos casos: o bé que es produeixi la transcripció dels gens virals o bé que s'estableixi la latència viral, una de les principals causes que impedeixen eliminar el virus mitjançant una teràpia antiretroviral.<sup>[69]</sup> La transcripció del genoma

viral dona lloc a la síntesi de més de 12 transcrits diferents. Alguns d'aquests transcrits, els més curts, són processats simultàniament durant la seva transcripció i viatgen ràpidament cap al citosol de la cèl·lula hoste. Aquest és el cas de les proteïnes de regulació Tat, Rev i Nef. En canvi, els transcrits més llargs, romanen estables en el nucli i codifiquen per proteïnes d'estructura, enzims, proteïnes accessòries i l'RNA genòmic, servint de material genètic per l'ensamblatge de noves proteïnes virals. D'altra banda, la traducció de l'RNA missatger (RNAm) no madur permet la síntesi de poliproteïnes (Gag, Pol i Env), que posteriorment seran processades per proteases amb l'objectiu d'obtenir les proteïnes virals necessàries a l'ensamblatge i la formació de partícules infeccioses.

### **0.2.5.2.2. Ensamblatge, alliberament i maduració de les partícules virals<sup>[70,71]</sup>**

Diverses proteïnes, entre elles les precursors estructurals Gag, Gag-Pol i Env, comencen a acumular-se en aquesta etapa final. Primerament s'associen els precursors Gag i Gag-Pol, tant amb la membrana plasmàtica de la cèl·lula infectada com amb l'RNA genòmic viral i la inserció d'oligòmers d'Env en la membrana plasmàtica cel·lular. Es comença llavors a formar una bicapa lipídica al voltant del *core* cel·lular i finalment es produeix l'ensamblatge final i l'alliberament al medi extracel·lular de la partícula viral amb arrencament inclòs de part de la membrana amb un fixament previ de les proteïnes de membrana virals, gp120 i gp41.

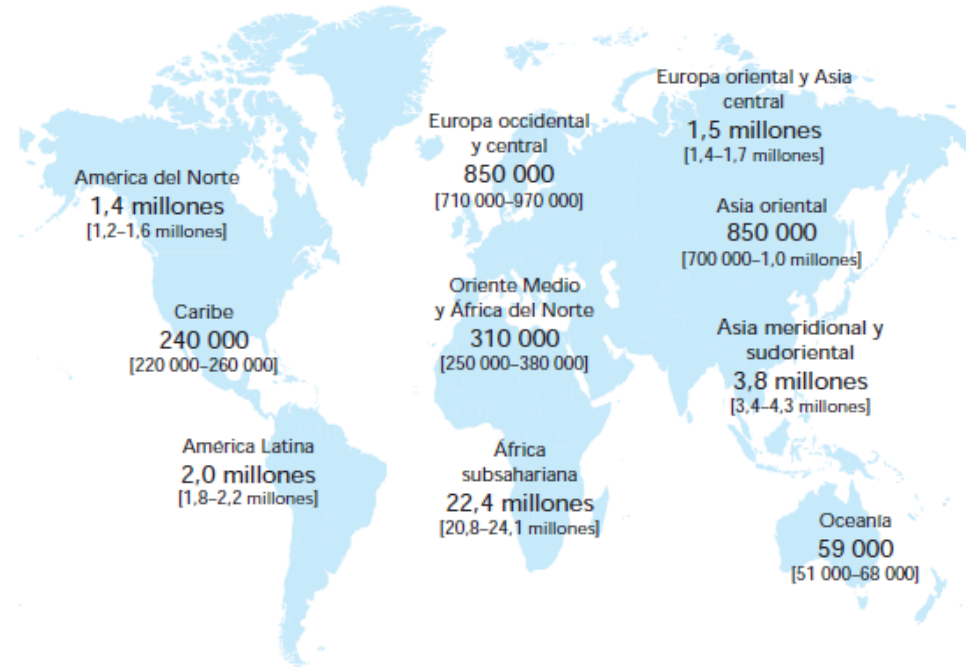
Durant el seu alliberament, o molt poc temps després, es produeix la maduració dels virions, amb el pertinent processament dels precursors Gag i Gag-Pol per la proteasa viral. La proteasa és un enzim que té per funció tallar les poliproteïnes formades en el moment de la traducció en favor de proteïnes constitutives del virus que son responsables del caràcter infecciosos del virus.

Com a resum, es mostra en la Figura 0.10 una representació gràfica de tot el cicle replicatiu del VIH-1.





Des de 1981, més de 20 milions d'individus han mort a causa de la SIDA i no només redueix l'esperança de vida sinó que provoca un increment de la pobresa dels països més afectats i un increment del número de nens orfes.



**Figura 0.11:** Estimació de persones vivint amb el VIH el 2008<sup>[72]</sup>

Es pot observar com la població d'Àfrica subsahariana és la més castigada per la malaltia, destacant-ne sobretot alguns països sud-africans que arriben a taxes de persones infectades pel VIH de fins a 1 de cada 3; encara que sembla estabilitzar-se la situació excepte a Sud-àfrica. Davant aquestes dades tant devastadores, els darrers anys s'ha estat i es segueix treballant per posar remei a aquesta malaltia.

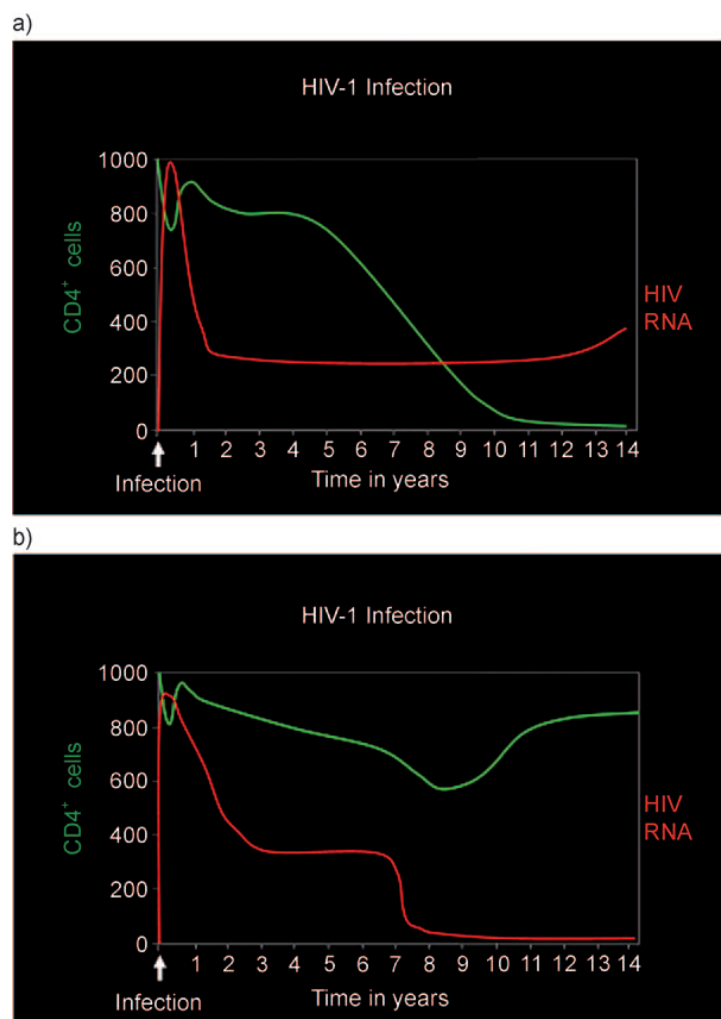
## 0.4. Teràpia antiretroviral

### 0.4.1. Teràpia antiretroviral actual i mecanismes d'inhibició

Una vegada el VIH entra a l'organisme per via sexual, ús de drogues intravenoses, transfusions de sang o altres productes sanguinis o per transmissió vertical, es produeix la infecció. Primerament, quan el virus s'estableix en l'hoste s'anomena etapa primària o aguda i té una durada d'una a dues setmanes. Els símptomes serien semblants als de la grip (febre, dolors musculars i articulars i inflamació dels ganglis limfàtics). És en els nodes limfàtics que es produeix la replicació del virus, alliberant partícules virals en el torrent sanguini. Aquesta replicació té una durada aproximada de dos mesos mentre que el cos triga entre un i tres

mesos a generar anticossos contra el VIH. En la segona etapa, anomenada etapa asimptomàtica o de latència, de manera general, l'infectat sol trobar-se bé, sent l'únic indicatiu de la infecció la presència d'anticossos contra el virus. Tot i això, el virus continua replicant-se i destruint el sistema immunitari ja que les cèl·lules diana són les que presenten el receptor CD4 en la seva superfície, és a dir limfòcits T, monòcits, macròfags i cèl·lules dendrítiques. Si no s'efectua cap tractament, l'infectat perdrà progressivament cèl·lules T CD4<sup>+</sup> i, en tenir menys de 200 unitats/mL, s'entra en l'etapa simptomàtica caracteritzada per la propensió a patir infeccions oportunistes degut a la falta de sistema immunitari.

Com es pot observar, en la Figura 0.12, en quan es produeix la infecció el número de cèl·lules CD4 disminueix a l'hora que es manté el nivell de còpies d'RNA víric. Per evitar patir infeccions oportunistes, una persona infectada amb el VIH, ha de recuperar el sistema immunitari i per aconseguir-ho cal seguir un tractament. Com es pot observar en la Figura 0.12, la teràpia antiretroviral a partir del sisè any d'infecció provoca una disminució de la taxa viral i en conseqüència el pacient recupera el sistema immunològic.<sup>[12]</sup>



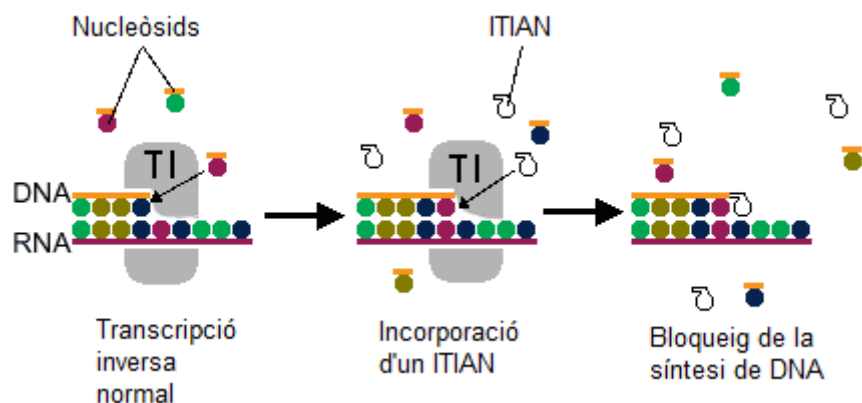
**Figura 0.12:** Evolució del VIH-1 i de les cèl·lules T CD4<sup>+</sup> després de la infecció. a) pacient no tractat; b) pacient tractat per teràpia antiretroviral als 6 anys.<sup>[12]</sup>

Per lluitar contra el VIH-1, existeixen en el mercat fàrmacs que tenen com a dianes terapèutiques les diferents etapes del cicle de vida del virus. Aquests compostos allarguen notablement l'esperança i la qualitat de vida del malalt convertint la SIDA en una malaltia crònica.<sup>[73]</sup>

Ara ja fa 25 anys que es va descobrir l'activitat terapèutica de l'Azidotimidina (AZT), el primer fàrmac anti-VIH aprovat per la FDA per ús clínic en pacients amb la SIDA. Degut a l'elevada taxa de replicació i de mutació del VIH, el virus aconsegueix fer-se resistent als fàrmacs. Per aquesta raó, és recomanable usar més d'un fàrmac alhora. La teràpia antiretroviral actual es basa en la combinació de tres classes de fàrmacs: inhibidors de la transcriptasa inversa anàlegs de nucleòsids (ITIANs), inhibidors de la transcriptasa inversa no anàlegs de nucleòsids (ITINANs) i inhibidors de la proteasa (IP). Aquest tractament amb múltiples fàrmacs s'anomena TARGA (Tractament antiretroviral de gran activitat) i es va començar a aplicar l'any 1996.<sup>[74]</sup> Diversos treballs confirmen que la combinació de tres antiretrovirals alenteix l'aparició de resistència viral cap a aquests compostos. Malauradament, el virus adquireix inevitablement mutacions que li confereixen una resistència front a aquests compostos. Conseqüentment, en general, s'ha de canviar de tractament en diverses ocasions.

### **Inhibidors de la transcriptasa inversa anàlegs de nucleòsids (ITIANs)**

L'any 1985, va aparèixer el primer fàrmac antiretroviral, l'Azidotimidina (AZT). L'AZT fou sintetitzat per primera vegada l'any 1964 com a anticancerígen, però sense cap èxit degut a la seva poca activitat antitumoral. Per contra, la seva activitat antiretroviral fou demostrada l'any 1974 sobre el retrovirus de la leucèmia dels rosegadors de Friend i el 1985 sobre el VIH-1.<sup>[75]</sup> No va ser fins el 19 de març de 1987 que es va aprovar i començar a comercialitzar l'AZT pel tractament contra la SIDA, naixent d'aquesta manera la monoteràpia.<sup>[76]</sup> L'AZT és un inhibidor de la transcriptasa inversa anàleg de nucleòsid (ITIAN). No és fins als principis dels 90 que la FDA aprova nous fàrmacs per aquesta diana terapèutica. De manera general, els ITIANs presenten una estructura de 2',3'-didesoxinucleòsids i no és fins que es fosforilen *in vivo* (via cinases cel·lulars)<sup>[77]</sup> per generar derivats 5'-trifosfat que són actius, competint amb els substrats nucleòsids naturals en el centre catalític. De fet, tal com es mostra en la Figura 0.13, una vegada fosforilats s'incorporen a la cadena de DNA en formació en el procés de la transcripció de l'RNA del virus, bloquejant així l'última etapa.



**Figura 0.13:** Mecanisme d'inhibició dels ITIANs: bloqueig de la síntesi de DNA per inserció d'un ITIAN en comptes d'un nucleòsid

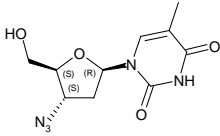
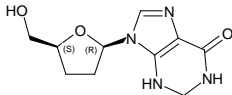
Els anàlegs aprovats per la FDA fins al moment es poden classificar en 4 grups:

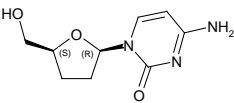
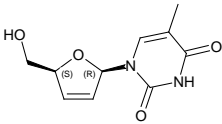
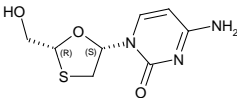
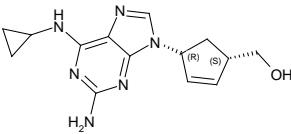
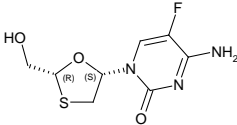
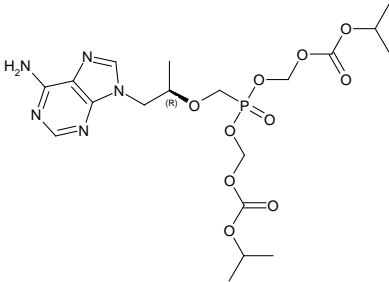
- Anàlegs a la 2-deoxiadenosina (dATP): didanosina (ddl)
- Anàlegs a la 2-deoxiguanosina (dGTP): abacavir (ABC)
- Anàlegs a la 2-deoximidina (dGTP): azidotimidina (AZT), stavudina (d4T)
- Anàlegs a la 2-deoxicitidina (dGTP): zalcitabina (ddC), lamivudina (3TC), Emtricitabina (FTC)

Mencionar també que alguns ITIANs són usats conjuntament en teràpies combinades.

Finalment, també es classifica en aquesta categoria d'inhibidors, el tenofovir, tot i ser un anàleg de nucleòtid (ITIAN). Aquesta molècula requereix de dues etapes de fosforilació en comptes de tres com la resta de compostos (Taula 0.3).

**Taula 0.3:** Fàrmacs ITIANs aprovats per la FDA pel tractament contra la SIDA<sup>[76]</sup>

Nom	Estructura química	Laboratori fabricant
Zidovudine		
Azidothymidine		
AZT, ZDV		GlaxoSmithKline
Retrovir®		
(19/03/87)		
Didanosine		
ddl		Bristol-Myers Squibb
Videx®		
(09/10/91)		

Nom	Estructura química	Laboratori fabricant
Zalcitabine ddC Hivid® (19/06/92)		Hoffmann-La Roche
Stavudine d4T Zerit® (24/06/94)		Bristol-Myers Squibb
Lamivudine 3TC Epiriv® (17/11/95)		GlaxoSmithKline
Combivir® (27/09/97)	Lamivudine, Zidovudine	GlaxoSmithKline
Abacavir sulfate ABC Ziagen® (17/12/98)		GlaxoSmithKline
Trizivir® (14/11/00)	Abacavir, Zidovudine, Lamivudine	GlaxoSmithKline
Emtricitabine FTC Emtriva® (02/07/03)		Gilead Sciences
Epzicom® Kivexa® (02/08/04)	Abacavir, Lamivudine	GlaxoSmithKline
Tenofovir disoproxil fumarate TDF Viread® (26/10/01)		Gilead Sciences

Malauradament, la forma fosfatada d'aquests inhibidors pot interaccionar no específicament amb DNA polimerases i provocar efectes secundaris tòxics.<sup>[78]</sup>

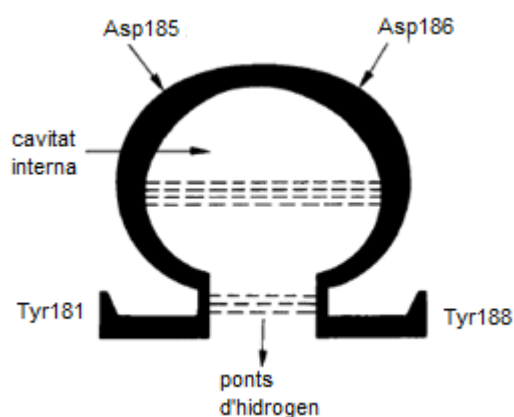
### Inhibidors de la transcriptasa inversa no anàlegs de nucleòsids (ITINANs)

En la segona meitat dels anys 90, va aparèixer al mercat un altre tipus d'inhibidors, els inhibidors de la transcriptasa inversa no anàlegs dels nucleòsids (ITINANs) com per exemple, Efavirenz (EFV), Neviparina (NVP) i Delavirdina (DLV).<sup>[79]</sup> Aquesta classe de fàrmacs actua també sobre la transcriptasa inversa, però de manera diferent als ITIANs ja que no s'uneixen al centre actiu de la polimerasa, sinó que actuen com inhibidors al·lostèrics en una zona específica de la proteïna que es troba a 10 Å del centre catalític.<sup>[80]</sup> El fet de no unir-se a les polimerases cel·lulars, redueix els efectes secundaris.<sup>[78]</sup>

La cavitat d'unió dels ITINANs està situada entre les fulles  $\beta$  de la subunitat p66 (al palmell) i es caracteritza per presentar:

- Una superfície interna predominantment hidrofòbica (amb residus leucina, valina, triptòfan i tirosina principalment).<sup>[80]</sup>
- Un volum de 620-720 Å<sup>3</sup>, dels quals 250-350 Å<sup>3</sup> són ocupats per l'inhibidor.<sup>[61]</sup>

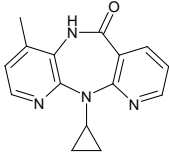
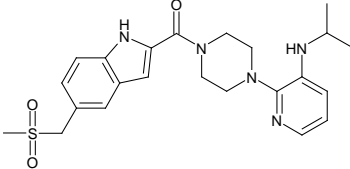
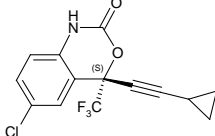
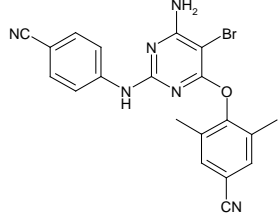
La unió d'un inhibidor altera la conformació dels residus del centre actiu de la polimerasa, que passa a adoptar una conformació molt similar a la de la subunitat inactiva p51.<sup>[78,81]</sup> Aquest canvi ve causat principalment per un gir en el residu Tyr181 en interaccionar amb l'inhibidor. La configuració que adopta té forma d'Omega, i està constituïda per dos aminoàcids de la tríada (Asp185 i Asp186) i dos aminoàcids del lloc d'unió dels inhibidors ITINANs (Tyr181 i Tyr 186) (Figura 0.14).



**Figura 0.14:** Cavitat Omega formada en presència d'ITINANs<sup>[60,78]</sup>

Com es pot observar en la Figura 0.14, l'estructura de la cavitat en forma d'Omega es veu estabilitzada per pont d'hidrogen entre el CO de Tyr181 i l'NH de Tyr188.

**Taula 0.4:** Fàrmacs ITINANs aprovats per la FDA pel tractament contra la SIDA<sup>[76]</sup>

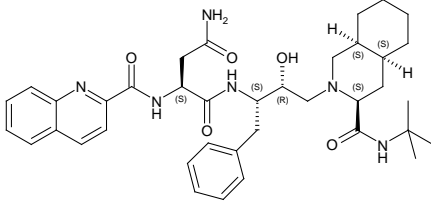
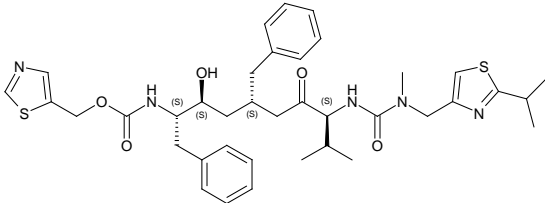
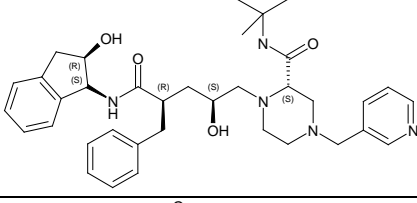
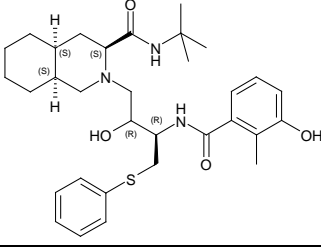
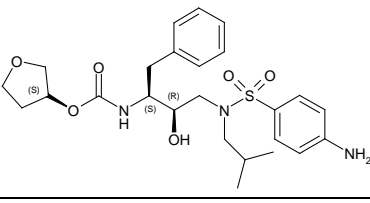
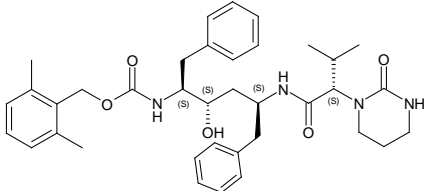
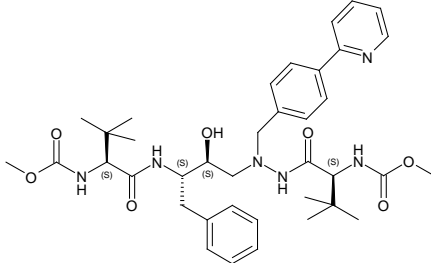
Nom	Estructura química	Laboratori fabricant
Nevirapine NVP Viramune® (21/06/96)		Boehringer Ingelheim
Delavirdine DLV Rescriptor® (04/04/97)		Pfizer
Efavirenz EFV Sustiva® Stocrin® (17/09/98)		Bristol-Myers Squibb
Etravirina Intelence® (18/01/08)		Tibotec Therapeutics

### Inhibidors de la proteasa

D'altra banda, existeix un altre tipus d'inhibidors (Taula 0.5), descoberts a principis dels 90, que tenen per diana terapèutica la proteasa vírica. Aquests inhibidors (IP) impedeixen l'activitat de l'enzim viral (fragmentar els polipeptids Gag i Gag-Pol, essencials per la maduració del virió) de manera que els nous virus generats surten defectuosos i incapaços d'infectar noves cèl·lules.<sup>[82,83]</sup>



**Taula 0.5:** Fàrmacs IP aprovats per la FDA pel tractament contra la SIDA<sup>[76]</sup>

Nom	Estructura química	Laboratori fabricant
Saquinavir mesylate SQV Invirase® (06/12/95)		Hoffmann-La Roche
Ritonavir RTV Norvir® (01/03/96)		Abbott Laboratories
Indinavir IDV Crixivan® (13/03/96)		Merck
Nelfinavir mesylate NFV Viracept® (14/03/97)		Agouron Pharmaceuticals
Amprenavir APV Agenerase® (15/04/99)		GlaxoSmithKline
Kaletra® Aluvia® Lopinavir & Ritonavir LPV/RTV (15/09/00)	 , Ritonavir	Abbott Laboratories
Atazanavir sulfate ATZ Reyataz® (20/06/03)		Bristol-Myers Squibb

Nom	Estructura química	Laboratori fabricant
Fosamprenavir calcium FOS-APV Lexiva® Telzir® (20/10/03)		GlaxoSmithKline
Tipranavir TPV Aptivus® (22/06/05)		Boehringer Ingelheim
Darunavir DRV Prezista® (23/06/06)		Tibotec

Tot i que els efectes secundaris produïts pels inhibidors de la transcriptasa inversa afecten al voltant del 60% dels individus sota aquest tipus de teràpia,<sup>[84]</sup> els inhibidors de la proteasa causen els efectes secundaris més problemàtics, ja que poden afectar al metabolisme de la glucosa i dels lípids, provocant diabetis, hipercolesterèmia, hipertrigliceridèmia i lipodistròfia.<sup>[85,86]</sup>

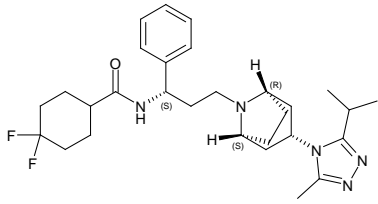
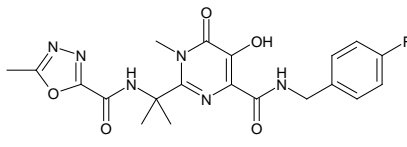
### Inhibidors d'altres dianes terapèutiques

En la idea de generar nous tipus de fàrmacs, darrerament han estat aprovats per la FDA (*Food and Drug Administration*)<sup>[76]</sup> fàrmacs que actuen en noves dianes terapèutiques, com per exemple l'Efuvirtide (T-20), un pèptid de 36 aminoàcids, que s'uneix al domini HR1 de la glicoproteïna gp41 impeding la fusió entre les membranes del VIH i de la cèl·lula (Taula 0.6).<sup>[87-90]</sup>

L'agost de 2007, la FDA va aprovar el Maraviroc, un inhibidor d'entrada, antagonista del coreceptor d'entrada CCR5 (Taula 0.6).<sup>[91,92]</sup>

Dos mesos més tard, es va aprovar un inhibidor de la integrasa (Raltegravir), un dels punts clau del cicle de vida del virus que quedava sense cobrir. Aquest compost evita la inserció del DNA víric en el DNA de la cèl·lula hoste, evitant d'aquesta manera, la formació del provirus (Taula 0.6).<sup>[93]</sup>

**Taula 0.6:** Fàrmacs inhibidors de fusió, d'entrada i d'integrasa aprovats per la FDA pel tractament contra la SIDA<sup>[76]</sup>

Diana terapèutica	Nom	Estructura química	Laboratori fabricant
Fusió	Enfuvirtide ENF T-20 Fuzeon® (13/03/03)	Ac-Tyr-Thr-Ser-Leu-Ile-His-Ser-Leu-Ile-Glu-Glu-Ser-Gln-Asn-Gln-Gln-Glu-Lys-Asn-Glu-Gln-Glu-Leu-Leu-Glu-Leu-Asp-Lys-Trp-Ala-Ser-Leu-Trp-Asn-Trp-Phe-NH <sub>2</sub>	Hoffmann-La Roche & Trimeris
	Antagonista del coreceptor CCR5	Maraviroc Selzentry® Celsentri® (06/08/07)	 Pfizer
Integrasa	Raltegravir RGV Isentress® (12/10/07)		Merck

#### 0.4.2. Fàrmacs en desenvolupament

Tot i que existeixen molts fàrmacs de teràpia antiretroviral, l'elevada capacitat de mutació del VIH que provoca l'aparició de noves soques del virus resistents. Es genera doncs la necessitat de trobar més compostos inhibidors de les noves soques i que actuïn sobre noves dianes terapèutiques. Es presenten en la Taula 0.7 els fàrmacs que s'estan desenvolupant amb la seva diana terapèutica (recopilació de dades fins a l'abril 2010).

**Taula 0.7:** Fàrmacs en desenvolupament i la seva diana terapèutica

Nom	Diana terapèutica	Fase de desenvolupament	Farmacèutica
TNX-355	CD4	II	Tanox
PRO140	CCR5	II	Progenics Pharmaceuticals
AMD070	CXCR4	II	Genzyme Corp.
Elvitegravir	Integrasa	III	Gilead Sciences
Rilpivirina	ITINAN	III	Tibotec

Nom	Diana terapèutica	Fase de desenvolupament	Farmacèutica
RDEA806	ITINAN	IIB	Andrea Biosciences
IDX899	ITINAN	IIB	Idenix Pharmaceuticals
Lersivirina	ITINAN	IIB	Pfizer
Apricitabina	ITIAN	III	Avexa
Elvucitabina	ITIAN	II/III	Achillion Pharmaceuticals
Amdoxovir	ITIAN	II	RFS Pharma
Fosalvudina	ITIAN	II	Heidelberg Pharma
KP-1461	ITIAN	IIA	Koronis Pharmaceuticals
Racivir	ITIAN	II/III	Pharmasset
Bevirimat	Maduració	III	Myriad Genetics

D'una banda, hi ha tres fàrmacs en fases clíniques que tenen per diana terapèutica l'etapa d'entrada i fusió del virus i la cèl·lula. El TNX-355 (Ibalizumab) és un anticòs monoclonal que s'uneix a CD4 impedit la unió del virus amb la cèl·lula.<sup>[94,95]</sup> PRO140 també és un anticòs monoclonal però aquest s'uneix a CCR5, impedit la unió amb el virus sense alterar la seva activitat natural.<sup>[96,97]</sup> En fase clínica II es troba AMD070, un inhibidor antagonista de CXCR4.<sup>[98,99]</sup>

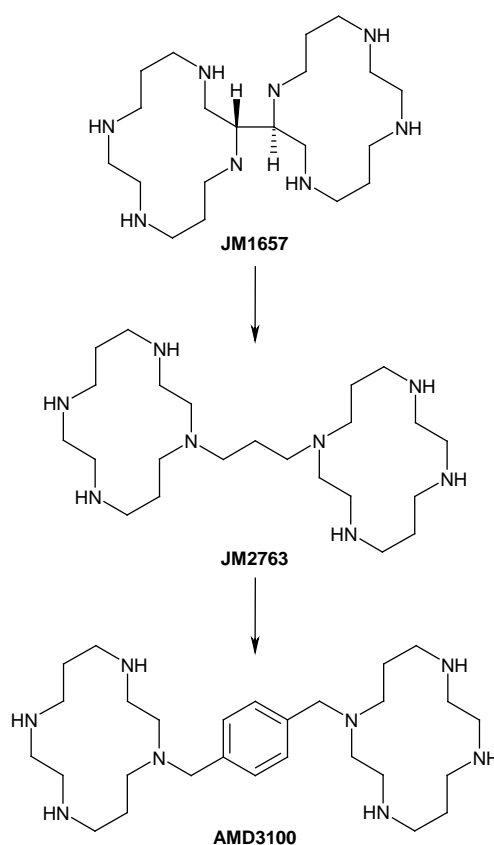
Altres dianes terapèutiques són els enzims virals integrasa i transcriptasa inversa. Inhibidors pel primer enzim només n'hi ha un, elvitegravir. Aquest compost es troba en fase clínica III i el seu mode d'acció és el bloqueig de la integració del DNA víric en el DNA de la cèl·lula hoste.<sup>[100]</sup> En canvi, inhibidors de la transcriptasa inversa en fases clíniques n'hi ha deu dels quals quatre són ITINANs i sis ITIANs. Dels quatre ITINANs de nova generació, la rilpivirina, un derivat de la família de les diarilpirimidines es troba en fase clínica III,<sup>[101,102]</sup> en canvi els altres tres, RDEA806, IDX806 i Lersivirina estan en fase clínica IIB.<sup>[80,103]</sup> Pel que fa els sis ITIANs presentats en la Taula 0.7, es troben tots en fase clínica II o III. La elvucitabina és un anàleg  $\beta$ -L-(-)-nucleòsid, desenvolupat per millorar l'activitat de la lamivudina, un fàrmac ja aprovat per la FDA.<sup>[104,105]</sup> Racivir és la mescla racèmica dels  $\beta$ -enantiòmers (-) i (+) de l'emtricitabina ((-)- $\beta$ -enantiòmer aprovat per la FDA).<sup>[106]</sup> Fosalvudina és un anàleg de la 2-deoxitimidina unit covalentment a un fragment lipídic específic.<sup>[107]</sup> L'amdoxovir, en fase clínica II s'està desenvolupant per administrar-lo conjuntament amb l'AZT.<sup>[108]</sup> KP-1641 actua de provocant mutacions selectives o letals del genoma del VIH.<sup>[109]</sup> Apricitabina és un anàleg de deoxicidina.<sup>[110-112]</sup> Finalment, també s'està estudiant en fase clínica III, bevirimat, un inhibidor de maduració, una diana terapèutica que no té cap fàrmac aprovat encara. Bevirimat intervé en l'última etapa del processat de Gag, bloquejant la conversió del precursor de la càpsida p25 en la proteïna de la càpsida madura p24, en la regió d'escissió CA-SP1. Aquest fet provoca

l'alliberament de partícules virals sense capacitat d'infecció i per tant la fi de la replicació de VIH. SP1 és un petit espaciador que separa els dominis de la càpsida (CA) i la nucleocàpsida (NC) en el precursor de la poliproteïna Gag.<sup>[113,113]</sup>

## 0.5. Compostos ciclàmics

### 0.5.1. Desenvolupament de biciclams

Els biciclams constitueixen una família de compostos que estructuralment presenten dues unitats de monociclams (1,4,8,11-tetraazacicloctadecà) units per un espaciador alifàtic o aromàtic. En la síntesi d'aquesta estructura de ciclam, es va descobrir JM1657, una impuresa de la reacció que va presentar activitat anti-VIH ( $EC_{50} = 0.144 \mu\text{M}$ ,  $CC_{50} = 319 \mu\text{M}$  avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>)) millorant els valors del monociclam ( $IC_{50} = 399 \mu\text{M}$ ,  $CC_{50} = 1248 \mu\text{M}$  avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>)) (Figura 0.15)



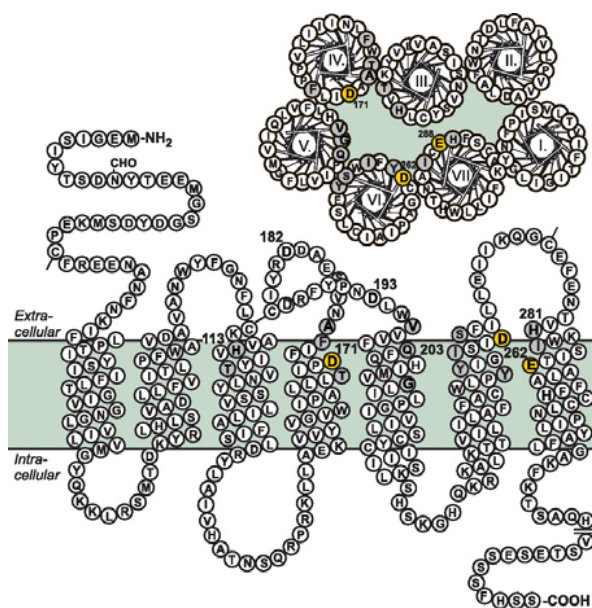
**Figura 0.15:** Evolució del desenvolupament d'estructures biciclàmiques<sup>[78]</sup>

Com que semblava que aquesta unió C-C era responsable de la major activitat, a Johnson Matthey van desenvolupar estructures biciclàmiques unides entre sí per una cadena alifàtica. Dels compostos assajats va ser JM2763 ( $IC_{50} = 0.248 \mu\text{M}$ ,  $CC_{50} > 622 \mu\text{M}$  avaluat en

cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>), amb un espaiador trimetilènic, qui va rendir millor valor d'activitat.<sup>[114]</sup> En un posterior estudi realitzat també per Johnson Matthey, es va veure que la presència d'un espaiador aromàtic afavoria encara més l'activitat. Més concretament van identificar com a millor espaiador el *p*-fenilbismetilènic. La presència d'aquest espaiador provocava una millora en l'activitat de dos ordres de magnitud.<sup>[115]</sup> D'aquesta manera l'JM3100 o altrament anomenat AMD3100, que es caracteritza per inhibir tant VIH-1 com VIH-2, presenta una EC<sub>50</sub> = 1-10 nM, CC<sub>50</sub> > 500 µM avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>) i per tant un índex de selectivitat major o igual a 100000 (Figura 0.15).

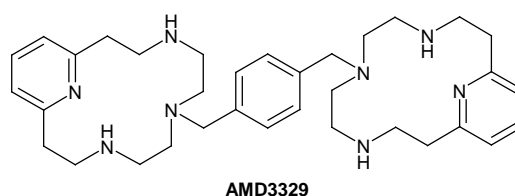
Mitjançant assaigs de temps d'addició, es va poder determinar que aquesta família de compostos actua en una etapa del cicle de replicació del virus posterior a l'adsorció del virus i anterior a la transcripció inversa.<sup>[114]</sup> Inicialment, el grup de De Clercq va pensar que aquests compostos inhibien la glicoproteïna de membrana vírica gp120, però anys més tard, van experimentar que l'AMD3100 era inactiu amb soques M-tropicals però actiu amb soques T-tropicals. Es va concloure que la interacció era amb el coreceptor de quimiocines CXCR4.<sup>[116-118]</sup>

Cercant amb més detall el mode d'acció d'aquesta família de compostos, i partint de la base que la unió entre SDF-1α i CXCR4 és deguda a la interacció electrostàtica entre la superfície positivament carregada del lligand natural del receptor de quimiocines i els *loops* extracel·lulars carregats negativament del coreceptor del VIH-1,<sup>[119]</sup> es van realitzar estudis de mutagènesi per determinar l'afinitat d'unió entre els fàrmacs i el coreceptor CXCR4. Aquests estudis van mostrar que els residus importants per la unió eren Asp171, Asp262 i Glu288 dels dominis transmembrana IV, VI i VII respectivament (Figura 0.16).<sup>[115,120-122]</sup>



**Figura 0.16:** Esquema del coreceptor CXCR4 amb els aminoàcids dels set dominis transmembrana (TM) identificats per mutagènesi. El color gris i groc indica els residus mutats. Els aminoàcids colorats de groc indiquen els llocs d'interacció amb l'AMD3100 identificats.<sup>[78,123]</sup>

Per intentar obtenir millors valors d'activitat, uns quants autors van realitzar tot un seguit d'estudis variant les diferents posicions de l'AMD3100. D'una banda, van observar que la derivatització de l'anell aromàtic de l'espaiador no afectava gaire a l'activitat sempre i quan aquest fos prou petit per no restringir la rotació dels ciclams a causa de l'impediment estèric. També van substituir l'anell aromàtic de l'espaiador per piridines i pirazines, però en tots els casos no van aconseguir una major activitat que la de l'AMD3100.<sup>[124]</sup> D'una altra banda van realitzar modificacions sobre les unitats de ciclam. Per començar, van observar que no era necessari que les dues unitats de ciclam fossin idèntiques a ambdós costats de l'espaiador i que els substituents poliaminats havien de ser cíclics i preferentment de 14 baules.<sup>[125]</sup> Posteriorment, van avaluar la influència dels nitrògens dels conjunts poliaminats, substituint-ne algun per àtoms de sofre o oxigen. Els compostos obtinguts, no solament no van millorar el valor d'activitat anti-VIH, sinó que van provocar en algun cas un efecte citotòxic. Finalment, van aconseguir millorar el valor d'activitat antiviral de l'AMD3100 per addició d'un anell piridínic sobre l'unitat de ciclam (AMD3329:  $EC_{50} = 0.0008 \mu\text{M}$ ,  $CC_{50} = 194 \mu\text{M}$  avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>)) (Figura 0.17).<sup>[126]</sup>

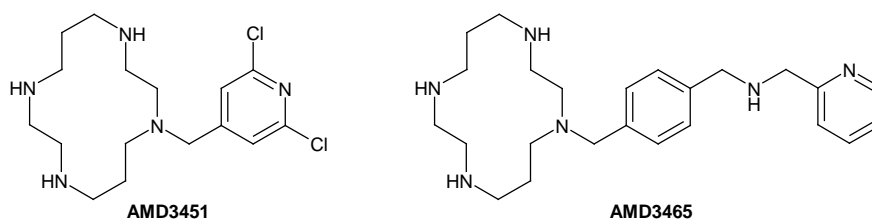


**Figura 0.17:** Estructura de l'AMD3329

### 0.5.2. Desenvolupament de monociclams

Durant les fases clíniques, es va observar que l'AMD3100 presentava baixa biodisponibilitat oral i cardiotoxicitat relacionats amb la seva elevada càrrega positiva a pH fisiològic.<sup>[127]</sup> Per tant, si es volgués administrar AMD3100 a un pacient, s'hauria de fer per via intravenosa. Tot i això, es va descobrir que l'AMD3100 tenia capacitat de mobilitzar cèl·lules mare de la medulla òssia per inhibició de la unió entre SDF-1 $\alpha$  i CXCR4. Actualment, es comercialitza per aquesta aplicació per Genzyme sota el nom de Mozobil® o plerixafor.<sup>[128]</sup>

Per reduir aquesta càrrega positiva, i aconseguir una millor biodisponibilitat oral, es va dissenyar una nova família de compostos monociclams, d'entre els quals destaquen AMD3451 i AMD3465 (Figura 0.18).

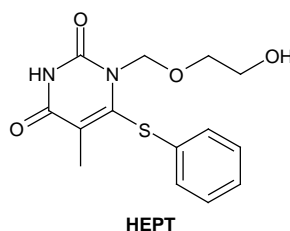


**Figura 0.18:** Estructures de l'AMD3451 i l'AMD3465

L'AMD3451 va resultar ser un antagonista dual de CXCR4 ( $IC_{50} = 1.2 \mu M$  avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>);  $IC_{50} = 1.8 \mu M$  avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 NL4.3) i CCR5 ( $IC_{50} = 6.0 \mu M$  avaluat en cèl·lules PBMC infectades per VIH-1 ADA).

Mentre que AMD3465 inhibia només el coreceptor CXCR4 presentant un valor d'activitat ( $IC_{50} = 12.3 \text{ nM}$ ,  $CC_{50} > 300 \mu M$  avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>)) lleugerament millor que l'AMD3100.<sup>[127]</sup>

## 0.6. 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)timina (HEPT)



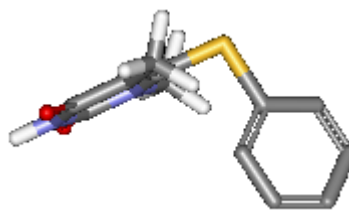
**Figura 0.19:** Estructura química de l'HEPT

### 0.6.1. Inhibidors de la Transcriptasa Inversa No Anàlegs de Nucleòsid (ITINANs)

Davant la resistència als fàrmacs per part dels virus, a finals dels 90, van començar a desenvolupar-se unes quantes famílies d'ITINANs, ja que aquests són molt més específics que els ITIANs, disminuint així els possibles efectes secundaris.

De fet, els ITINANs s'uneixen en una cavitat hidrofòbica molt a prop del lloc on es produeix la catàlisi per la transcriptasa inversa en el VIH-1.<sup>[81]</sup> Diferents estudis cristal·logràfics per raigs X d'ITINANs complexats a transcriptasa inversa han mostrat que l'ITINAN adopta una conformació en forma de papallona<sup>[129]</sup> (Figura 0.20) amb la funció de cessor d'electrons  $\pi$  cap als anells aromàtics que envolten la cavitat d'unió.<sup>[130]</sup>

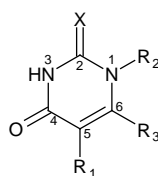




**Figura 0.20:** Conformació en forma de papallona de l'HEPT

## 0.6.2. Anàlegs d'HEPT

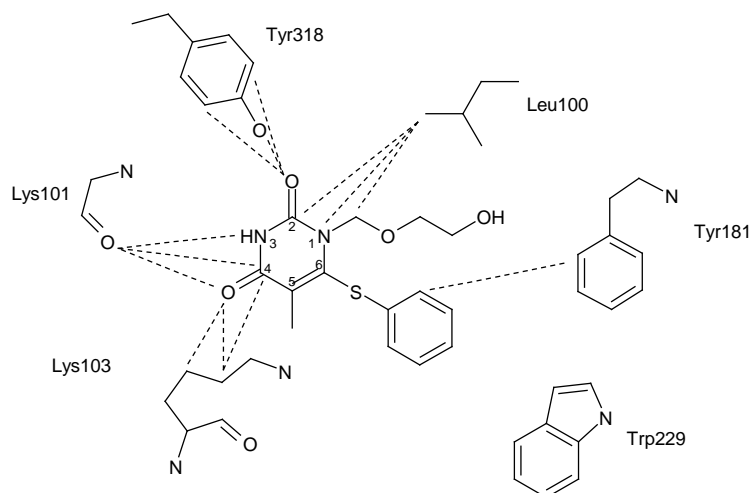
L'HEPT va ser sintetitzat per primera vegada en 1989 per Tanaka i col·laboradors,<sup>[131,132]</sup> i actualment és el cap de sèrie d'una llarga llista d'anàlegs (hi ha més de 200 derivats seus descrits). Inicialment va ser sintetitzat amb la idea de ser un antiherpètic, però va resultar inactiu contra el virus de l'herpes simple (VHS). Inesperadament, es va assajar la seva activitat contra el VIH i va resultar ser actiu.<sup>[133]</sup> En segon terme, es va pensar que formava part de la família dels ITIANS, actuant com a inhibidor competitiu del substrat natural de l'enzim,<sup>[81]</sup> però a l'hora de testejar el compost, sorprenentment es va trobar que només inhibia el VIH-1 i no pas el VIH-2, fet que demostrava que el seu mecanisme era diferent dels ITIANS. Per tant, l'HEPT és un dels primers ITINANS a ser descrit.<sup>[61]</sup> L'HEPT amb un valor d'activitat antiVIH-1 moderat ( $IC_{50} = 5 \mu\text{M}$  avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>)) és el primer d'una família de compostos a partir del qual es va optimitzar la seva estructura (Figura 0.21).



**Anàleg d'HEPT**

**Figura 0.21:** Estructura química de l'HEPT i dels seus anàlegs

Diversos estudis s'han realitzat intentant relacionar l'estructura amb l'activitat que es resumeixen en la Taula 0.8. Com es pot observar, es tracta d'una interacció força complexa en la que intervenen molts factors entre la cavitat d'inhibició de la transcriptasa inversa i l'inhibidor (Figura 0.22).



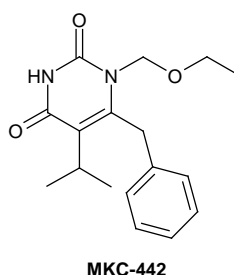
**Figura 0.22:** Diagrama de les principals interaccions de l'inhibidor HEPT amb els residus de la cavitat d'inhibició<sup>[60,78]</sup>

**Taula 0.8:** Relació entre estructura i activitat.<sup>[134-136]</sup>

Substituent	Interaccions
<b>Posició 5</b>	<p>Interaccions estèriques entre el substituent en aquesta posició i l'anell de la Tyr181 causen un gir conformacional de la tirosina (de mitjana, el gir és de 110°). El grau d'aquest gir determina en gran part l'activitat inhibidora: un substituent de volum moderat (com etil o isopropil) permet un contacte suficient amb la tirosina com per situar-la en una posició que deixa la proteïna no funcional (gràcies a interaccions estabilitzadores que es donaran en la posició 6), amb la qual s'aconsegueixen fàrmacs potents; mentre que un residu molt petit no causa suficients interaccions estèriques. En el cas extrem en què el residu es substitueix per hidrogen, es perd totalment l'efecte inhibidor, mentre que un grup massa gran pot provocar que el volum del lligant sigui excessiu per a la cavitat.</p>
<b>Posició 6</b>	<p>El paper del substituent en aquesta posició és estabilitzar l'estructura resultant del gir de la Tyr181 (per impediment estèric amb el residu en posició 5). Les interaccions de <i>stacking</i> entre l'anell benzílic dels inhibidors i la Tyr181 estabilitzen aquesta nova estructura inactiva. Substituents en <i>meta</i> de l'anell benzílic estan en una posició favorable per interaccions de Van der Waals amb el Trp229 en l'estructura "papallona" del lloc d'unió. Hi cabrien també grups amb més volum que el simple benzil, com 6-naftilmetil.</p>
<b>Posició 3</b>	<p>La geometria d'interacció dels anàlegs de l'HEPT està potenciada per un fort pont d'hidrogen del 3-NH de l'anell pirimidínic a l'oxigen carbonílic de la Lys101.</p>

Substituent	Interaccions
<b>Posició 1</b>	La flexibilitat de la proteïna permet obtenir diversitat en el substituent en N-1. Estudis SAR d'anàlegs d'HEPT mostren que hi ha un petit augment d'activitat si el grup hidròfil de l'etoximetil (HEPT) es canvia per un grup hidrofòbic (com es pot preveure per la naturalesa hidrofòbica d'aquesta porció de la cavitat d'unió). N-1 està en contacte amb segments de la cadena polipeptídica, que es flexionen per optimitzar els contactes amb els diferents substrats.
<b>Posició 2</b>	El reemplaçament del grup 2-carbonílic per un tiocarbonílic fa que, en ser aquest més polaritzable s'afavoreixi la interacció de dispersió amb la Tyr318 que té just davant.

Finalment, Triangle Pharmaceuticals va optimitzar l'estructura de l'HEPT, fins a obtenir l'Emivirine®, altrament anomenat MKC-442. Aquest compost amb una valor d'activitat de  $IC_{50} = 15$  nM (avaluat en cèl·lules MT-4 infectades per VIH-1 (III<sub>B</sub>)), va arribar fins a fases clíniques III (Figura 0.23).

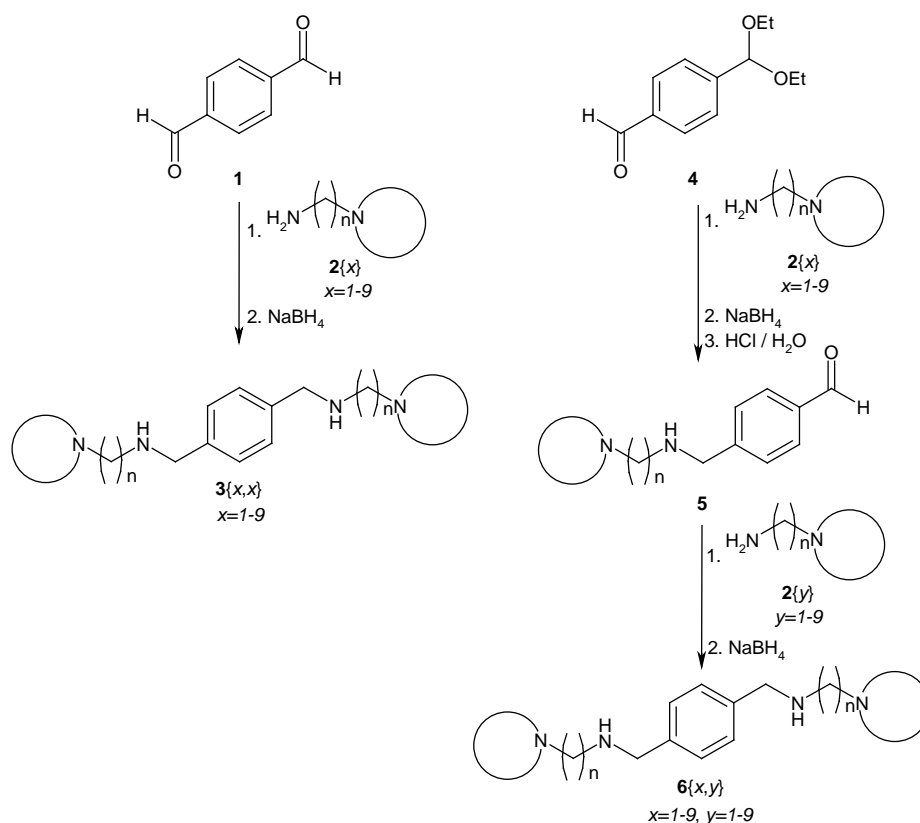


**Figura 0.23:** Estructura de l'Emivirine® o MKC-442

## 0.7. Investigació sobre la SIDA a l'IQS

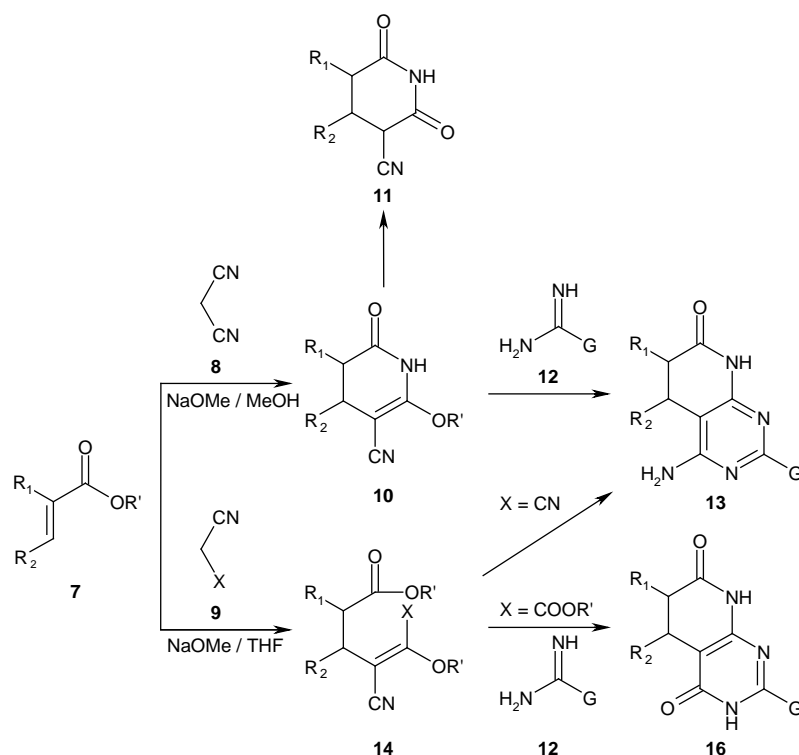
El present treball, es troba englobat en un projecte d'investigació sobre disseny, síntesi i avaluació de l'activitat anti-VIH de nous compostos. El projecte es du a terme d'una banda, a l'IQS en els Laboratoris de Síntesi i Disseny Molecular del GEM (Grup d'Enginyeria Molecular) i d'una altra banda en el Laboratori de Retrovirologia de la Fundació IrsiCaixa a l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. L'esmentat projecte ha estat finançat en part per la Marató de TV3 (projecte 020930) i pel Ministeri d'Educació i Ciència (projecte SAF-2007-63322). Més concretament, el present treball es centra en la síntesi de nous fàrmacs potencials per l'etapa primerenca del cicle de replicació del VIH, és a dir inhibidors d'entrada del virus i de la transcriptasa inversa.

En el marc d'aquest projecte d'investigació, en la cerca de nous inhibidors del coreceptor d'entrada CXCR4, s'han dissenyat i sintetitzat diverses famílies de productes anàlegs de l'AMD3100. Per evitar els problemes de cardiotoxicitat i de baixa biodisponibilitat oral, relacionats amb l'elevada càrrega positiva a pH fisiològic que van provocar que l'AMD3100 fos descartat com a possible fàrmac en fases clíniques per aquesta aplicació,<sup>[127]</sup> es va decidir, tot conservant l'espaiador *p*-fenilenbismetilènic, de canviar els macrocicles ciclàmics per amines **2** comercials més simples. D'aquesta manera, es redueix el número de nitrògens i per tant la seva càrrega positiva a pH fisiològic (Figura 0.24). Es van sintetitzar via aminació reductora tant estructures simètriques **3**{*x,x*} a partir de tereftalaldehid (**1**) com asimètriques **6**{*x,y*} a partir de 4-(dietoximetil)benzaldehid (**4**). Es va avaluar l'activitat anti-VIH i es van obtenir uns molt bons resultats, en algun dels casos només un ordre de magnitud menys actiu que l'AMD3100.<sup>[137,138]</sup> En el present treball, es vol estudiar l'efecte de l'espaiador sobre l'activitat i per aquesta raó és el punt on s'introduirà el tret diferencial, tot conservant les amines **2** usades per formar les estructures **3**{*x,x*} i **6**{*x,y*}.

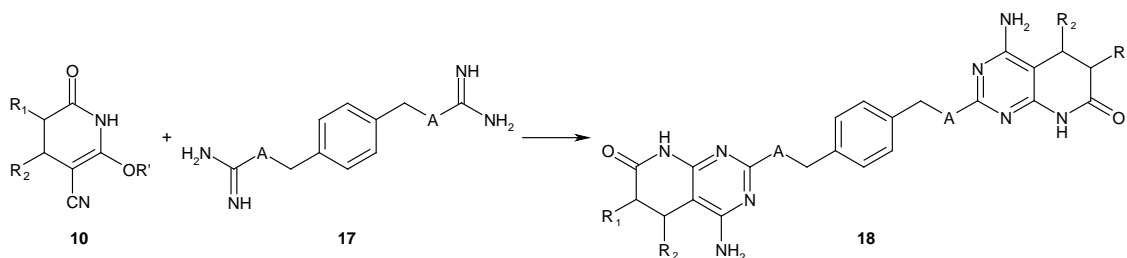


**Figura 0.24:** Ruta sintètica d'obtenció de poliamines simètriques **3**{*x,x*} i asimètriques **6**{*x,y*} sent *n* = 2-3

Per una altra banda, degut a l'experiència prèvia en el grup a sintetitzar estructures piridòniques **10**, glutarimídiques **11** i pirido[2,3-*d*]pirimidíniques **13** (Figura 0.25), es va pensar en incorporar aquestes estructures com a sistemes nitrogenats a banda i banda de l'espaiador *p*-fenilenbismetilènic. En aquest sentit, prèviament a aquest treball, es van sintetitzar estructures d'aquest tipus tal com mostra la Figura 0.26.<sup>[139]</sup>



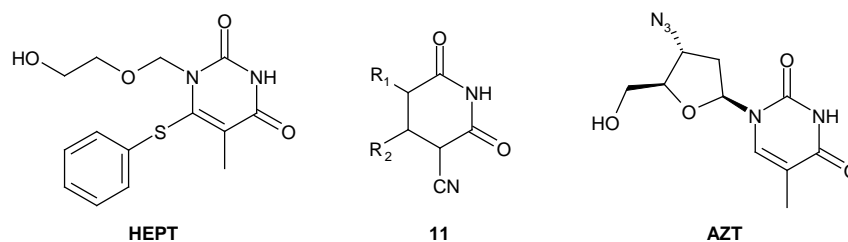
**Figura 0.25:** Formació d'estructures pirido[2,3-*d*]pirimidíniques **13** i glutarimídiques **11** a partir de piridòniques **10**



**Figura 0.26:** Síntesi de sistemes bispirido[2,3-*d*]pirimidínics **18**, on A = NH, S; R<sub>1</sub> = H, Me i R<sub>2</sub> = H, Me, Ph

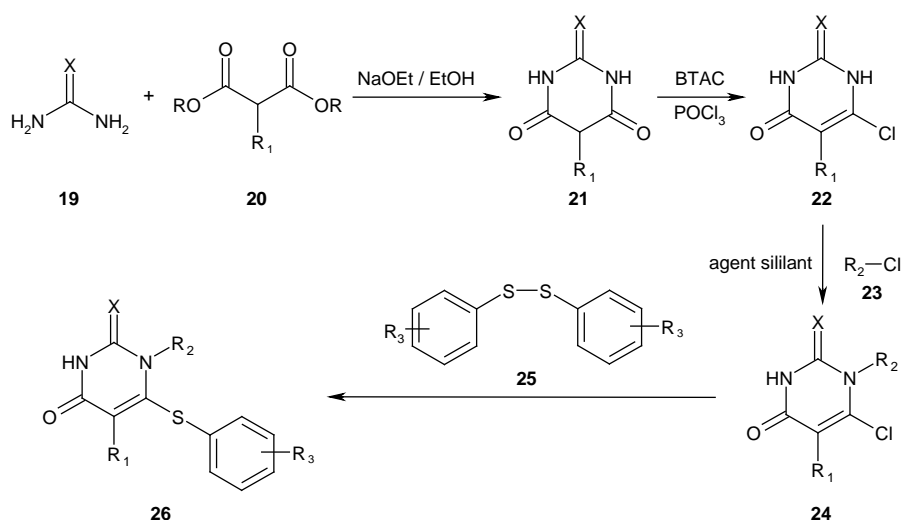
El principal problema que van presentar aquestes estructures és la baixa solubilitat, per aquesta raó, en el present treball es provarà de solucionar aquest problema unint l'espaiador a les estructures pirido[2,3-*d*]pirimidíniques per un altra punt de la molècula. A més, es preveu introduir variacions que permetin una major solubilitat dels compostos a obtenir.

Comparant l'estructura glutarimídica **11** amb les de l'AZT i l'HEPT, dos inhibidors de la transcriptasa inversa, es pot observar que presenten bastants punts en comú (Figura 0.27)



**Figura 0.27:** Estructures de l'HEPT, glutarimida **11** i l'AZT

Aquesta “semblança” estructural de l'HEPT i l'AZT amb les estructures glutarimídiques **11** va ser el punt d'inici de la recerca del grup sobre la temàtica SIDA. En el laboratori de Disseny Molecular del GEM s'ha desenvolupat un programari anomenat PRALINS (*Program for the Rational Analysis of Libraries in Silico*), que permet realitzar selecció de compostos d'una quimioteca aplicant criteris de diversitat o similitud de manera combinatòria o no combinatòria.<sup>[140]</sup> Mitjançant aquest programari es va realitzar una selecció de compostos anàlegs d'HEPT compatibles amb metodologies de síntesi combinatòria, concretament, que fos compatible amb l'esquema de síntesi inicial proposat. Finalment, es va aconseguir reduir una quimioteca de 125396 compostos a una de 660 compostos.<sup>[140,141]</sup> En el present treball, es tractarà de sintetitzar alguns dels compostos seleccionats i comprovar la viabilitat i compatibilitat de l'esquema sintètic sota la perspectiva de la metodologia combinatòria (Figura 0.28).



**Figura 0.28:** Ruta sintètica d'obtenció d'anàlegs d'HEPT (**26**) proposada per M. Mateu, on X = O, S i R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> = qualsevol naturalesa química<sup>[141]</sup>

També, en el laboratori de Disseny Molecular del GEM, s'han desenvolupat eines per realitzar la selecció de compostos per altres vies com són: (i) a partir de models basat en l'estructura d'altres compostos actius amb la mateixa diana (*ligand-base*) o (ii) a partir de l'estructura del receptor amb qui s'han d'unir els compostos (*structure-based*).<sup>[142,143]</sup> Per poder

realitzar aquest segon estudi s'ha modelitzat l'estructura del coreceptor CXCR4 en base a la rodopsina bovina, una GPCR de la qual sí es coneix l'estructura per difracció de raigs X.<sup>[144]</sup> Aquest model permet doncs realitzar un disseny i selecció racional de compostos anti-VIH.

Com a continuació dels esmentats treballs, el present treball es centra en el disseny i síntesi d'inhibidors potencials de la fase primerenca del cicle de replicació del virus del VIH, és a dir inhibidors de CXCR4 i de la transcriptasa inversa.

Més concretament es plantegen els següents objectius.

## **0.8. Objectius**

1. Disseny i síntesi de nous compostos polinitrogenats inhibidors d'entrada del cicle de replicació del virus del VIH-1, concretament inhibidors de CXCR4.
2. Disseny i síntesi de nous compostos anàlegs de l'AMD3100 substituint les unitats de ciclam per altres derivats heterocíclics.
3. Desenvolupament d'una ruta sintètica de condicions de reacció suaus compatibles amb l'aplicació de les metodologies pròpies de la química combinatòria i síntesi d'anàlegs d'HEPT com a inhibidors de la transcriptasa inversa.

## Bibliografia

- [1] CDC. Pneumocytis Pneumonia --- Los Angeles. *MMWR*, **5 de Juny 1981**, 30 (21), p. 1-3.
- [2] L. K. Altman, Rare cancer seen in homosexuals. *New York Times*, **03/07/1981**.
- [3] CDC. Current trends hepatitis B virus vaccine safety: Report of an inter-agency group. *MMWR*, **3 de Setembre 1982**, 31 (34), p. 465-467.
- [4] U. Kher, A name for a plague. *Time*, **27/07/1982**.
- [5] R. C. Gallo. History of the discoveries of the first human retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. *Oncogene*, **2005**, 24 (39), p. 5926-5930.
- [6] F. Barré-Sinoussi, J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, **1983**, 220 (4599), p. 868-871.
- [7] M. Popovic, M. G. Sarngadharan, E. Read, R. C. Gallo. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science*, **1984**, 224 (4648), p. 497-500.
- [8] J. A. Levy, A. D. Hoffman, S. M. Kramer, J. A. Landis, J. M. Shimabukuro, L. S. Oshiro. Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science*, **1984**, 225 (4664), p. 840-842.
- [9] S. Wain-Hobson, P. Sonigo, O. Danos, S. Cole, M. Alizon. Nucleotide sequence of the AIDS virus, LAV. *Cell (Cambridge, Mass.)*, **1985**, 40 (1), p. 9-17.
- [10] F. Clavel, D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. A. Rey, M. O. Santos-Ferreira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, a. et. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*, **1986**, 233 (4761), p. 343-346.
- [11] F. Barre-Sinoussi. HIV: A Discovery Opening the Road to Novel Scientific Knowledge and Global Health Improvement (Nobel Lecture). *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, 48 (32), p. 5809-5814.
- [12] L. Montagnier. 25 Years after HIV Discovery: Prospects for Cure and Vaccine (Nobel Lecture). *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, 48 (32), p. 5815-5826.
- [13] P. A. Marx, C. Apetrei, E. Drucker. AIDS as a zoonosis? Confusion over the origin of the virus and the origin of the epidemics. *J Med Primatol*, **2004**, 33 (5-6), p. 220-226.
- [14] F. Gao, E. Bailes, D. L. Robertson, Y. Chen, C. M. Rodenburg, S. F. Michael, L. B. Cummins, L. O. Arthur, M. Peeters, G. M. Shaw, P. M. Sharp, B. H. Hahn. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature (London)*, **1999**, 397 (6718), p. 436-441.



- [15] S. Corbet, M. C. Muller-Trutwin, P. Versmisse, S. Delarue, A. Ayouba, J. Lewis, S. Brunak, P. Martin, F. Brun-Vezinet, F. Simon, F. Barre-Sinoussi, P. Mauclore. env sequences of simian immunodeficiency viruses from chimpanzees in Cameroon are strongly related to those of human immunodeficiency virus group N from the same geographic area. *J. Virol.*, **2000**, *74* (1), p. 529-534.
- [16] Z. Chen, A. Luckay, D. L. Sodora, P. Telfer, P. Reed, A. Gettie, J. M. Kanu, R. F. Sadek, J. Yee, D. D. Ho, L. Zhang, P. A. Marx. Human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) seroprevalence and characterization of a distinct HIV-2 genetic subtype from the natural range of simian immunodeficiency virus-infected Sooty mangabeys. *J. Virol.*, **1997**, *71* (5), p. 3953-3960.
- [17] M. Worobey, M. Gemmel, D. E. Teuwen, T. Haselkorn, K. Kunstman, M. Bunce, J. Muyembe, J. M. Kabongo, R. M. Kalengayi, E. Van Marck, M. T. P. Gilbert, S. M. Wolinsky. Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960. *Nature (London, U. K.)*, **2008**, *455* (7213), p. 661-664.
- [18] M. T. P. Gilbert, A. Rambaut, G. Wlasiuk, T. J. Spira, A. E. Pitchenik, M. Worobey. The emergence of HIV/AIDS in the Americas and beyond. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2007**, *104* (47), p. 18566-18570, S18566/1-S18566/5.
- [19] R. F. Khabbaz, W. Heneine, J. R. George, B. Parekh, T. Rowe, T. Woods, W. M. Switzer, H. M. McClure, M. Murphey-Corb, T. M. Folks. Brief report: infection of a laboratory worker with simian immunodeficiency virus. *N Engl J Med*, **1994**, *330* (3), p. 172-177.
- [20] R. F. Khabbaz, T. Rowe, M. Murphey-Corb, W. M. Heneine, C. A. Schable, J. R. George, C. P. Pau, B. S. Parekh, M. D. Lairmore, J. W. Curran, a. et. Simian immunodeficiency virus needlestick accident in a laboratory worker. *Lancet*, **1992**, *340* (8814), p. 271-273.
- [21] S. Souquiere, F. Bibollet-Ruche, D. L. Robertson,. Wild Mandrillus sphinx are carriers of two types of lentivirus. *J. Virol.*, **2001**, *75* (15), p. 7086-7096.
- [22] H. Lecoq. Découverte du premier virus, le virus de la mosaïque du tabac: 1892 ou 1898? *C R Acad Sci III*, **2001**, *324* (10), p. 929-933.
- [23] C. Beuret, Virology. **2002**, <http://www.nlv.ch/Virologytutorials/graphics/classification-total.jpg> (data consulta 10/04/2010).
- [24] C. Beuret, Virology. **2002**. <http://www.nlv.ch/Virologytutorials/Classification.htm> (data consulta 28/04/2010).
- [25] D. Baltimore. Expression of animal virus genomes. *Bacteriol. Rev.*, **1971**, *35* (3), p. 235-241.
- [26] D. Baltimore. Viral RNA-dependent DNA polymerase. *Nature (London)*, **1970**, *226* (5252), p. 1209-1211.
- [27] J. Plantier, M. Leoz, J. E. Dickerson, F. De Oliveira, F. Cordonnier, V. Lemeé, F. Damond, D. L. Robertson, F. Simon. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat. Med. (N. Y., NY, U. S.)*, **2009**, *15* (8), p. 871-872.
- [28] P. Mauclore, I. Loussert-Ajaka, F. Damond, P. Fagot, S. Souquieres, L. M. Monny, F. X. Mbopi Keou, F. Barre-Sinoussi, S. Saragosti, F. Brun-Vezinet, F. Simon. Serological and virological characterization of HIV-1 group O infection in Cameroon. *Aids*, **1997**, *11* (4), p. 445-453.

- [29] P. Bodelle, A. Vallari, R. Coffey, C. P. McArthur, M. Beyeme, S. G. Devare, G. Schochetman, C. A. Brennan. Identification and Genomic Sequence of an HIV Type 1 Group N Isolate from Cameroon. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **2004**, 20 (8), p. 902-908.
- [30] S. Osmanov, C. Pattou, N. Walker, B. Schwardlander, J. Esparza. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. *J Acquir Immune Defic Syndr*, **2002**, 29 (2), p. 184-190.
- [31] J. K. Yamamoto, E. Sato, R. Pu, J. Coleman, M. Martin. Feline immunodeficiency virus vaccines: Evolving concepts in vaccine approaches. *Cellscience reviews*, **2006**, 2 (3), p. 35-49.
- [32] C. Kuiken, B. Foley, B. Hahn, P. Marx, McCutchan F., J. W. Mellors, J. Mullins, S. Wolinsky, B. Korber, Human retroviruses and AIDS 1999, A compilation and analysis of nucleic acid and amino acids sequences. **1999**.
- [33] A. Rambaut, D. Posada, K. A. Crandall, E. C. Holmes. The causes and consequences of HIV evolution. *Nat. Rev. Genet.*, **2004**, 5 (1), p. 52-61.
- [34] J. D. Roberts, K. Bebenek, T. A. Kunkel. The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1. *Science (Washington, D. C., 1883-)*, **1988**, 242 (4882), p. 1171-1173.
- [35] J. -M. Huraux, H. Agut, A. -M. Fillet, V. Calvez, V. Thibault, A. Gautheret-Dejean, A. -G. Marcelin, C. Deback. *Virologie*. **2007**.
- [36] A. S. Perelson, A. U. Neumann, M. Markowitz, J. M. Leonard, D. D. Ho. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science (Washington, D. C.)*, **1996**, 271 (5255), p. 1582-1586.
- [37] HIV Sequence Database. **2010**. <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence-/STRUCTURE/INDEX.HTML> (data consulta 13/05/2010).
- [38] D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. A. Martin, B. Roizman, S. E. Straus. *Fundamental Virology*. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. **2001**.
- [39] A. D. Frankel, J. A. T. Young. HIV-1: fifteen proteins and an RNA. *Annu. Rev. Biochem.*, **1998**, 67, p. 1-25.
- [40] B. G. Turner, M. F. Summers. Structural biology of HIV. *J. Mol. Biol.*, **1999**, 285 (1), p. 1-32.
- [41] J. A. Berzofsky, J. D. Ahlers, J. Janik, J. Morris, S. Oh, M. Terabe, I. M. Belyakov. Progress on new vaccine strategies against chronic viral infections. *J. Clin. Invest.*, **2004**, 114 (4), p. 450-462.
- [42] V. Briz, E. Poveda, V. Soriano. HIV entry inhibitors: mechanisms of action and resistance pathways. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2006**, 57 (4), p. 619-627.
- [43] D. C. Chan, P. S. Kim. HIV entry and its inhibition. *Cell (Cambridge, Mass.)*, **1998**, 93 (5), p. 681-684.
- [44] P. R. Clapham, A. McKnight. Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses. *J. Gen. Virol.*, **2002**, 83 (8), p. 1809-1829.
- [45] P. R. Clapham, R. A. Weiss. Immunodeficiency viruses: Spoilt for choice of co-receptors. *Nature (London)*, **1997**, 388 (6639), p. 230-231.

- [46] R. W. Doms, J. P. Moore. HIV-1 membrane fusion: targets of opportunity. *J. Cell Biol.*, **2000**, *151* (2), p. F9-F13.
- [47] U. Dietrich. HIV-1 entry inhibitors. *AIDS Rev.*, **2001** (3), p. 89-97.
- [48] J. A. Esté. HIV resistance to entry inhibitors. *AIDS Rev.*, **2001** (3), p. 121-132.
- [49] C. Gomez, T. J. Hope. The ins and outs of HIV replication. *Cell. Microbiol.*, **2005**, *7* (5), p. 621-626.
- [50] C. C. LaBranche, G. Galasso, J. P. Moore, D. P. Bolognesi, M. S. Hirsch, S. M. Hammer. HIV fusion and its inhibition. *Antiviral Res.*, **2001**, *50* (2), p. 95-115.
- [51] J. G. Sodroski. HIV-1 entry inhibitors in the side pocket. *Cell (Cambridge, Mass.)*, **1999**, *99* (3), p. 243-246.
- [52] R. Wyatt, J. Sodroski. The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens, and immunogens. *Science (Washington, D. C.)*, **1998**, *280* (5371), p. 1884-1888.
- [53] S. Xiang, A. Finzi, B. Pacheco, K. Alexander, W. Yuan, C. Rizzuto, C. Huang, P. D. Kwong, J. Sodroski. A V3 loop-dependent gp120 element disrupted by CD4 binding stabilizes the human immunodeficiency virus envelope glycoprotein trimer. *J. Virol.*, **2010**, *84* (7), p. 3147-3161.
- [54] A. Finzi, S. Xiang, B. Pacheco, L. Wang, J. Haight, A. Kassa, B. Danek, M. Pancera, P. D. Kwong, J. Sodroski. Topological layers in the HIV-1 gp120 inner domain regulate gp41 interaction and CD4-triggered conformational transitions. *Mol. Cell*, **2010**, *37* (5), p. 656-667.
- [55] J. C. Tilton, R. W. Doms. Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection. *Antiviral Res.*, **2010**, *85* (1), p. 91-100.
- [56] G. J. Bridger, R. T. Skerlj, P. E. Hernandez-Abad, D. E. Bogucki, Z. Wang, Y. Zhou, S. Nan, E. M. Boehringer, T. Wilson, J. Crawford, M. Metz, S. Hatse, K. Princen, E. De Clercq, D. Schols. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Azamacrocyclic C-X-C Chemokine Receptor 4 Antagonists: Analogues Containing a Single Azamacrocyclic Ring are Potent Inhibitors of T-Cell Tropic (X4) HIV-1 Replication. *J. Med. Chem.*, **2010**, *53* (3), p. 1250-1260.
- [57] R. T. Skerlj, G. J. Bridger, A. Kaller. Discovery of Novel Small Molecule Orally Bioavailable C-X-C Chemokine Receptor 4 Antagonists That Are Potent Inhibitors of T-Tropic (X4) HIV-1 Replication. *J. Med. Chem.*, **2010**, *53* (8), p. 3376-3388.
- [58] A. Bukrinskaya, B. Brichacek, A. Mann, M. Stevenson. Establishment of a functional human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcription complex involves the cytoskeleton. *J. Exp. Med.*, **1998**, *188* (11), p. 2113-2125.
- [59] Y. Hsiou, J. Ding, K. Das, A. D. Clark Jr., S. H. Hughes, E. Arnold. Structure of unliganded HIV-1 reverse transcriptase at 2.7 Å resolution: implications of conformational changes for polymerization and inhibition mechanisms. *Structure (London)*, **1996**, *4* (7), p. 853-860.
- [60] R. Garg, S. P. Gupta, H. Gao, M. S. Babu, A. K. Debnath, C. Hansch. Comparative Quantitative Structure-Activity Relationship Studies on Anti-HIV Drugs. *Chem. Rev. (Washington, D. C.)*, **1999**, *99* (12), p. 3525-3601.

- [61] C. Sahlberg, X. Zhou. Development of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors for anti-HIV therapy. *Anti-Infect. Agents Med. Chem.*, **2008**, 7 (2), p. 101-117.
- [62] S. Doublié, M. R. Sawaya, T. Ellenberger. An open and closed case for all polymerases. *Structure (London)*, **1999**, 7 (2), p. R31-R35.
- [63] C. Isel, E. Westhof, C. Massire, S. F. J. Le Grice, B. Ehresmann, C. Ehresmann, R. Marquet. Structural basis for the specificity of the initiation of HIV-1 reverse transcription. *Embo J.*, **1999**, 18 (4), p. 1038-1048.
- [64] M. D. Miller, C. M. Farnet, F. D. Bushman. Human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes: studies of organization and composition. *J. Virol.*, **1997**, 71 (7), p. 5382-5390.
- [65] S. Popov, M. Rexach, L. Ratner, G. Blobel, M. Bukrinsky. Viral protein R regulates docking of the HIV-1 preintegration complex to the nuclear pore complex. *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273 (21), p. 13347-13352.
- [66] Y. Jenkins, M. McEntee, K. Weis, W. C. Greene. Characterization of HIV-1 Vpr nuclear import: analysis of signals and pathways. *J. Cell Biol.*, **1998**, 143 (4), p. 875-885.
- [67] J. López-Aldeguer, K. Aguirrebengoa, J. R. Arribas, J. A. Esté, J. M. Kindelán. Nuevas dianas y nuevos fármacos en el tratamiento de la infección por VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, **2005**, 23 Suppl 2, p. 25-32.
- [68] W. C. Greene, Molecular insights into VIH biology. **2006**. <http://hivinsite.ucsf.edu/InSite?page=kb-02-01-01> (data consulta 12/05/2010).
- [69] A. Jordan, D. Bisgrove, E. Verdin. HIV reproducibly establishes a latent infection after acute infection of T cells in vitro. *Embo J.*, **2003**, 22 (8), p. 1868-1877.
- [70] S. Crawford, S. P. Goff. A deletion mutation in the 5' part of the pol gene of Moloney murine leukemia virus blocks proteolytic processing of the gag and pol polyproteins. *J. Virol.*, **1985**, 53 (3), p. 899-907.
- [71] N. E. Kohl, E. A. Emini, W. A. Schleif, L. J. Davis, J. C. Heimbach, R. A. F. Dixon, E. M. Scolnick, I. S. Sigal. Active human immunodeficiency virus protease is required for viral infectivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1988**, 85 (13), p. 4686-4690.
- [72] United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), World Health Organization (WHO), AIDS epidemic update 09. **Novembre 2009**, [http://data.unaids.org/pub/Report/2009/JC1700\\_Epi\\_Update\\_2009\\_en.pdf](http://data.unaids.org/pub/Report/2009/JC1700_Epi_Update_2009_en.pdf) (data consulta 10/05/2010).
- [73] S. Broder. The development of antiretroviral therapy and its impact on the HIV-1/AIDS pandemic. *Antiviral Res.*, **2010**, 85 (1), p. 1-18.
- [74] A. B. Williams. New horizons: antiretroviral therapy in 1997. *J Assoc Nurses AIDS Care*, **1997**, 8 (4), p. 26-38.
- [75] H. Mitsuya, K. J. Weinhold, P. A. Furman, M. H. St. Clair, S. N. Lehrman, R. C. Gallo, D. Bolognesi, D. W. Barry, S. Broder. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1985**, 82 (20), p. 7096-7100.

- [76] U.S. Food and Drug Administration, Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection **2010** <http://www.fda.gov/forconsumers/byaudience/forpatientadvocates/hivandaidsactivities/ucm118915.htm> (data consulta 3/05/2010).
- [77] K. Y. Hostetler, D. A. Carson, D. D. Richman. Phosphatidylazidothymidine. Mechanism of antiretroviral action in CEM cells. *J. Biol. Chem.*, **1991**, 266 (18), p. 11714-11717.
- [78] S. Gupta, M. Singh, A. K. Madan. Predicting anti-HIV activity: computational approach using a novel topological descriptor. *J. Comput.-Aided Mol. Des.*, **2001**, 15 (7), p. 671-678.
- [79] D. L. Romero, M. Busso, C. K. Tan, F. Reusser, J. R. Palmer, S. M. Poppe, P. A. Aristoff, K. M. Downey, A. G. So, *et al.* Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors that potently and specifically block human immunodeficiency virus type 1 replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1991**, 88 (19), p. 8806-8810.
- [80] M. de Béthune. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), their discovery, development, and use in the treatment of HIV-1 infection: A review of the last 20 years (1989-2009). *Antiviral Res.*, **2010**, 85 (1), p. 75-90.
- [81] C. Tantillo, J. Ding, A. Jacobo-Molina, R. G. Nanni, P. L. Boyer, S. H. Hughes, R. Pauwels, K. Andries, P. A. J. Janssen, E. Arnold. Locations of anti-AIDS drug binding sites and resistance mutations in the three-dimensional structure of HIV-1 reverse transcriptase: implications for mechanisms of drug inhibition and resistance. *J. Mol. Biol.*, **1994**, 243 (3), p. 369-387.
- [82] E. De Clercq. Emerging anti-HIV drugs. *Expert Opin. Emerging Drugs*, **2005**, 10 (2), p. 241-274.
- [83] E. De Clercq. New Approaches toward Anti-HIV Chemotherapy. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48 (5), p. 1297-1313.
- [84] H. Drechsler, W. G. Powderly. Switching effective antiretroviral therapy: a review. *Clin. Infect. Dis.*, **2002**, 35 (10), p. 1219-1230.
- [85] P. W. Hruz, H. Murata, M. Mueckler. Adverse metabolic consequences of HIV protease inhibitor therapy: the search for a central mechanism. *Am. J. Physiol.*, **2001**, 280 (4, Pt. 1), p. E549-E553.
- [86] M. Egger, C. Junghans, N. Friis-Moller, J. D. Lundgren. Highly active antiretroviral therapy and coronary heart disease: the need for perspective. *AIDS (London, U. K.)*, **2001**, 15 (Suppl. 5), p. S193-S201.
- [87] J. S. Cervia, M. A. Smith. Enfuvirtide (T-20): a novel human immunodeficiency virus type 1 fusion inhibitor. *Clin. Infect. Dis.*, **2003**, 37 (8), p. 1102-1106.
- [88] S. Liu, H. Lu, J. Niu, Y. Xu, S. Wu, S. Jiang. Different from the HIV Fusion Inhibitor C34, the Anti-HIV Drug Fuzeon (T-20) Inhibits HIV-1 Entry by Targeting Multiple Sites in gp41 and gp120. *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280 (12), p. 11259-11273.
- [89] G. Moyle. Stopping HIV fusion with enfuvirtide: the first step to extracellular HAART. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2003**, 51 (2), p. 213-217.
- [90] S. Veiga, S. Henriques, N. C. Santos, M. Castanho. Putative role of membranes in the HIV fusion inhibitor enfuvirtide mode of action at the molecular level. *Biochem. J.*, **2004**, 377 (1), p. 107-110.

- [91] P. Dorr, M. Westby, S. Dobbs. Maraviroc (UK-427,857), a potent, orally bioavailable, and selective small-molecule inhibitor of chemokine receptor CCR5 with broad-spectrum anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2005**, 49 (11), p. 4721-4732.
- [92] D. K. Walker, S. Abel, P. Comby, G. J. Muirhead, A. N. R. Nedderman, D. A. Smith. Species differences in the disposition of the CCR5 antagonist, UK-427,857, a new potential treatment for HIV. *Drug Metab. Dispos.*, **2005**, 33 (4), p. 587-595.
- [93] V. Summa, A. Petrocchi, F. Bonelli,. Discovery of Raltegravir, a Potent, Selective Orally Bioavailable HIV-Integrase Inhibitor for the Treatment of HIV-AIDS Infection. *J. Med. Chem.*, **2008**, 51 (18), p. 5843-5855.
- [94] X. Zhang, M. Sorensen, M. Fung, R. T. Schooley. Synergistic in vitro antiretroviral activity of a humanized monoclonal anti-CD4 antibody (TNX-355) and enfuvirtide (T-20). *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2006**, 50 (6), p. 2231-2233.
- [95] D. R. Kuritzkes, J. Jacobson, W. G. Powderly, E. Godofsky, E. DeJesus, F. Haas, K. A. Reimann, J. L. Larson, P. O. Yarbough, V. Curt, W. R. Shanahan Jr. Antiretroviral activity of the anti-CD4 monoclonal antibody TNX-355 in patients infected with HIV type 1. *J. Infect. Dis.*, **2004**, 189 (2), p. 286-291.
- [96] J. M. Jacobson, M. S. Saag, M. A. Thompson,. Antiviral activity of single-dose PRO 140, a CCR5 monoclonal antibody, in HIV-infected adults. *J Infect Dis*, **2008**, 198 (9), p. 1345-1352.
- [97] A. Trkola, T. J. Ketas, K. A. Nagashima, L. Zhao, T. Cilliers, L. Morris, J. P. Moore, P. J. Maddon, W. C. Olson. Potent, broad-spectrum inhibition of human immunodeficiency virus type 1 by the CCR5 monoclonal antibody PRO 140. *J. Virol.*, **2001**, 75 (2), p. 579-588.
- [98] N. D. Stone, S. B. Dunaway, C. Flexner,. Multiple-dose escalation study of the safety, pharmacokinetics, and biologic activity of oral AMD070, a selective CXCR4 receptor inhibitor, in human subjects. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2007**, 51 (7), p. 2351-2358.
- [99] J. B. Crawford, G. Chen, D. Gauthier, T. Wilson, B. Carpenter, I. R. Baird, E. McEachern, A. Kaller, C. Harwig, B. Atsma, R. T. Skerlj, G. J. Bridger. AMD070, a CXCR4 Chemokine Receptor Antagonist: Practical Large-Scale Laboratory Synthesis. *Org. Process Res. Dev.*, **2008**, 12 (5), p. 823-830.
- [100] K. Shimura, E. Kodama, Y. Sakagami, Y. Matsuzaki, W. Watanabe, K. Yamataka, Y. Watanabe, Y. Ohata, S. Doi, M. Sato, M. Kano, S. Ikeda, M. Matsuoka. Broad antiretroviral activity and resistance profile of the novel human immunodeficiency virus integrase inhibitor elvitegravir (JTK-303/GS-9137). *J. Virol.*, **2008**, 82 (2), p. 764-774.
- [101] D. Ripamonti, F. Maggiolo. Rilpivirine, a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor for the treatment of HIV infection. *Curr. Opin. Invest. Drugs (Thomson Sci.)*, **2008**, 9 (8), p. 899-912.
- [102] P. A. J. Janssen, P. J. Lewi, E. Arnold. In Search of a Novel Anti-HIV Drug: Multidisciplinary Coordination in the Discovery of 4-[[4-[[4-[(1E)-2-Cyanoethenyl]-2,6-dimethylphenyl]amino]-2-pyrimidinyl]amino]benzotrile (R278474, Rilpivirine). *J. Med. Chem.*, **2005**, 48 (6), p. 1901-1909.
- [103] R. Rossotti, S. Rusconi. Efficacy and resistance of recently developed non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors for HIV-1. *HIV Ther.*, **2009**, 3 (1), p. 63-77.

- [104] T. Lin, M. Luo, M. Liu, Y. Zhu, E. Gullen, G. E. Dutschman, Y. Cheng. Design and Synthesis of 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydro- $\beta$ -L-cytidine ( $\beta$ -L-d4C) and 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydro- $\beta$ -L-5-fluorocytidine ( $\beta$ -L-Fd4C), Two Exceptionally Potent Inhibitors of Human Hepatitis B Virus (HBV) and Potent Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus (HIV) in Vitro. *J. Med. Chem.*, **1996**, 39 (9), p. 1757-1759.
- [105] J. Shi, J. J. McAtee, S. S. Wirtz, P. Tharnish, A. Juodawlkis, D. C. Liotta, R. F. Schinazi. Synthesis and Biological Evaluation of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxy-5- fluorocytidine (D4FC) Analogs: Discovery of Carbocyclic Nucleoside Triphosphates with Potent Inhibitory Activity against HIV-1 Reverse Transcriptase. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42 (5), p. 859-867.
- [106] C. Herzmann, K. Arasteh, R. L. Murphy, H. Schulbin, P. Kreckel, D. Drauz, R. F. Schinazi, A. Beard, L. Cartee, M. J. Otto. Safety, pharmacokinetics, and efficacy of (+/-)- $\beta$ -2',3'-dideoxy-5-fluoro-3'-thiacytidine with efavirenz and stavudine in antiretroviral-naive human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2005**, 49 (7), p. 2828-2833.
- [107] A. C. Venhoff, D. Lebrecht, F. U. Reuss, B. Heckl-Oestreicher, R. Wehr, U. A. Walker, N. Venhoff. Mitochondrial DNA depletion in rat liver induced by fosalvudine tidoxil, a novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor prodrug. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2009**, 53 (7), p. 2748-2751.
- [108] S. J. Hurwitz, G. Asif, E. Fromentin, P. M. Tharnish, R. F. Schinazi. Lack of pharmacokinetic interaction between amdoxovir and reduced- and standard-dose zidovudine in HIV-1-infected individuals. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2010**, 54 (3), p. 1248-1255.
- [109] K. S. Harris, W. Brabant, S. Styrchak, A. Gall, R. Daifuku. KP-1212/1461, a nucleoside designed for the treatment of HIV by viral mutagenesis. *Antiviral Res.*, **2005**, 67 (1), p. 1-9.
- [110] Z. Gu, B. Allard, J. M. de Muys, J. Lippens, R. F. Rando, N. Nguyen-Ba, C. Ren, P. McKenna, D. L. Taylor, R. C. Bethell. In vitro antiretroviral activity and in vitro toxicity profile of SPD754, a new deoxycytidine nucleoside reverse transcriptase inhibitor for treatment of human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2006**, 50 (2), p. 625-631.
- [111] R. C. Bethell, Y. S. Lie, N. T. Parkin. In vitro activity of SPD754, a new deoxycytidine nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI), against 215 HIV-1 isolates resistant to other NRTIs. *Antiviral Chem. Chemother.*, **2005**, 16 (5), p. 295-302.
- [112] M. A. Wainberg, P. Cahn, R. C. Bethell, J. Sawyer, S. Cox. Apricitabine: a novel deoxycytidine analogue nucleoside reverse transcriptase inhibitor for the treatment of nucleoside-resistant HIV infection. *Antiviral Chem. Chemother.*, **2007**, 18 (2), p. 61-70.
- [113] C. S. Adamson, M. Sakalian, K. Salzwedel, E. O. Freed. Polymorphisms in Gag spacer peptide 1 confer varying levels of resistance to the HIV-1 maturation inhibitor bevirimat. *Retrovirology*, **2010**, 7, p. No pp. given.
- [114] E. De Clercq, N. Yamamoto, R. Pauwels, M. Baba, D. Schols, H. Nakashima, J. Balzarini, Z. Debyser, B. A. Murrer, et al. Potent and selective inhibition of human immunodeficiency virus (HIV)-1 and HIV-2 replication by a class of bicyclams interacting with a viral uncoating event. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1992**, 89 (12), p. 5286-5290.

- [115] E. De Clercq, N. Yamamoto, R. Pauwels, J. Balzarini, M. Witvrouw, K. De Vreese, Z. Debyser, B. Rosenwirth, P. Peichl, et al. Highly potent and selective inhibition of human immunodeficiency virus by the bicyclam derivative JM3100. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1994**, 38 (4), p. 668-674.
- [116] G. A. Donzella, D. Schols, S. W. Lin, J. A. Esté, K. A. Nagashima, P. J. Maddon, G. P. Allaway, T. P. Sakmar, G. Henson, E. De Clercq, J. P. Moore. AMD3100, a small molecule inhibitor of HIV-1 entry via the CXCR4 co-receptor. *Nat. Med. (N. Y.)*, **1998**, 4 (1), p. 72-77.
- [117] D. Schols, J. A. Esté, G. Henson, E. De Clercq. Bicyclams, a class of potent anti-HIV agents, are targeted at the HIV coreceptor Fusin/CXCR-4. *Antiviral Res.*, **1997**, 35 (3), p. 147-156.
- [118] D. Schols, S. Struyf, J. Van Damme, J. A. Esté, G. Henson, E. De Clercq. Inhibition of T-tropic HIV strains by selective antagonization of the chemokine receptor CXCR4. *J. Exp. Med.*, **1997**, 186 (8), p. 1383-1388.
- [119] C. Dealwis, E. J. Fernandez, D. A. Thompson, R. J. Simon, M. A. Siani, E. Lolis. Crystal structure of chemically synthesized [N33A] stromal cell-derived factor 1 $\alpha$ , a potent ligand for the HIV-1 "fusin" coreceptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, 95 (12), p. 6941-6946.
- [120] L. O. Gerlach, R. T. Skerlj, G. J. Bridger, T. W. Schwartz. Molecular interactions of cyclam and bicyclam non-peptide antagonists with the CXCR4 chemokine receptor. *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276 (17), p. 14153-14160.
- [121] S. Hatse, K. Princen, L. Gerlach, G. Bridger, G. Henson, E. De Clercq, T. W. Schwartz, D. Schols. Mutation of Asp171 and Asp262 of the chemokine receptor CXCR4 impairs its coreceptor function for human immunodeficiency virus-1 entry and abrogates the antagonistic activity of AMD3100. *Mol. Pharmacol.*, **2001**, 60 (1), p. 164-173.
- [122] M. M. Rosenkilde, L. Gerlach, J. S. Jakobsen, R. T. Skerlj, G. J. Bridger, T. W. Schwartz. Molecular Mechanism of AMD3100 Antagonism in the CXCR4 Receptor. Transfer of Binding Site to the CXCR3 Receptor. *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279 (4), p. 3033-3041.
- [123] M. M. Rosenkilde, L. Gerlach, S. Hatse, R. T. Skerlj, D. Schols, G. J. Bridger, T. W. Schwartz. Molecular Mechanism of Action of Monocyclam Versus Bicyclam Non-peptide Antagonists in the CXCR4 Chemokine Receptor. *J. Biol. Chem.*, **2007**, 282 (37), p. 27354-27365.
- [124] G. J. Bridger, R. T. Skerlj, S. Padmanabhan, S. A. Martellucci, G. W. Henson, M. J. Abrams, H. C. Joao, M. Witvrouw, K. D. Vreese, et al. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Phenylenebis(methylene)-Linked Bis-tetraazamacrocycles That Inhibit Human Immunodeficiency Virus Replication. 2. Effect of Heteroaromatic Linkers on the Activity of Bicyclams. *J. Med. Chem.*, **1996**, 39 (1), p. 109-119.
- [125] G. J. Bridger, R. T. Skerlj, D. Thornton, S. Padmanabhan, S. A. Martellucci, G. W. Henson, M. J. Abrams, N. Yamamoto, K. D. Vreese, et al. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Phenylenebis(methylene)-Linked Bis-Tetraazamacrocycles That Inhibit HIV Replication. Effects of Macrocyclic Ring Size and Substituents on the Aromatic Linker. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38 (2), p. 366-378.



- [126] G. J. Bridger, R. T. Skerlj, S. Padmanabhan, S. A. Martellucci, G. W. Henson, S. Struyf, M. Witvrouw, D. Schols, E. De Clercq. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Phenylenebis(methylene)- Linked Bis-azamacrocycles That Inhibit HIV-1 and HIV-2 Replication by Antagonism of the Chemokine Receptor CXCR4. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42 (19), p. 3971-3981.
- [127] S. Hatse, K. Princen, E. De Clercq, M. M. Rosenkilde, T. W. Schwartz, P. E. Hernandez-Abad, R. T. Skerlj, G. J. Bridger, D. Schols. AMD3465, a monomacrocyclic CXCR4 antagonist and potent HIV entry inhibitor. *Biochem. Pharmacol.*, **2005**, 70 (5), p. 752-761.
- [128] G. K. Reddy, J. Crawford, V. K. Jain. The role of plerixafor (AMD3100) in mobilizing hematopoietic progenitor cells in patients with hematologic malignancies. *Supportive Cancer Ther.*, **2006**, 3 (2), p. 73-76.
- [129] J. Ren, R. Esnouf, A. Hopkins, C. Ross, Y. Jones, D. Stammers, D. Stuart. The structure of HIV-1 reverse transcriptase complexed with 9-chloro-TIBO: lessons for inhibitor design. *Structure (London)*, **1995**, 3 (9), p. 915-926.
- [130] M. B. Kroeger, C. A. Rouzer, L. A. Taneyhill, N. A. Smith, S. H. Hughes, P. L. Boyer, P. A. J. Janssen, H. Moereels, L. Koymans, et al. Molecular modeling studies of HIV-1 reverse transcriptase nonnucleoside inhibitors: total energy of complexation as a predictor of drug placement and activity. *Protein Sci.*, **1995**, 4 (10), p. 2203-2222.
- [131] M. Baba, H. Tanaka, E. De Clercq, R. Pauwels, J. Balzarini, D. Schols, H. Nakashima, C. F. Perno, R. T. Walker, T. Miyasaka. Highly specific inhibition of human immunodeficiency virus type 1 by a novel 6-substituted acyclouridine derivative. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1989**, 165 (3), p. 1375-1381.
- [132] T. Miyasaka, H. Tanaka, M. Baba, H. Hayakawa, R. T. Walker, J. Balzarini, E. De Clercq. A novel lead for specific anti-HIV-1 agents: 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32 (12), p. 2507-2509.
- [133] E. De Clercq. Highlights in the Discovery of Antiviral Drugs: A Personal Retrospective. *J. Med. Chem.*, **2010**, 53 (4), p. 1438-1450.
- [134] S. Hannongbua, K. Nivesanond, L. Lawtrakul, P. Pungpo, P. Wolschann. 3D-Quantitative Structure-Activity Relationships of HEPT Derivatives as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors, Based on Ab Initio Calculations. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2001**, 41 (3), p. 848-855.
- [135] A. L. Hopkins, J. Ren, R. M. Esnouf, B. E. Willcox, E. Y. Jones, C. Ross, T. Miyasaka, R. T. Walker, H. Tanaka, et al. Complexes of HIV-1 Reverse Transcriptase with Inhibitors of the HEPT Series Reveal Conformational Changes Relevant to the Design of Potent Non-Nucleoside Inhibitors. *J. Med. Chem.*, **1996**, 39 (8), p. 1589-1600.
- [136] R. C. Rizzo, J. Tirado-Rives, W. L. Jorgensen. Estimation of binding affinities for HEPT and nevirapine analogues with HIV-1 reverse transcriptase via Monte Carlo simulations. *J. Med. Chem.*, **2001**, 44 (2), p. 145-154.
- [137] S. Pettersson, V. I. Pérez-Nueno, L. Ros-Blanco, R. Puig de La Bellacasa, M. O. Rabal, X. Batllori, B. Clotet, I. Clotet-Codina, M. Armand-Ugon, J. Esté, J. I. Borrell, J. Teixidó. Discovery of novel non-cyclam polynitrogenated CXCR4 coreceptor inhibitors. *ChemMedChem*, **2008**, 3 (10), p. 1549-1557.
- [138] S. Pettersson. Diseño, selección y síntesis de nuevos inhibidores de entrada del VIH. Tesi doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2009**.

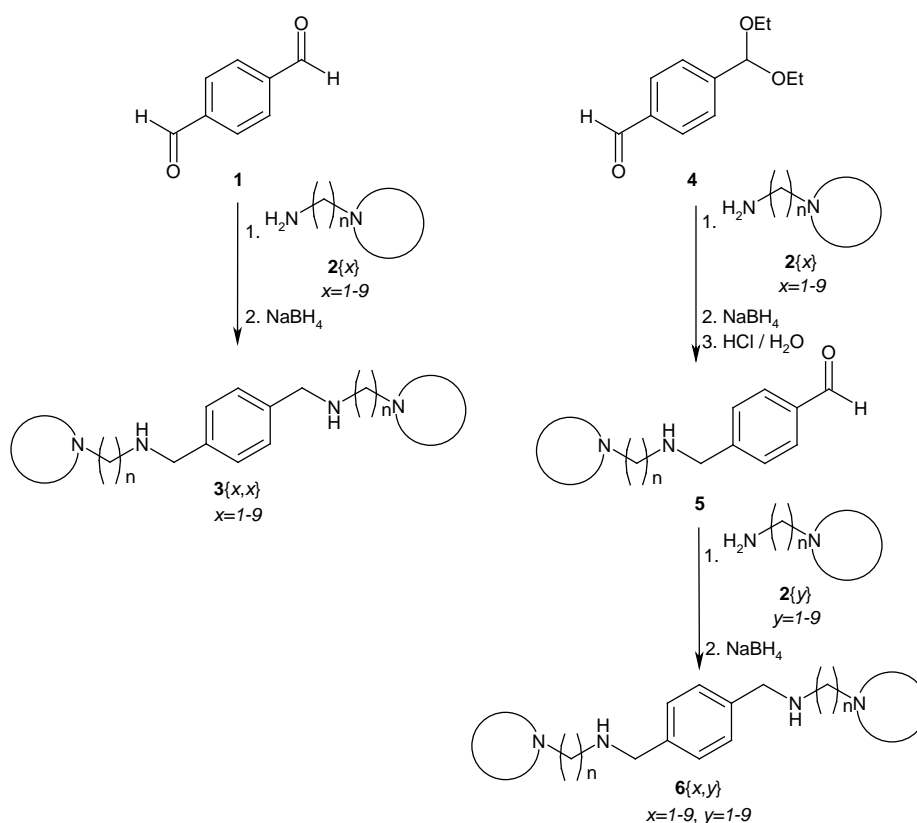
- [139] L. Ros. Síntesi de sistemes pirido[2,3-*d*]pirimidínics per acoblament dels precursors amb espaiadors *p*-xililènics, com a potencials inhibidors d'entrada del VIH. Treball final de carrera, IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2006**.
- [140] R. Pascual. Estudios sobre la metodología computacional para el diseño de bibliotecas combinatorias: Desarrollo del programa PRALINS y aplicaciones en el campo del VIH. Tesis doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2003**.
- [141] M. Mateu. Disseny computacional de biblioteques combinatòries d'anàlegs d'HEPT amb potencial activitat anti-VIH. Treball final de Carrera, IQS (Universitat Ramon LLull), Barcelona, **2002**.
- [142] V. I. Pérez-Nueno. Herramientas de cribado virtual aplicadas a inhibidores de entrada del VIH. Diseño de nuevos compuestos anti-VIH. Tesis doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2009**.
- [143] M. O. Rabal. Herramientas de cribado virtual aplicadas a inhibidores de tirosina quinasas. Contribución al desarrollo del programa PRALINS para el diseño de quimiotecas combinatorias. Tesis doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2006**.
- [144] V. I. Perez-Nueno, D. W. Ritchie, O. Rabal, R. Pascual, J. I. Borrell, J. Teixido. Comparison of Ligand-Based and Receptor-Based Virtual Screening of HIV Entry Inhibitors for the CXCR4 and CCR5 Receptors Using 3D Ligand Shape Matching and Ligand-Receptor Docking. *J. Chem. Inf. Model.*, **2008**, *48* (3), p. 509-533.

# **Capítol 1: Síntesi d'inhibidors d'entrada**



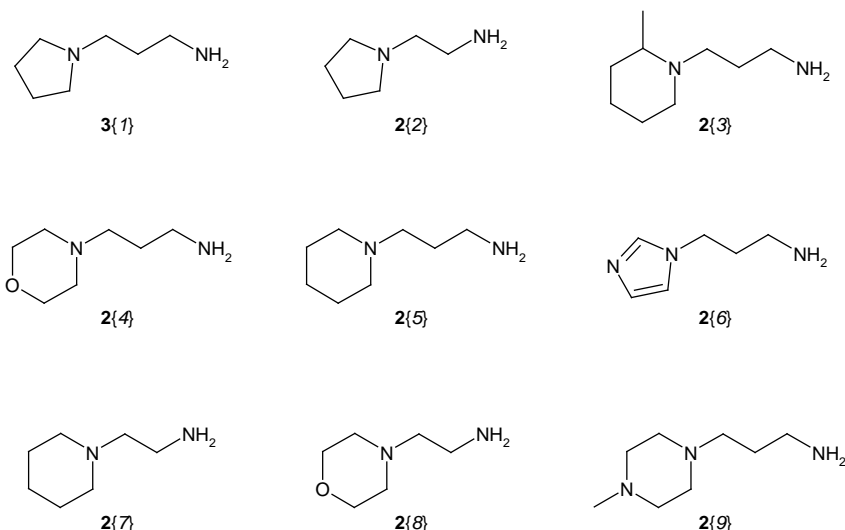
## 1.1. Antecedents a l'IQS

En la seva tesi doctoral, Sofia Pettersson va dissenyar i sintetitzar una quimioteca de compostos polinitrogenats inhibidors del coreceptor d'entrada CXCR4 en el GEM (Grup d'Enginyeria Molecular) de l'IQS. D'una banda es van sintetitzar estructures simètriques **3** mitjançant la reacció d'aminació reductora del tereftalaldehid (**1**) amb les amines **2** corresponents. D'altra banda les estructures asimètriques **6** es van obtenir via aminació reductora de 4-(dietoximetil)benzaldehid (**4**) amb la corresponent amina **2**, la desprotecció de l'acetal en medi àcid rendint l'intermedi aminobenzaldehid **5** i la posterior aminació reductora amb una altra amina **2** (Figura 1.1).<sup>[1]</sup>



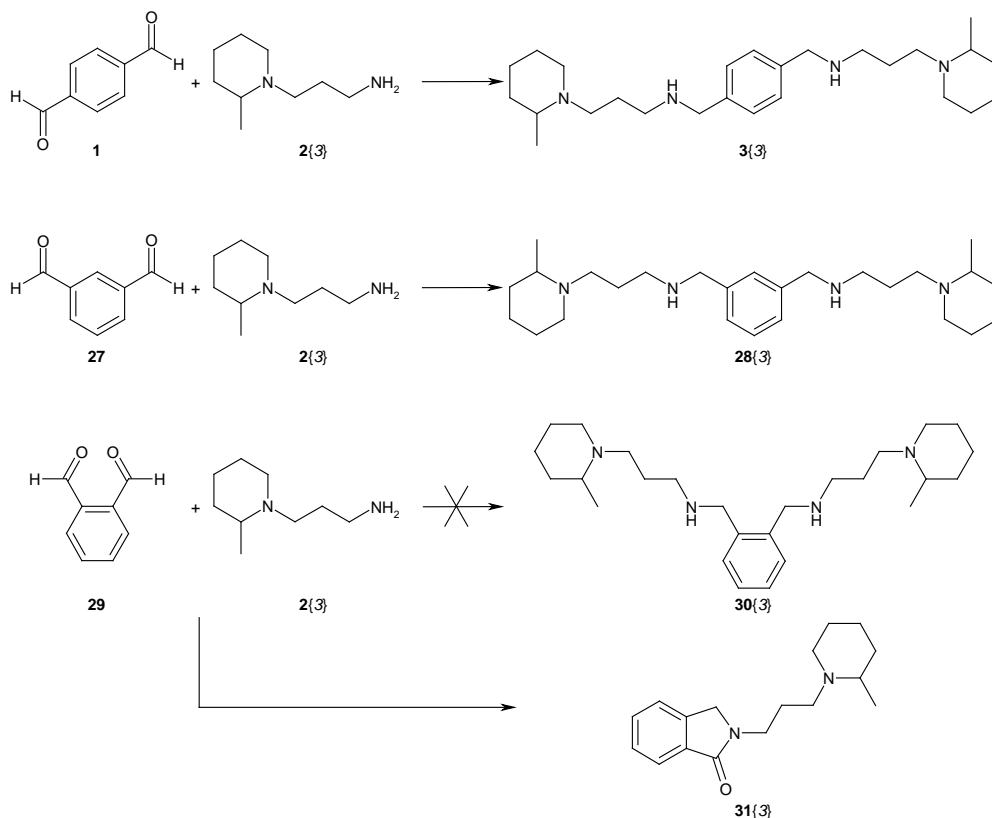
**Figura 1.1:** Ruta sintètica d'obtenció de poliamines simètriques **3**{*x*,*x*} i asimètriques **6**{*x*,*y*} sent *n* = 2-3

Les amines **2**, totes elles comercials, que es van usar tant en el treball de S. Pettersson com en el present treball són les representades en la Figura 1.2.



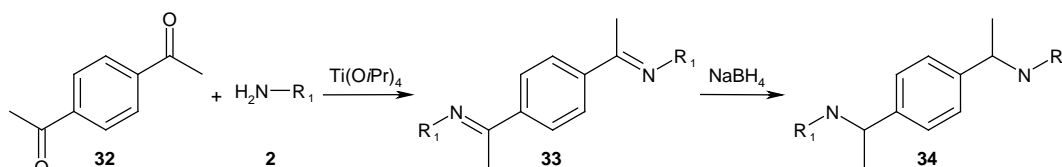
**Figura 1.2:** Les amines 2{x} emprades en el present treball

Provant de millorar els excel·lents valors d'activitat anti-VIH obtinguts per aquests compostos, es va estudiar com afectava la substitució *orto*, *meta* i *para* de l'espaiador xililènic. Tal com es mostra en la Figura 1.3, la substitució *orto* no es va poder obtenir degut a la formació de la ftalimida **31** en comptes del producte desitjat **30**, en canvi si que es van obtenir els compostos substituïts en *meta* **28** i *para* **3**.<sup>[2]</sup>



**Figura 1.3:** Substitucions en *orto* **3**{3}, *meta* **28**{3} i *para* **3**{3} de l'espaiador realitzades per. S. Pettersson<sup>[2]</sup>

D'altra banda, al GEM, Miriam Corredor va estudiar l'efecte d'un substituent metil en posició benzílica de l'espaiador. Per obtenir les poliamines metilades **34** es parteix de 1,4-diacetilbenzè (**32**) en comptes de tereftalaldehid (**1**). La menor reactivitat del grup funcional cetona respecte del grup aldehid i el major impediment estèric, derivat de la presència del metil, provoca la necessitat d'usar un àcid de Lewis (tetraisopropòxid de titani (IV)) com a catalitzador per afavorir la formació de l'intermedi imínic **33**. Posteriorment es redueix la imina amb borohidruir sòdic (Figura 1.4).<sup>[2,3]</sup>

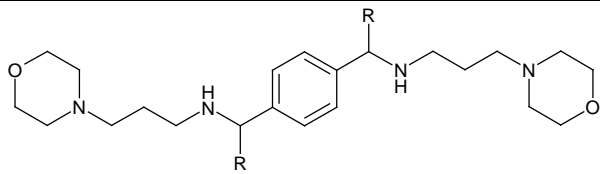
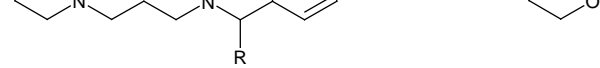


**Figura 1.4:** Ruta sintètica d'obtenció de poliamines **34** a partir d'1,4-diacetilbenzè (**32**) passant per l'intermedi imínic **33**

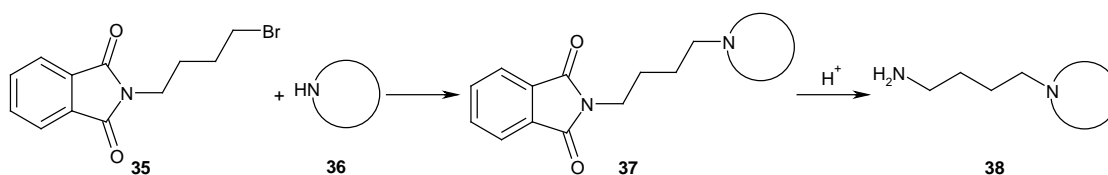
Analitzant els resultats d'activitat antiviral ( $\text{EC}_{50}$ ) i de citotoxicitat ( $\text{CC}_{50}$ ) presentats en la Taula 1.1, es pot observar que la presència del grup metil en posició benzílica de l'espaiador no provoca una variació de la citotoxicitat. En canvi no es pot treure cap conclusió clara dels resultats d'activitat anti-VIH ja que, en cada cas, la presència del metil en posició benzílica de l'espaiador afecta de manera diferent. En el cas dels derivats piperidínics **3{5}** i **34{5}**, el metil no afecta en l'activitat, sent el valor del mateix ordre de magnitud ( $\text{EC}_{50} = 0.1 \mu\text{g/mL}$ ). En canvi, la presència del metil afecta en els casos en que l'amina emprada és una pipercolina (**3{3}**, **34{3}**) o una morfolina (**3{4}**, **34{4}**). En el primer cas, la presència del metil provoca una disminució d'un ordre de magnitud en l'activitat passant de tenir una  $\text{EC}_{50}$  de  $0.008 \mu\text{g/mL}$  a  $0.08 \mu\text{g/mL}$ . Per contra, en el cas de la morfolina, la presència del metil provoca una activitat moderada del compost **34{4}** ( $\text{EC}_{50} = 7.7 \mu\text{g/mL}$ ) front el seu anàleg inactiu **3{4}**.

**Taula 1.1:** Activitat antiviral ( $\text{EC}_{50}$ ) i citotoxicitat ( $\text{CC}_{50}$ ) expressats en  $\mu\text{g/mL}$  dels compostos amb espaiador metilat i sense metilar en posició benzílica

Estructura	Nom	R	$\text{EC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\text{CC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
	<b>3{5}</b>	H	0.14	>25
	<b>34{5}</b>	Me	0.13	>25
	<b>3{3}</b>	H	0.008	>25
	<b>34{3}</b>	Me	0.08	>25

Estructura	Nom	R	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	CC <sub>50</sub> (µg/mL)
	<b>3{4}</b>	H	>25	>25
	<b>34{4}</b>	Me	7.7	>25

Fins al moment, només s'havien sintetitzat estructures amb cadenes etilèniques i trimetilèniques entre els dos nitrògens, és a dir quan  $n = 2$  i  $3$  respectivament (Figura 1.1). Miriam Corredor va estudiar l'efecte sobre l'activitat antiviral d'una cadena tetrametilènica ( $n = 4$ ). Degut a la falta de disponibilitat comercial de les amines necessàries per formar les poliamines **39**, es van haver de sintetitzar mitjançant la reacció entre la corresponent amina **36** i el bromo derivat **35** (ftalimida que permet introduir la cadena alquíllica desitjada) per obtenir l'intermedi **37**. Posteriorment, la hidròlisi àcida permet la desprotecció de la ftalimida i l'obtenció de l'amina **38** (Figura 1.5).<sup>[3]</sup>



**Figura 1.5:** Reacció d'obtenció d'amines **38** amb linker tetrametilènic

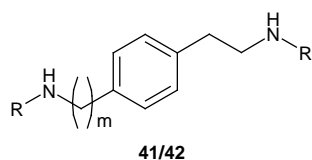
Analitzant les dades de la Taula 1.2 es pot observar com el fet d'afegir una baula de més en la cadena que uneix els dos nitrògens de l'amina no afecta a la citotoxicitat, essent tots els compostos no tòxics a una concentració de 25 µg/mL. En canvi, si que provoca una disminució de l'activitat anti-VIH en comparació amb els compostos amb una cadena trimetilènica. En el cas de que l'heterocicle de l'amina sigui una piperidina, la disminució d'activitat és petita observant-se un valor d'activitat del mateix ordre de magnitud ( $EC_{50} = 0.3$  µg/mL de **39{5}** front a  $EC_{50} = 0.1$  µg/mL de **3{5}**). En canvi, es perden dos ordres de magnitud en el cas de la pipercolina com amina heterocíclica ( $EC_{50} = 0.3$  µg/mL de **39{3}** front a  $EC_{50} = 0.008$  µg/mL de **3{3}** i  $EC_{50} = 1.8$  µg/mL de **40{3}** front a  $EC_{50} = 0.1$  µg/mL de **34{3}**) tal com mostra la Taula 1.2.



**Taula 1.2:** Activitat antiviral ( $EC_{50}$ ) i citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) expressats en  $\mu\text{g/mL}$  de compostos amb cadena trimetilènica i tetrametilènica

Estructura	Nom	n	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$CC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
	<b>3{5}</b>	3	0.14	>25
	<b>39{5}</b>	4	0.298	>25
	<b>3{3}</b>	3	0.008	>25
	<b>39{3}</b>	4	0.336	>25
	<b>34{3}</b>	3	0.08	>25
	<b>40{3}</b>	4	1.848	>25

A mode resum, el nostre grup ha modificat la distància entre nitrògens generant estructures amb cadenes etilèniques, trimetilèniques i tetrametilèniques. També s'ha derivatitzat la posició benzílica de l'espaiador. Per tant, en el present treball, i amb la idea de generar nous anàlegs es proposa augmentar en una baula la separació entre l'anell fenílic i el nitrogen en posició benzílica per tal d'obtenir estructures com la mostrada en la Figura 1.6. Aquestes estructures poden ser simètriques **41** si  $m = 2$  o asimètriques **42** si  $m = 1$ .



**Figura 1.6:** Estructura general **41/42** que es vol obtenir sent  $m = 1-2$

L'obtenció d'aquestes estructures es pot abordar mitjançant una aminació reductora similar a l'emprada per S. Pettersson.<sup>[1]</sup> La corresponent anàlisi retrosintètica es mostra a la Figura 1.7, on es transformen les amines **41** i **42** en imines **43** i **44** respectivament i, a continuació, es procedeix a la desconexió de l'enllaç imínic, obtenint-se els precursors 1,4-fenilendiactaldehid (**45**) i 4-(formilmetil)-benzaldehid (**46**). Degut a la falta de disponibilitat comercial d'ambdós reactius de partida, es desestima aquesta anàlisi retrosintètica.

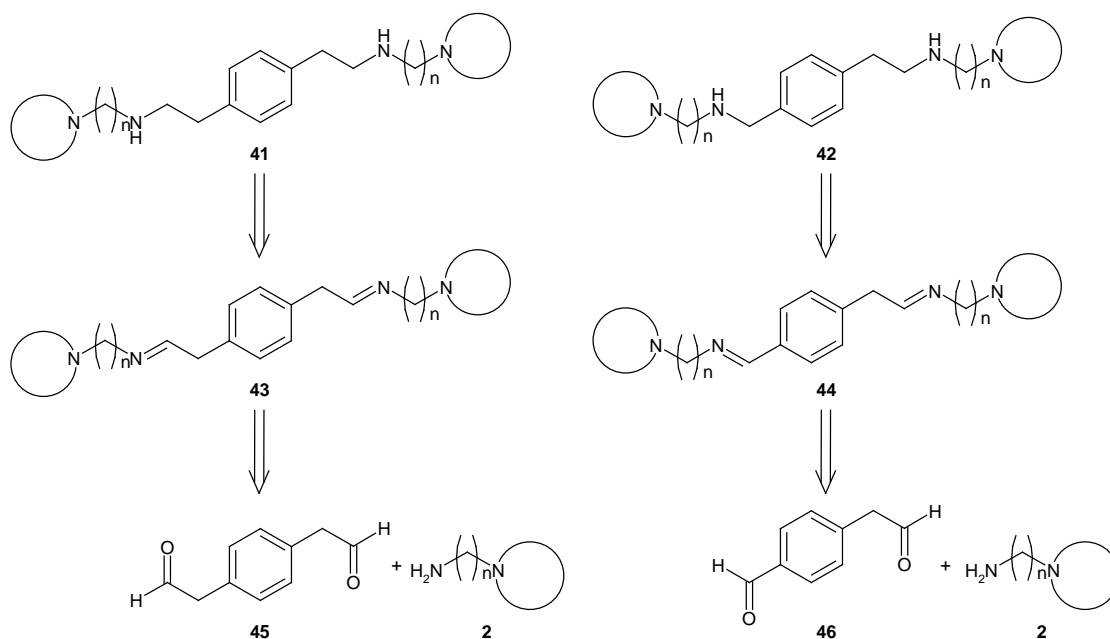
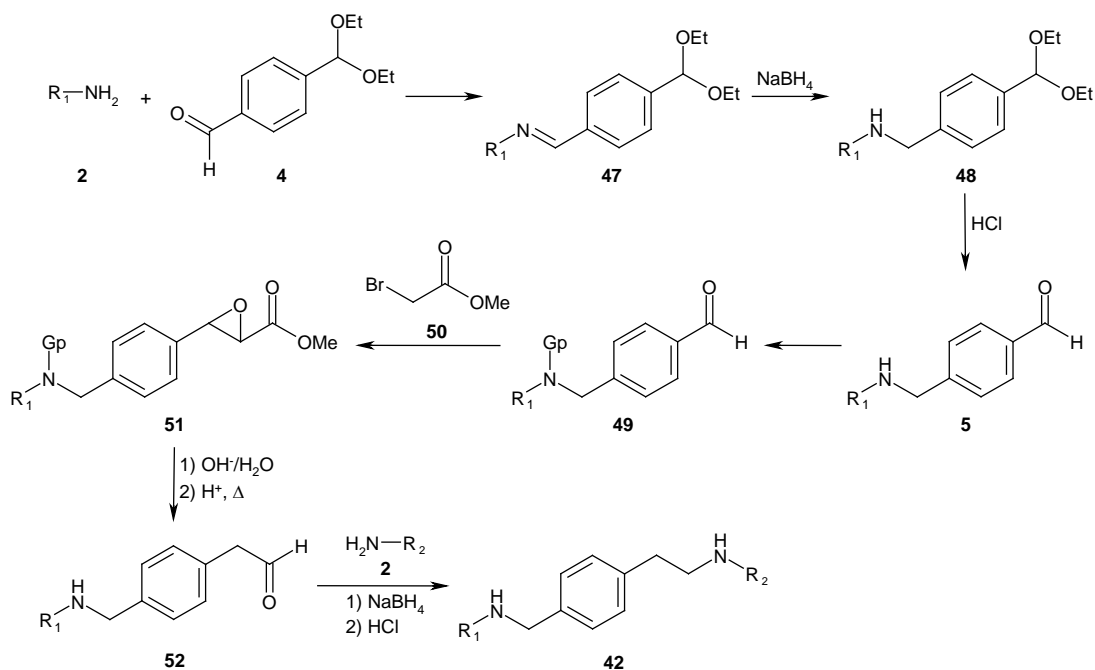


Figura 1.7: Anàlisi retrosintètica de les estructures simètriques **41** i asimètriques **42**

## 1.2. Estudi d'obtenció de tetraamines asimètriques **42**

### 1.2.1. Estudi d'obtenció d'estructures asimètriques **42** via reacció de Darzens

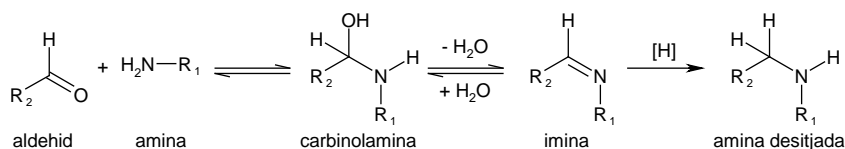
La primera via sintètica que s'assaja per tal d'augmentar en una baula la separació entre l'anell fenilènic i el nitrogen en posició benzílica d'un dels extrems del fenil es planteja en la Figura 1.8. L'aminació reductora del 4-(dietoximetil)benzaldehyd (**4**) amb una amina (**2**), seguida de la hidròlisi àcida de l'acetal de l'intermedi **48**, ha de permetre l'obtenció de l'aldehyd **5**. Posteriorment, prèvia protecció del grup amino de **5**, es faria reaccionar l'intermedi **49** amb un  $\alpha$ -bromoacetat (**50**) per obtenir l'epòxid intermedi **51** fruit de la reacció de Darzens. Finalment, després d'un tractament bàsic seguit d'un d'àcid, s'obtidria l'aldehyd **52** que s'acobllaria, per aminació reductora, amb una amina per obtenir el producte desitjat **42**.



**Figura 1.8:** Primera proposta de ruta sintètica d'obtenció d'amines asimètriques **42** via reacció de Darzens

### 1.2.1.1. Aminació reductora

Pel primer pas de síntesi, l'aminació reductora, s'empren les mateixes condicions de reacció que les descrites per S. Pettersson.<sup>[1]</sup> Es barregen en quantitat equimolar l'amina (**2**) i el 4-(dietoximetil)-benzaldehid (**4**) en metanol i en presència de sulfat sòdic anhidre com agent deshidratant. Primer es forma un intermedi carbinolamina entre l'amina primària i el grup aldehid que posteriorment deshidrata per formar la imina corresponent (Figura 1.9). Tot seguit s'afegeix borohidruir sòdic per tal de reduir el grup imina i acabar obtenint l'amina desitjada. Finalment, mitjançant un tractament àcid es desprotegeix el grup acetal de **29** rendint l'aldehid **6** (Figura 1.8). És important mencionar que la reacció de formació de la imina no es pot controlar per cromatografia de capa prima degut a la hidròlisi d'aquesta sobre superfícies com sílice o alumina, per tant la reacció es controla per <sup>1</sup>H-RMN.



**Figura 1.9:** Mecanisme de l'aminació reductora entre una aldehid i una amina primària

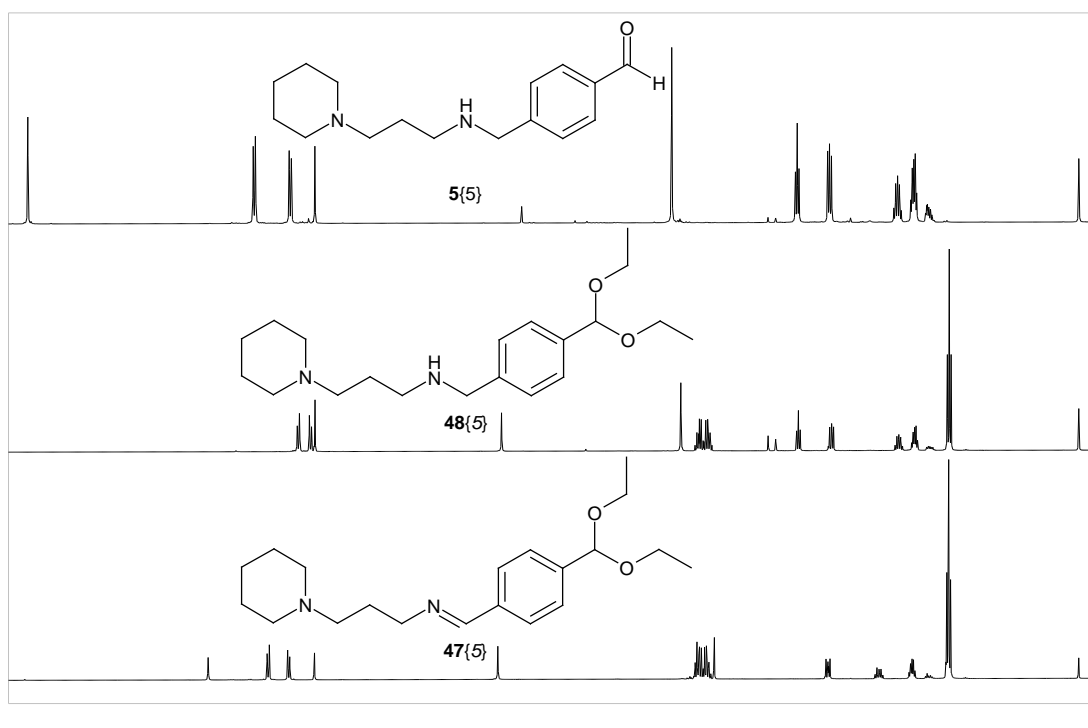
A mode d'exemple d'aquest primer pas d'aminació reductora i posterior hidròlisi del grup acetal, es mostren en la Figura 1.10 els espectres de <sup>1</sup>H-RMN d'un dels compostos

sintetitzats **6**{5} i dels seus intermedis. Les principals diferències que caracteritzen i permeten la identificació dels compostos son:

1) En el cas de la imina **47**{5} s'observa un senyal a 8.28 ppm corresponent al protó imínic i els senyals a 5.5, 3.5 i 1.25 ppm corresponents al grup acetal.

2) En l'espectre de l'acetal **48**{5} es pot observar que, a part de conservar els senyals corresponents al grup l'acetal descrits anteriorment, desapareix el senyal de la imina, indicant la reducció d'aquesta a amina. Aquesta reducció queda també demostrada per l'aparició d'un singlet a 3.8 ppm corresponent al metilè en posició benzílica.

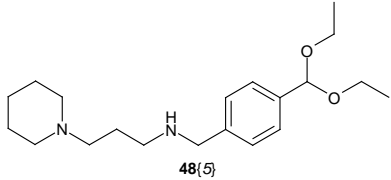
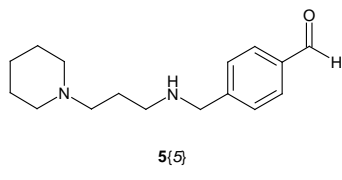
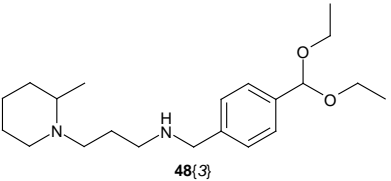
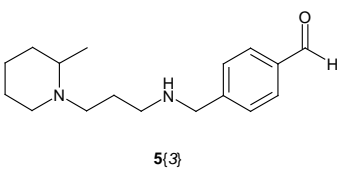
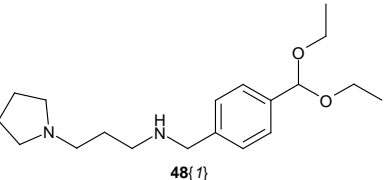
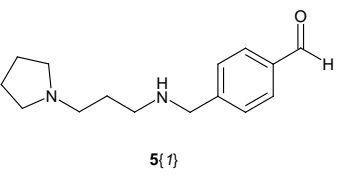
3) Finalment, en l'espectre de l'aldehid **5**{5} s'observa com desapareixen els senyals corresponents a l'acetal i n'apareix un de nou a 10 ppm corresponent al grup aldehid, cosa que certifica la desprotecció d'aquest i per tant l'obtenció del compost desitjat.



**Figura 1.10:** Espectres de <sup>1</sup>H RMN de la imina **47**{5}, de l'acetal **48**{5} i de l'aldehid **5**{5}

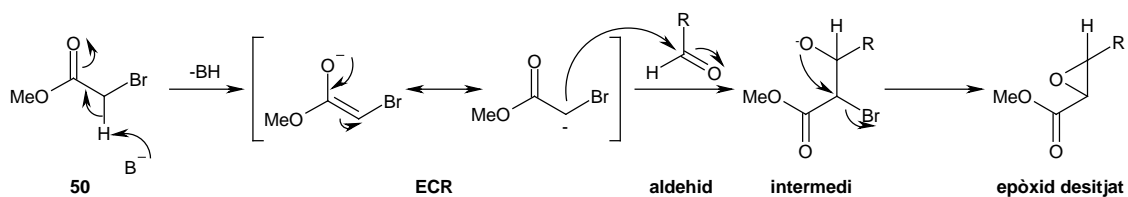
En la Taula 1.3 es presenten els compostos obtinguts mitjançant aquesta reacció i els seus respectius rendiments. Com es pot observar els rendiments son força bons en general. Tal com s'ha comentat anteriorment, donat que no es pot fer el seguiment de la reacció per cromatografia de capa prima, es treu mostra periòdicament per registrar un espectre de <sup>1</sup>H-RMN i controlar l'evolució de la reacció.

**Taula 1.3:** Acetals i aldehids sintetitzats amb els seus respectius rendiments. Entre parèntesi figuren els rendiments bibliogràfics.

Acetal 48	Rdt	Aldehid 5	Rdt
	88%		78%
	96% (98%) <sup>[2]</sup>		93% (98%) <sup>[2]</sup>
	83% (89%) <sup>[2]</sup>		94% (75%) <sup>[2]</sup>

### 1.2.2.2. Protecció de grup amino i reacció de Darzens

Per tal d'obtenir la funcionalitat epòxid resultant de la reacció de Darzens, s'ionitza en  $\alpha$  de carbonil amb una base i es produeix una condensació aldòlica seguida d'una substitució nucleòfila intramolecular tal com es mostra en la Figura 1.11. Donat que en la primera etapa de la reacció de Darzens intervé una base, si l'amina no estigués protegida es podria donar una reacció en competència que consistiria en una alquilació de l'esmentada amina amb el bromoacetat de metil (**50**) interferint i competint amb la reacció desitjada.<sup>[4]</sup>



**Figura 1.11:** Mecanisme de la reacció de Darzens

Per evitar que es doni aquesta possible alquilació, es decideix protegir l'amina. De grups protectors d'amina n'existeixen molts i amb característiques molt diferents. Els grups amino es protegeixen principalment formant un carbamat, una amida, un derivat heteroatòmic, una sulfonamida, arilant o alquilant.<sup>[5]</sup> Entre totes aquestes variants, es va escollir alguna que suportés les condicions de la reacció de Darzens, que no afectés a la resta de la molècula a

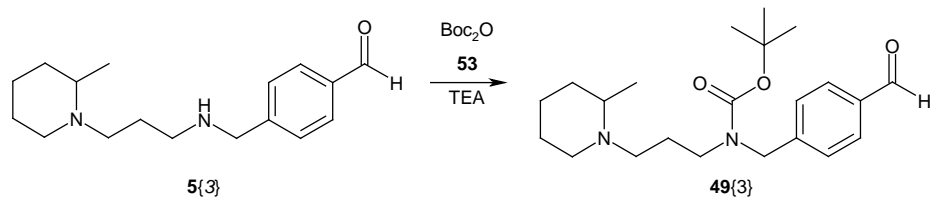
l'hora de desprotegir l'amina i, per descomptat, que tant la protecció com la desprotecció presentessin uns rendiments elevats.

Abans d'escollir el grup protector cal tenir en compte quines són les condicions de reacció de l'epoxidació de Darzens, ja que aquest haurà de mantenir-se inert durant l'esmentada reacció. D'entre els diferents exemples de reacció de Darzens trobades a la literatura, se'n seleccionen dos. La metodologia de Cannon *et al.* consistent en barrejar per cada mol de substrat (aldehid), 1.5 mol de cloroacetat en presència de metòxid sòdic (1.5 mol) en metanol.<sup>[6]</sup> En canvi, en la metodologia de Crouch *et al.* es barregen per cada mol d'aldehid, 1.2 mol de cloroacetat, 0.1 mol de clorur de benziltriethylamoni i 2.4 mol de potassa en THF.<sup>[4]</sup> Com es pot observar ambdues metodologies usen una base nucleòfila, per tant el grup protector haurà de ser resistent a aquestes condicions.

De les possibles proteccions d'amina exposades anteriorment, es descarta usar la benzilació (alquilació) degut a que la desprotecció del grup benzil es realitza via hidrogenació i la molècula de partida **5** ja conté una amina en posició benzílica. A l'hora de la desprotecció, es podrien fragmentar tant la unió entre el nitrogen amínic i el carboni benzílic del grup protector com l'enllaç entre el nitrogen amínic i el carboni benzílic del *linker*.

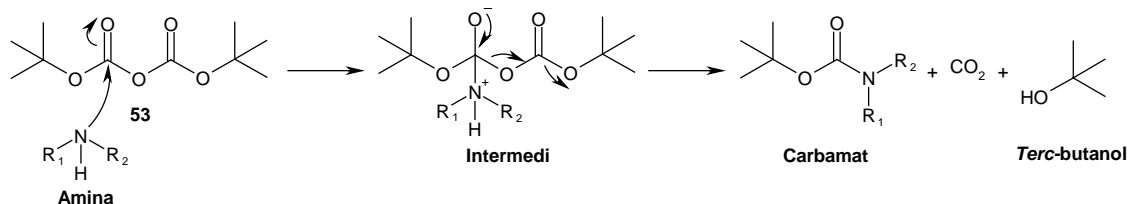
De la resta d'opcions, formar un carbamat (Boc, Troc, etc...), una amida (N-acetil, formil, etc...) o un derivat heteroatòmic (N-tosil, N-difenilfosfinil), tots vàlids en aquest cas, es va escollir la formació d'un carbamat per ser un dels mètodes més comuns, amb més bons rendiments tant en la etapa de protecció com la de desprotecció. D'entre els carbamats més comuns, es van descartar el carbobenziloxi (Cbz), degut a la seva eliminació per hidrogenació (podria presentar el mateix problema que el benzil), i el 9-fluorenilmetiloxicarbonil (Fmoc), per la inestabilitat en medi bàsic.<sup>[5]</sup> Finalment es va optar per protegir el grup amino amb els grups protectors Boc i Troc que es formen a partir de di-*terc*-butildicarbonat (Boc<sub>2</sub>O) (**53**) i tricloroetilcloroformat (Troc-Cl) (**54**), respectivament.

En el cas del Boc es va emprar la metodologia descrita per Jian *et al.* on es barregen per cada mol de compost **5{3}**, 1.2 mol de Boc<sub>2</sub>O (**53**) i 1.2 mol de trietilamina (TEA) en clorur de metilè a temperatura ambient (Figura 1.12).<sup>[7]</sup> Després del corresponent *work up* (rentats) es va obtenir directament el producte protegit **49{3}** amb elevada puresa i rendiment quantitatiu. La presència d'aquest carbamat provoca la restricció de rotació d'enllaços de la molècula, la qual cosa causa que els senyals siguin més amples en <sup>1</sup>H-RMN i el desdoblament d'algun dels senyals en l'espectre de <sup>13</sup>C-RMN.



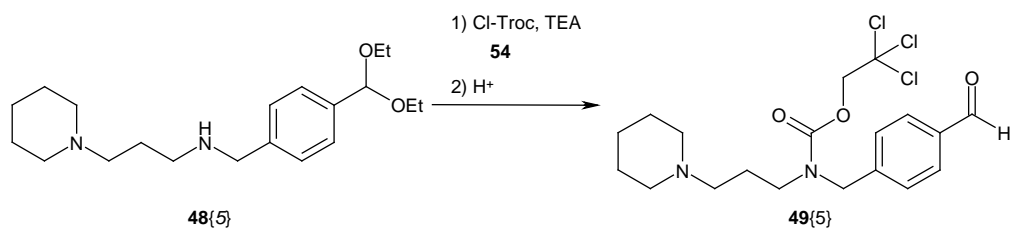
**Figura 1.12:** Reacció de protecció amb Boc de 5{3}

El mecanisme de la reacció comença per un atac nucleòfil d'una amina sobre un dels carbonils del  $\text{Boc}_2\text{O}$  (**53**), seguit d'una eliminació de  $\text{CO}_2$  i *tert*-butanol, donant-se d'aquesta manera la substitució nucleòfila acílica (Figura 1.13).



**Figura 1.13:** Mecanisme de protecció de grup amino amb Boc

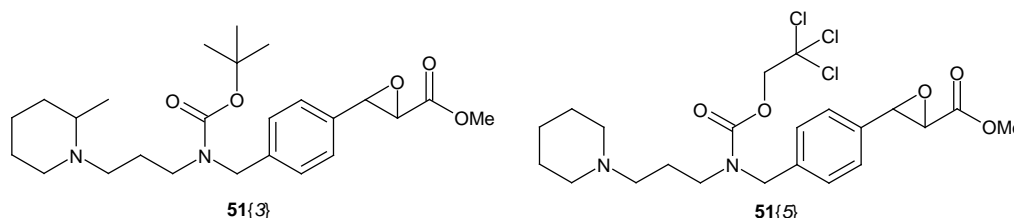
Pel que fa a la protecció amb Troc, es va emprar la metodologia descrita per Pansare i col·laboradors on es barregen per cada 1.4 mol d'amina, 1.5 mol de Troc-Cl (**54**) i 1.5 mol de trietilamina (TEA) en clorur de metilè a temperatura ambient amb un posterior tractament àcid d'àcid clorhídric 0.5 M.<sup>[8]</sup> Es va considerar que aquest tractament àcid podria també desprotegir el grup acetal de l'antecedent **48**, la qual cosa havia de permetre accedir a l'aldehid protegit en el nitrogen **49** sense aïllar l'aldehid **5**. Efectivament, en realitzar la protecció sobre el compost **48**{5} es va obtenir directament el compost protegit desitjat **49**{5} amb un rendiment del 96% (Figura 1.14). Un molt bon rendiment si es té en compte que no només s'ha protegit el grup amino sinó que, a més, s'ha desprotegit l'acetal per obtenir l'aldehid. Pel que fa a les dades espectroscòpiques, s'observa un desdoblament i/o eixamplament dels senyals tant en  $^1\text{H}$ -RMN com en  $^{13}\text{C}$ -RMN.



**Figura 1.14:** Reacció de protecció amb troc de 48{5}

El mecanisme de reacció és similar al presentat en la Figura 1.13 amb la diferència que en aquest cas el grup sortint és un clorur.

Una vegada obtinguts els productes protegits **49**{3} i **49**{5} es realitzen les reaccions de Darzens, mitjançant les dues metodologies descrites anteriorment amb la intenció d'accedir als corresponents epòxids **51**{3} i **51**{5} (Figura 1.15).



**Figura 1.15:** Estructures epòxid **51**{3} i **51**{5} que es volen obtenir

En cap de les proves realitzades s'ha aconseguit la formació dels corresponents epòxids, recuperant-se majoritàriament el reactiu de partida una vegada completada la reacció. Degut a aquests resultats, es va pensar en el desenvolupament d'una ruta sintètica alternativa i es va decidir obtenir estructures simètriques **41** amb l'objectiu de simplificar la interpretació espectroscòpica.

## 1.3. Estudi d'obtenció de tetraamines simètriques **41**

### 1.3.1. Anàlisi retrosintètica d'estructures simètriques **41**

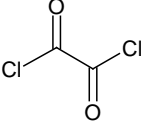
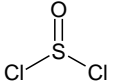
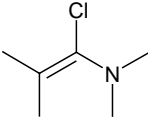
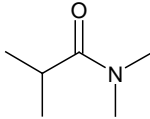
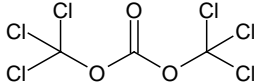
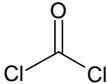
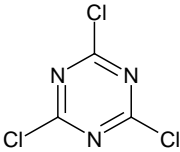
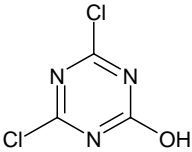
Es planteja una anàlisi retrosintètica (Figura 1.16) que consisteix en la transformació de la tetraamina simètrica **41** en l'amida corresponent **55** i la posterior desconexió d'aquesta en l'àcid 1,4-fenilendiacètic (**56**) i l'amina **2**.





La conversió d'un àcid carboxílic en el corresponent clorur d'àcid es realitza mitjançant els agents de cloració presentats en la Taula 1.4.

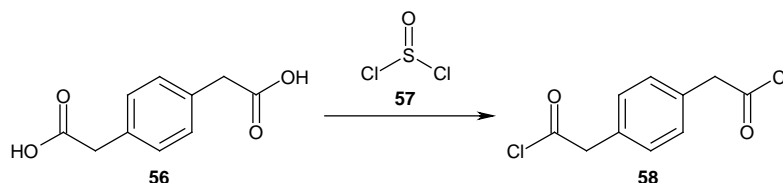
**Taula 1.4:** Nom i estructura dels agents de cloració més emprats per formar un clorur d'àcid a partir d'un àcid carboxílic

Nom	Estructura	Subproducte generat
Clorur d'oxalil <sup>[13-15]</sup>		CO + CO <sub>2</sub> + HCl
Clorur de tionil <sup>[16]</sup>		SO <sub>2</sub> + HCl
Triclorur de fòsfor <sup>[17]</sup>	PCl <sub>3</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>3</sub>
Pentaclorur de fòsfor <sup>[18]</sup>	PCl <sub>5</sub>	POCl <sub>3</sub> + HCl
Trifenilfosfina + tetraclorur de carboni <sup>[19,20]</sup>	Ph <sub>3</sub> P + CCl <sub>4</sub>	Ph <sub>3</sub> PO + CHCl <sub>3</sub>
1-cloro- <i>N,N</i> ,2-trimetilprop-1-en-1-amina <sup>[21]</sup>		
Carbonat de bis(triclorometil) (Trifosgen) <sup>[22]</sup>		 + HCl + CO <sub>2</sub>
2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina (clorur cianúric) <sup>[23]</sup>		

De tots els agents presentats en la Taula 1.4, els més emprats, de no ser per alguna incompatibilitat amb alguna altra funcionalitat del substrat, són el clorur de tionil, clorur d'oxalil i

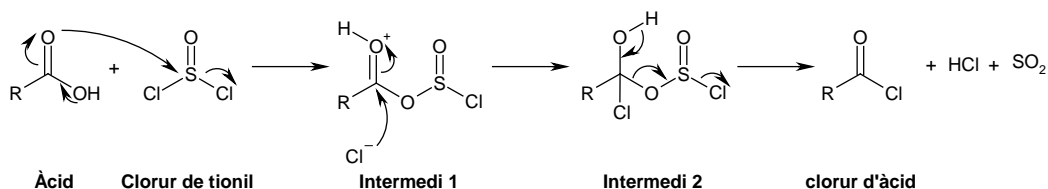
trifosgen ja que rendeixen com a subproducte un gas i per tant, de ser la reacció completa, s'obté directament el clorur d'àcid desitjat sense cap purificació addicional.

### 1.3.2.1.1. Formació del diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**) a partir d'1,4-fenilendiacètic (**56**)



**Figura 1.18:** Formació de diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**) a partir d'àcid 1,4-fenilendiacètic (**56**) emprant clorur de tionil (**57**) com a agent de cloració

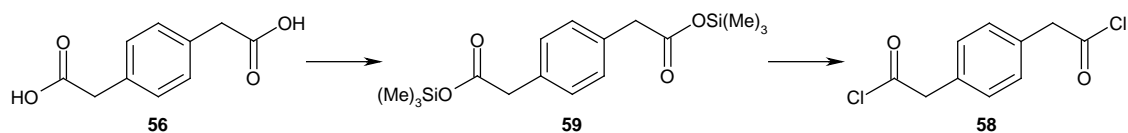
Una cerca bibliogràfica sobre la síntesi del diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**) a partir de l'àcid 1,4-fenilendiacètic (**56**) i clorur de tionil (**57**) va revelar l'existència dels treballs de Bencini i col·laboradors <sup>[24]</sup> i Stetter *et al.* <sup>[25]</sup> La formació del clorur d'àcid (Figura 1.19) es produeix per l'atac de l'àcid carboxílic sobre el sofre del clorur de tionil i la posterior pèrdua d'un clorur. El clorur pot a la seva vegada atacar el carboni carbonílic formant un intermedi tetraèdric que desemboca en una reordenació electrònica en cadena fins a la formació de clorur d'àcid, diòxid de sofre i àcid clorhídric. Ambdós subproductes generats en la reacció són gasos quedant només el clorur d'àcid. <sup>[26]</sup>



**Figura 1.19:** Mecanisme de reacció de formació d'un clorur d'àcid a partir d'un àcid carboxílic i clorur de tionil <sup>[26]</sup>

En aquest treball es va usar la metodologia de Bencini <sup>[24]</sup> en la que per cada mol de diàcid **56** s'afegeixen 20 mols de clorur de tionil (**57**) i s'escalfa durant 20 h a 50 °C. Després de l'eliminació de l'excés de clorur de tionil (**57**) a pressió reduïda es va obtenir el diclorur d'àcid **58**, que es va transformar directament en una de les diamides objectiu (veure apartat 1.3.2.2) amb un rendiment global de tant sols un 26%.

Aquest baix rendiment va portar a emprar la metodologia descrita en el treball de Falck-Pedersen *et al.* <sup>[27]</sup> on es parteix del mateix substrat **56** per formar, en dues etapes, el diclorur d'àcid **58** via un disililèster **59** (Figura 1.20).



**Figura 1.20:** Formació de diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**) a partir d'àcid 1,4-fenilendiacètic (**56**) passant per l'intermedi 1,4-fenilendiacetat de bis(trimetilsilil) (**59**)

### 1.3.2.1.2. Formació del disililèster **59**

Tot i que existeixen diferents agents de sililació (hexametildisilazan (HMDS),<sup>[28,29]</sup> trimetilclorosilan amb catàlisi bàsica (TMCS), *N*-metil-trimetilsililacetamida (MSA), *N*-trimetilsilildietilamina (TMSDEA), *N*-trimetilsilildimetilamina (TMSDMA), *N*-metil-*N*-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA), *N,O*-bis(trimetilsilil)acetamida (BSA), *N,O*-trimetilsililtrifluoroacetamida (BSTFA), *N*-trimetilsililimidazole (TMSI))<sup>[30]</sup> en el present treball es decideix utilitzar la metodologia descrita per Falck-Pedersen per l'àcid 1,4-fenilendiacètic (**56**).<sup>[27]</sup>

Segons aquesta metodologia, es deixa a reflux durant 12 hores una dissolució en 1,2-dicloroetà anhidre que conté per cada mol d'àcid 1,4-fenilendiacètic (**56**), dos mols d'HMDS i quantitat catalítica de TMCS. Passat aquest temps s'elimina el dissolvent a pressió reduïda obtenint directament el dièster sililat desitjat **59** (Figura 1.21) amb un rendiment del 96%. Es confirma l'estructura de **59** tant per <sup>1</sup>H-RMN (aparició d'un singlet a 0.25 ppm corresponent als metils del grup silil) com per <sup>13</sup>C-RMN (aparició d'un senyal a -0.3 ppm corresponent als metils del grup silil).

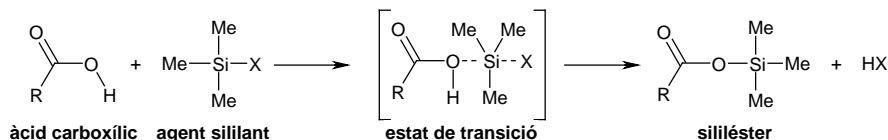


**Figura 1.21:** Obtenció d'1,4-fenilendiacetat de bis(trimetilsilil) (**59**) a partir d'àcid 1,4-fenilendiacètic (**56**)<sup>[27]</sup>

El mecanisme general de la formació de l'èster sililat passa per un atac nucleòfil de l'oxigen del grup -OH de l'àcid sobre els silici de l'agent sililant produint un estat de transició bimolecular que genera l'èster per expulsió del grup sortint (Figura 1.22).<sup>[30,31]</sup> Un bon agent de sililació ha de reunir diverses característiques:

1) El grup sortint ha de tenir baixa basicitat, capacitat per suportar densitats de càrrega negativa en l'estat de transició i poca o nul·la tendència de formar un enllaç π amb l'àtom de silici.

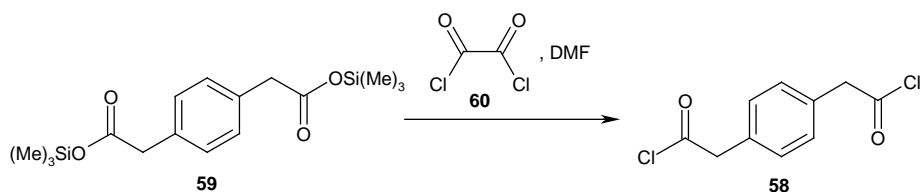
2) El grup silil ha de tenir quant més caràcter cessor (electròfil) millor perquè la reacció es dugui a terme. Aquest caràcter electròfil no només li ve donat pel grup sortint al que està inicialment unit sinó que també es veu influenciat pel dissolvent i la presència de catalitzadors.<sup>[30]</sup> Aquesta és la raó per la qual s'acostuma a afegir com a catalitzador TMCS.



**Figura 1.22:** Mecanisme de reacció de formació d'un sililèster a partir d'un àcid carboxílic<sup>[30]</sup>

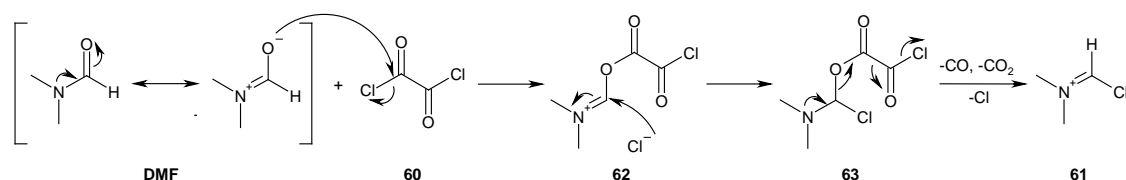
### 1.3.2.1.3. Formació de diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**) a partir d'1,4-fenilendiacetat de (bistrimetilsilil) (**59**)

Una vegada obtingut el disililèster (**59**) es procedeix a formar el diclorur d'àcid **58** corresponent emprant clorur d'oxalil (**60**) en presència de dimetilformamida (DMF) com a catalitzador (Figura 1.23). En aquest cas, la catàlisi amb DMF és essencial degut a la lentitud amb la que reaccionen els sililèsters amb clorur d'oxalil (**60**) en absència d'aquest.<sup>[11,32]</sup>



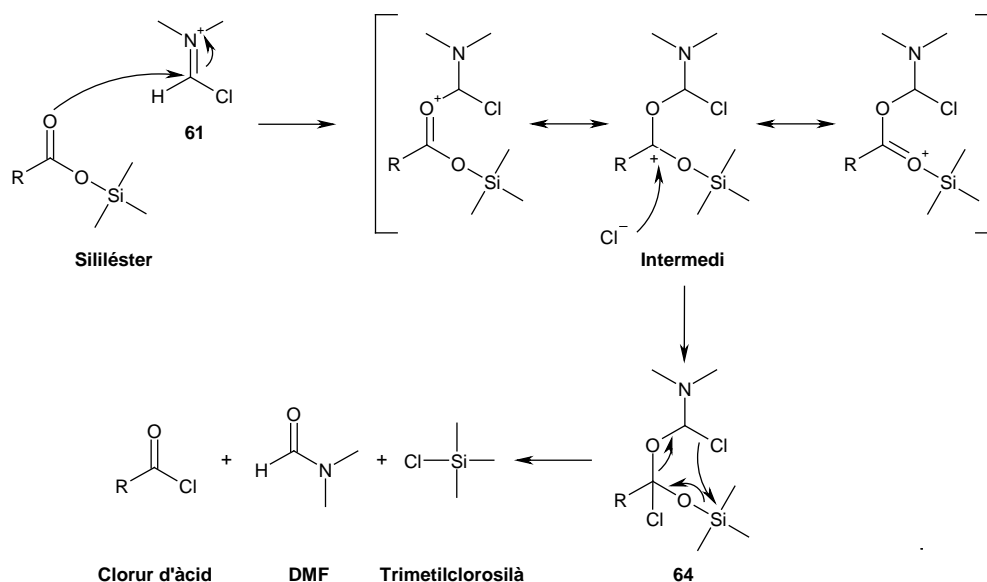
**Figura 1.23:** Síntesi de diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**) a partir d'1,4-fenilendiacetat de bis(trimetilsilil) (**59**) emprant clorur d'oxalil (**60**) en presència de DMF com a agent de cloració

En un primer pas reaccionen el clorur d'oxalil (**60**) i la DMF generant un catió imínic també anomenat reactiu de Vilsmeier (**61**). Tal i com mostra la Figura 1.24, el parell electrònic del nitrogen de la DMF es pot deslocalitzar generant un doble enllaç i el carboni del carbonil produint-se llavors un atac nucleòfil de l'oxigen enòlic sobre un dels carbonis del clorur d'oxalil (**60**) amb la conseqüent eliminació d'un clorur. Es produeix llavors l'atac d'un clorur sobre el primer intermedi **62** format, rendint un segon intermedi **63**. Finalment una reordenació electrònica desemboca en la eliminació de monòxid de carboni (CO), diòxid de carboni (CO<sub>2</sub>) i d'un clorur.<sup>[11,26,32,33]</sup>



**Figura 1.24:** Mecanisme de reacció de formació del reactiu de Vilsmeier **61** a partir de DMF i clorur d'oxalil (**60**)

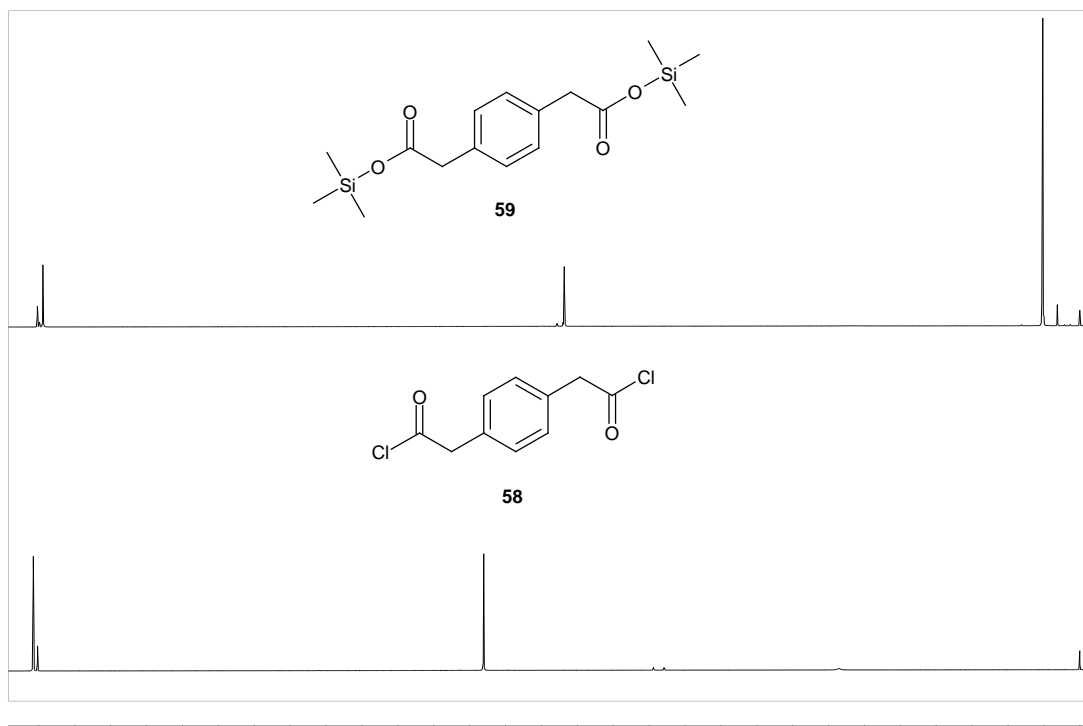
Tal com mostra la Figura 1.25, una vegada generat el catió imini **61** aquest reacciona amb l'èster siliat per rendir el clorur d'àcid. El reactiu de Vilsmeier **61**, de característica molt electròfila, es veu atacat per l'oxigen del carbonil, incrementant el caràcter electròfil del carboni que el sustenta. L'esmentat carboni pateix un atac nucleòfil d'un clorur rendint l'intermedi **64**. Finalment per una reordenació electrònica intramolecular es forma el clorur d'àcid desitjat, DMF i trimetilclorosilà.<sup>[26,32]</sup>



**Figura 1.25:** Mecanisme de reacció de formació d'un clorur d'àcid a partir d'un èster siliat catalitzat pel reactiu de Vilsmeier **61**<sup>[32]</sup>

El dièster siliat **59** es dissol en clorur de metilè i s'afegeixen DMF en quantitat catalítica i 2.2 mols de clorur d'oxalil (**60**) per cada mol de **59**. Es deixa en agitació durant una hora a 0 °C i una hora més a temperatura ambient. Finalment s'elimina el dissolvent a pressió reduïda i es confirma la formació del diclorur d'àcid **58** per <sup>1</sup>H-RMN i <sup>13</sup>C-RMN, dades que concorden amb les descrites a la bibliografia. Mencionar que la reacció no es va poder seguir per cromatografia de capa prima degut a la hidròlisi del diclorur d'àcid **58** sobre la fase estacionària de sílice, formant-se el diàcid **56**. El seguiment es realitza per espectroscòpia de <sup>1</sup>H-RMN, on es pot observar principalment la desaparició dels senyal dels metils del grup silà situats

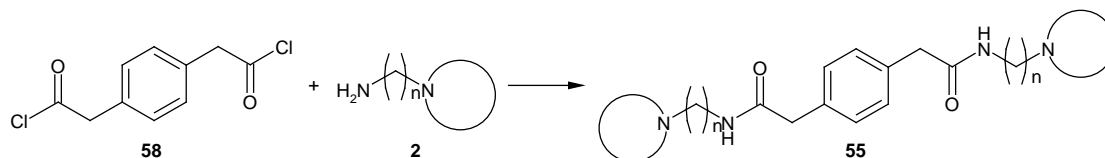
anteriorment a 0.25 ppm i el desplaçament d'uns 0.5 ppm cap a camp més baix del senyal corresponent al metilè en posició benzílica (Figura 1.26).



**Figura 1.26:** Espectres de <sup>1</sup>H-RMN d'1,4-fenilendiacetat de bis(trimetilsilil) (**59**) i diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**)

### 1.3.2.2. Formació d'amides **55**

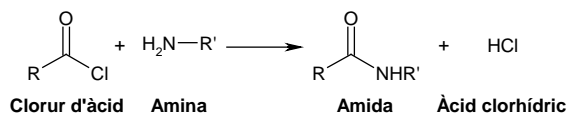
Una vegada generat el diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**), s'han de formar les diferents amides **32** amb les respectives amines primàries **2** (Figura 1.27).



**Figura 1.27:** Formació de diamida **55** a partir de diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**) i les amines **2**

Tal com es mostra en la Figura 1.28, quan un clorur d'àcid reacciona amb una amina per formar una amida, com a subproducte es genera àcid clorhídric. Aquest àcid clorhídric pot reaccionar amb l'amina que encara no ha estat acilada i formar un clorhidrat, provocant que la reacció no evolucioni, obtenint com a màxim un 50 % de rendiment.<sup>[34]</sup> Per augmentar el

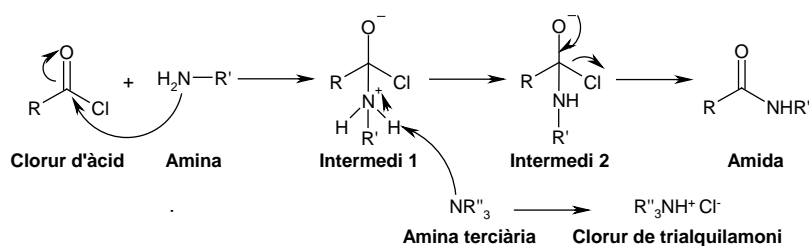
rendiment s'ha de posar l'amina en excés o una base auxiliar per contrarestar la formació de la sal.



**Figura 1.28:** Reacció de formació d'una amida a partir d'un clorur d'àcid i una amina

A finals del segle XIX, Schotten<sup>[35]</sup> i Baumann<sup>[36]</sup> van descriure una metodologia en la que s'afegeix lentament el clorur d'àcid sobre una dissolució o suspensió d'amina en medi aquós bàsic. Tot i que es millora el rendiment degut a la neutralització de l'HCl generat amb el medi bàsic, és necessari l'ús d'un excés de clorur d'àcid per contrarestar el clorur d'àcid consumit per la hidròlisi d'aquest amb l'aigua. Actualment la reacció es du a terme en medi orgànic en presència d'una sal inorgànica suspesa (òxid de calci,<sup>[37]</sup> carbonat sòdic,<sup>[38]</sup> etc...) o d'una amina terciària (trietilamina, piridina, dimetilnilina, etc...)<sup>[34]</sup> com a base auxiliar.

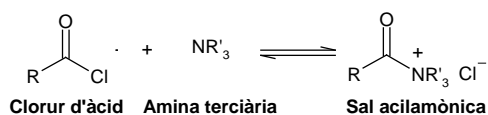
Tot i que la reacció es creu que pot evolucionar per diferents mecanismes, el que predomina en la majoria de casos és el que s'il·lustra en la Figura 1.29.<sup>[34]</sup> Primer es produeix l'atac nucleòfil de l'amina sobre el carboni del carbonil del clorur d'àcid provocant una deslocalització de la càrrega del doble enllaç sobre l'àtom d'oxigen. Llavors intervé la base auxiliar (amina terciària) que capta un dels protons unit al nitrogen de l'amina condensada. Finalment es produeix l'eliminació de l'àtom de clor obtenint com a producte una amida i el clorur de trialquilamoni.<sup>[26,34]</sup>



**Figura 1.29:** Mecanisme de formació d'una amida a partir d'un clorur d'àcid i una amina primària en presència d'una base auxiliar (amina terciària)

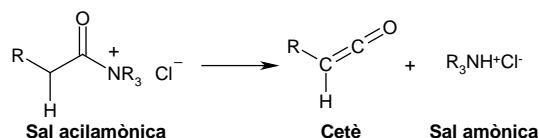
A més de captar protons i permetre l'evolució de la reacció d'acilació, les amines terciàries poden exercir un efecte "catalític", sobretot en casos en que l'amina sigui molt poc nucleòfila. Es pot arribar a donar un mecanisme paral·lel al de la Figura 1.29, degut a la formació d'una sal acilamònica més reactiva (Figura 1.30).<sup>[11,34,39-44]</sup>





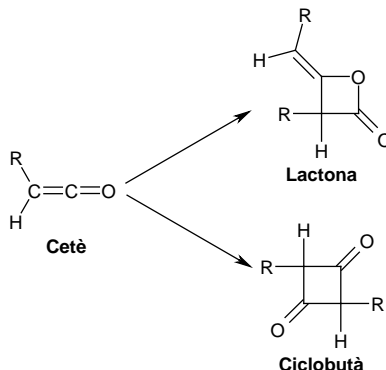
**Figura 1.30:** Formació de sal acilamònica a partir d'un clorur d'àcid i una amina terciària

Aquesta sal acilamònica, una vegada formada, pot rendir un cetè<sup>[11,34,40-45]</sup> tal com mostra la Figura 1.31. Una formació que només és possible si existeix un àtom d'hidrogen en el carboni en  $\alpha$  de carbonil.



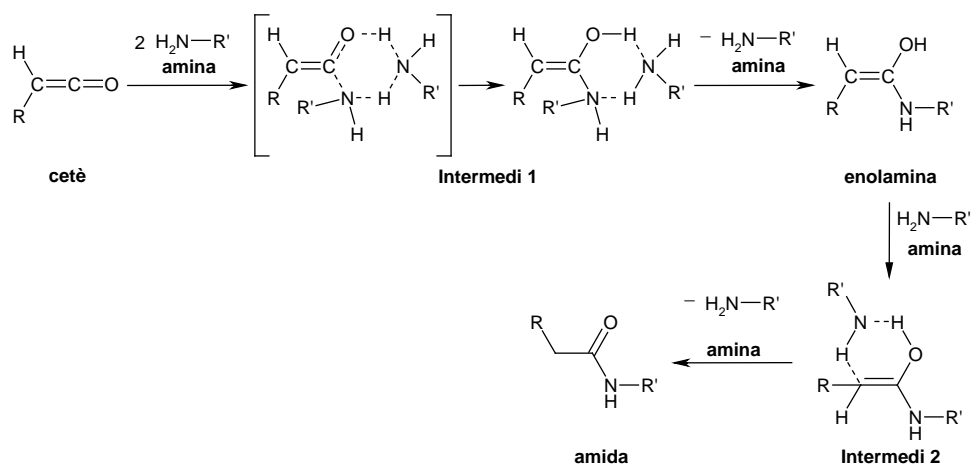
**Figura 1.31:** Formació d'un cetè a partir d'una sal acilamònica

El cetè és una espècie molt reactiva, per aquesta raó és important que en el moment de la seva formació, estigui en contacte amb amina per formar l'amida corresponent i així evitar reaccions en competència com pot ser que reaccioni amb ell mateix formant dues estructures possibles, una lactona o un ciclobutà<sup>[44-46]</sup> (Figura 1.32).



**Figura 1.32:** Possible reacció en competència a la formació d'una amida. Reacció d'un cetè amb ell mateix<sup>[46]</sup>

Tot i que la formació d'una amida a partir d'un cetè i d'una amina ja es va descriure a principi de segle passat per Staudinger,<sup>[47]</sup> el mecanisme de la reacció encara és objecte d'estudi. Es representa en la Figura 1.33, el mecanisme més plausible. Primerament es forma un primer estat de transició en el que es produeix un atac nucleòfil del nitrogen d'una amina sobre el carboni del carbonil del cetè amb l'assistència d'una segona molècula d'amina fins a la formació d'una enolamina. En segon terme, una tercera molècula d'amina intervé, afavorint la tautomeria i per tant la formació de l'amida.<sup>[48-52]</sup>



**Figura 1.33:** Possibles intermedis de reacció de formació d'una amida a partir d'un cetè<sup>[48-52]</sup>

És important remarcar que la formació d'una amida per aquesta via sintètica no és adient en el cas de que l'halur d'àcid tingués un centre quiral en  $\alpha$  de carbonil, ja que amb la formació del cetè es destrueix aquest centre quiral, rendint finalment la mescla racèmica de l'amida.<sup>[53,54]</sup> Com que en el cas del present treball no existeix cap centre quiral en l'esmentada posició, es pot usar aquesta metodologia.

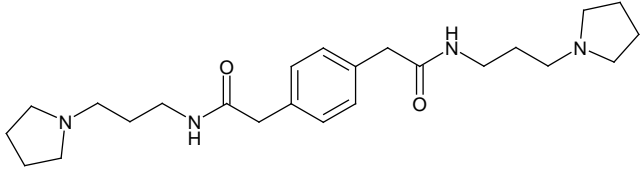
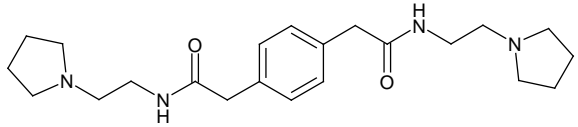
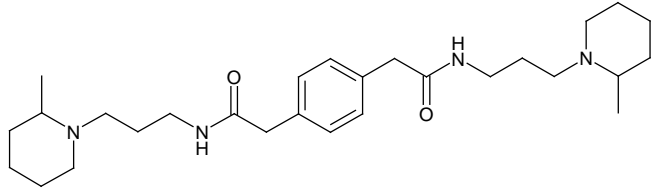
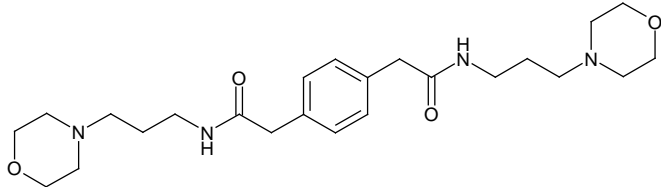
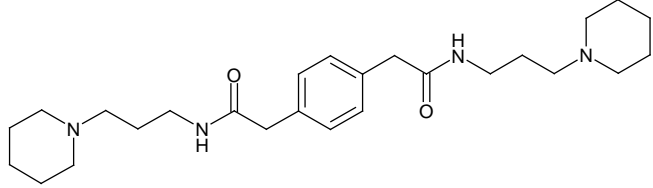
De fet, si es té en compte que el reactiu de partida és l'halur d'àcid, la reacció que es produeix encara que en dues etapes, és una deshidrohalogenació.

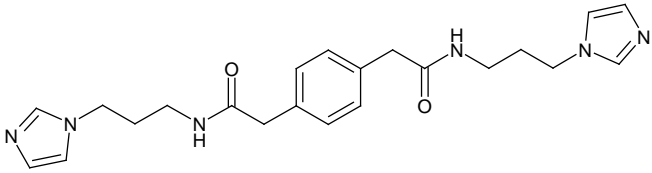
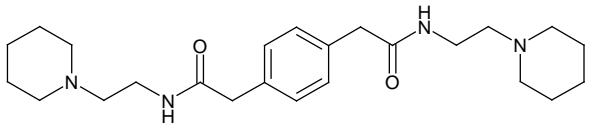
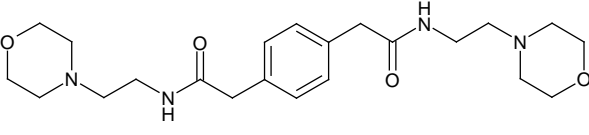
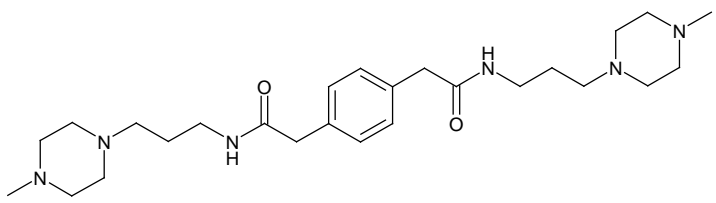
Routaboul *et al.* descriuen una metodologia de formació d'amides en la que barregen en quantitat equimolar el clorur d'àcid i l'amina amb un lleuger excés de trietilamina (1.1 mols) en clorur de metilè a  $0^\circ\text{C}$  i es deixa en agitació durant 18 hores a temperatura ambient. S'elimina el dissolvent a pressió reduïda, es dilueix el cru en èter dietílic i es renta primerament amb una dissolució de clorhídric 0.1 M i posteriorment amb salmorra. S'asseca la fase orgànica sobre sulfat sòdic anhidre i s'elimina de nou el dissolvent a pressió reduïda obtenint directament l'amida.<sup>[55]</sup>

En el present treball es fan certes modificacions de la metodologia descrita anteriorment degut a les característiques dels substrats que s'usen. Com que el clorur d'àcid té dos punts de reacció, per cada mol de diclorur d'àcid **58**, s'afegeixen 2 mols d'amina **2** i 2.2 mols de trietilamina. Donat que les amines que s'usen a més de ser primàries contenen una amina terciària que podria fer de captador de protons, es va pensar que no era necessari afegir-hi la trietilamina. Es va fer una prova de formació d'amida sense afegir trietilamina i es va observar la formació d'una massa compacte insoluble en el medi de reacció, suposadament degut a la formació de sals. Es va decidir afegir trietilamina per garantir que tota l'amina pogués reaccionar, ja que part podria quedar sense reaccionar quedant-se en forma de sal insoluble. En el moment d'afegir la trietilamina, part del sòlid es dissol, indicant l'evolució de

la reacció, quedant una suspensió corresponent al clorhidrat de la trietilamina i probablement de la sal de l'amida. Una vegada finalitzada la reacció, a diferència de la metodologia original, s'afegeix una dissolució de carbonat potàssic al 15% en comptes d'una dissolució d'àcid clorhídric 0.1 M.<sup>[56]</sup> En la metodologia original el tractament àcid serveix per formar el clorhidrat de la trietilamina, solubilitzar-la en la fase aquosa i així separar-la de l'amida. Aquest tractament no es pot dur a terme ja que no només es formaria la sal de la trietilamina sinó que també la de les amines que conté l'amida, solubilitzant les dues sals en medi aquós i per tant no separant els compostos. Amb el tractament bàsic de carbonat potàssic, es neutralitzen els clorhidrats formats, alliberant les amines terciàries, tant les que conté l'amida com la trietilamina. Després de dues extraccions, s'elimina el dissolvent i la trietilamina a pressió reduïda obtenint l'amida **55**. En la taula 1.5, es presenten les amides **55** obtingudes amb els seus respectius rendiments.

**Taula 1.5:** Amides sintetitzades **55** amb les seues respectius rendiments

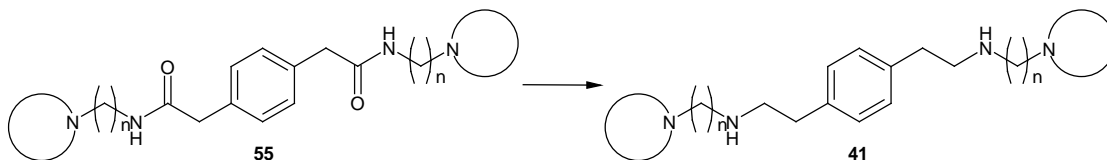
Estructura	Nom	Rendiment
	<b>55{1}</b>	57%
	<b>55{2}</b>	76%
	<b>55{3}</b>	71%
	<b>55{4}</b>	79%
	<b>55{5}</b>	76%

Estructura	Nom	Rendiment
	55{6}	42%
	55{7}	quantitatiu
	55{8}	quantitatiu
	55{9}	54%

Com es pot observar en la Taula 1.5, els rendiments van des del 42% fins a rendiment quantitatiu. Aquests rendiments corresponen al rendiment global de formació d'1,4-fenilendiacetat de bis(trimetilsilil) (**59**) a partir de l'àcid 1,4-fenilendiacètic (**56**), la formació del diclorur d'1,4-fenilendiacetil (**58**) i finalment la formació de l'amida **55**. Per tant, el fet d'obtenir rendiments quantitatius significa que els rendiments de formació del dièster sililat **59** i de la formació del diclorur d'àcid **58** són quantitatius. També dir que les amines **2** que tenen una cadena etilènica entre els dos nitrògens, en general reaccionen força millor que quan la cadena és trimetilènica.

### 1.3.3. Formació d'amines 41

#### 1.3.3.1. Aspectes generals de reducció d'amides



**Figura 1.34:** Esquema general de la reducció de les amides **55** a amines **41**

Una vegada formades les amides **55**, s'han de reduir aquestes a amines **41**. El primer que s'observa en la cerca d'informació sobre aquesta reacció és que el comportament de les amides és completament diferent si es tracta d'una de primària, d'una de secundària o d'una de terciària. Per reduir amides secundàries s'usa bàsicament hidrogenació catalítica, hidrurs i hidrosilans catalitzat per algun complex metàl·lic. En el primer cas, tot i que s'han suavitzat les condicions de reacció, segueixen sent dràstiques (164 °C, 40 bars) amb catalisi de complex de ruteni.<sup>[57]</sup> En general la reducció amb hidrosilans s'usa per amides terciàries ja que amb amides secundàries es donen reaccions no desitjades com per exemple la formació de sililamides.<sup>[58]</sup> Com a catalitzador, s'usen complexos de Rh,<sup>[59,60]</sup> Ru,<sup>[58,60,61]</sup> Pt,<sup>[60,62]</sup> Pd,<sup>[60]</sup> Ir,<sup>[60]</sup> Os,<sup>[60]</sup> Re,<sup>[60]</sup> Mn,<sup>[60]</sup> Mo,<sup>[63]</sup> In,<sup>[64]</sup> Ti<sup>[65]</sup> i Fe,<sup>[66]</sup> només sent vàlids per amides secundàries certs catalitzadors de Fe<sup>[66]</sup> i de Ru.<sup>[67]</sup> Degut a que existeixen molt pocs exemples de reducció d'amides secundàries via hidrosililació catalitzada amb complex metàl·lic, es decideix realitzar la reacció emprant hidrur com a reductor.

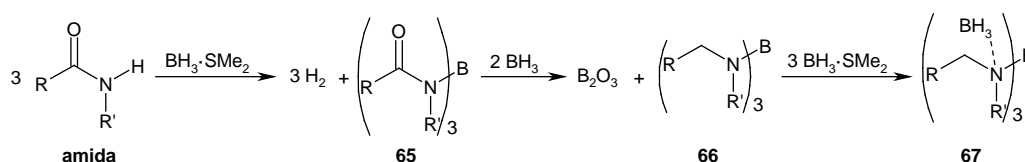
A la literatura es veu principalment descrit l'ús d'hidrur d'alumini (AlH<sub>3</sub>),<sup>[68]</sup> hidrur de liti i alumini (H<sub>4</sub>LiAl)<sup>[69-71]</sup> i de borà (BH<sub>3</sub>)<sup>[55,72-75]</sup> per reduir amides secundàries. Entre aquests reductors es va escollir usar borà per dues raons, la primera perquè en el grup ja hi havia certa experiència en reduir amides secundàries amb aquest tipus de reactiu,<sup>[76,77]</sup> i la segona perquè es va trobar a la bibliografia reduccions sobre substrats similars al del present treball.<sup>[72,73]</sup>

#### 1.3.3.2. Reducció d'amides **55** amb dimetilmercaptà borà

Com que els articles en els que es redueixen els substrats similars als del present treball usen dimetilmercaptà borà (BH<sub>3</sub>·SMe<sub>2</sub>) (BDS), es va decidir usar aquest en comptes del complex de borà tetrahidrofuran (BH<sub>3</sub>·THF) (BTHF) que era el que s'havia usat fins al moment en el grup. Tot i que són de característiques molt similars, el BDS presenta com avantatges front a BTHF una major estabilitat i una major versatilitat pel que fa dissolvents de reacció sempre i quan aquest sigui apròtic.<sup>[78,79]</sup> Val la pena també mencionar que existeixen dos

reductors anàlegs al BDS inodors, dodecilmetilmercaptà borà (Dod-S-Me) i metil-6-morfolinohexilmercaptà borà (BMMS), però cap d'ells comercialment disponibles.<sup>[80]</sup>

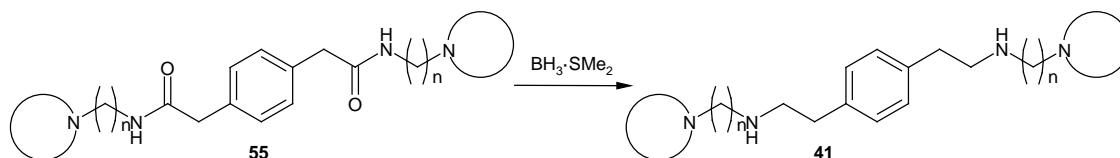
En la Figura 1.35 es presenta el mecanisme de reacció de reducció d'amides secundàries amb BDS proposat per H. C. Brown.<sup>[74]</sup> A diferència d'altres hidrurs metàl·lics, el borà és un àcid dèbil de Lewis i per tant reacciona de manera diferent. El mecanisme consta de tres etapes, la primera en què els hidrurs del borà reaccionen amb els hidrògens amídics de tres amides per formar un primer intermedi **65**, la segona en què dos borans reaccionen per reduir els carbonils de les tres amides rendint **66** i la tercera en què tres molècules de borà acaben interaccionant amb el complex **66** per formar un nou complex **67** de l'amina resultant. A mode de resum, per cada unitat d'amida és necessari un mol de borà per la formació del complex **65** i la posterior reducció i un altre mol de borà per formar el complex final de l'amina **67**, per tant dos mols de borà per mol d'amida.<sup>[74,75]</sup>



**Figura 1.35:** Etapes de reacció d'una reducció d'amida secundària proposades per H. C. Brown<sup>[74]</sup>

Una vegada format el complex **67**, es pot alliberar i obtenir l'amina de dues maneres diferents. La primera és realitzant una hidròlisi del complex en medi àcid (HCl aquós)<sup>[74,81]</sup> i un posterior rentat amb una dissolució de NaOH. La segona és tractant amb metanol seguit d'àcid clorhídric en èter dietílic, per formar el clorhidrat de l'amina insoluble en el medi. El clorhidrat s'acaba aïllant per filtració.<sup>[74]</sup>

### 1.3.3.3. Obtenció d'amines **41** a partir de les diamides **55**

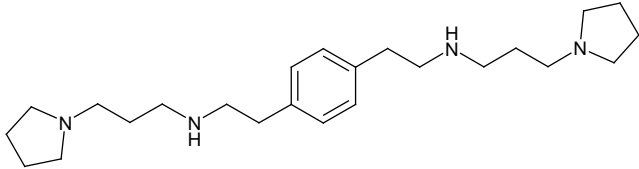
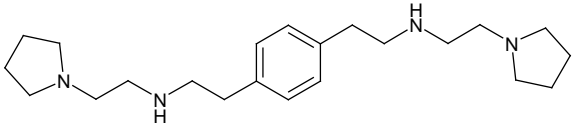
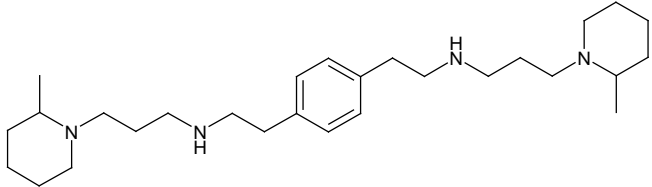
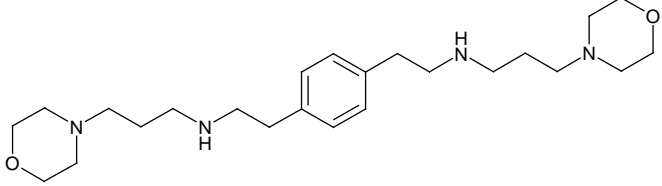
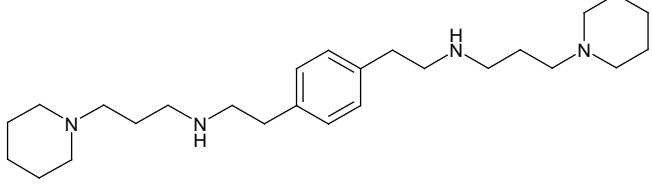


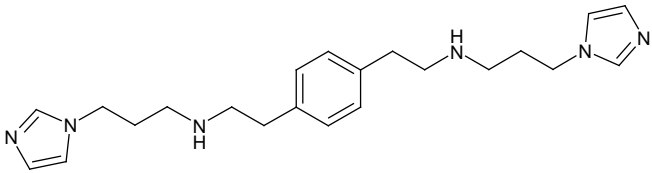
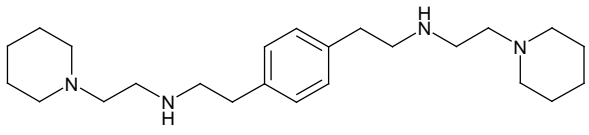
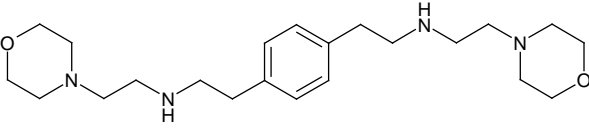
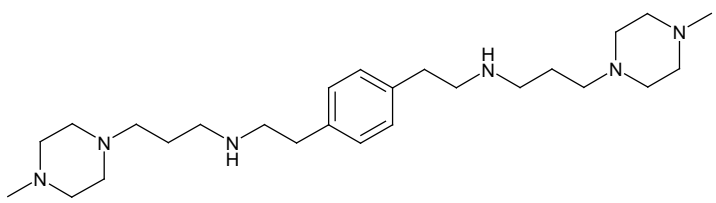
**Figura 1.36:** Reducció de les amides **55** a amines **41** mitjançant el complex dimetilmercaptà borà com a reductor

En el present treball, per reduir les diamides **55** a diamines **41**, es van adaptar les metodologies de Masuko *et al.*<sup>[73]</sup> i de Routaboul i col·laboradors.<sup>[55]</sup> A una dissolució de diamida **55** en THF, s'afegeix BDS en excés (tenint en compte que cada molècula de substrat

conté dos grups funcionals i que cada un reacciona amb 2 mol de BDS; es va assajar afegint-hi BDS en excés en proporció 1 a 11.9 i 1 a 5.1). Es deixa a reflux 6 hores i es refreda a temperatura ambient per procedir a la hidròlisi del complex format afegint una dissolució de clorur d'hidrogen metanòlic 1.25 M. Es deixa a reflux durant una hora i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, per posteriorment dissoldre el cru de reacció amb clorur de metilè i acabar fent extraccions amb una dissolució de NaOH 1M. Finalment, s'asseca la fase orgànica sobre sulfat de magnesi anhidre i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda. Tot i que el producte s'obté en general força pur, es purifica usant alumina bàsica com a fase estacionària i una mescla de clorur de metilè/metanol com a eluent. Cal dir que en aquest tipus de separació no es recomana l'ús de sílice com a fase estacionària degut a que no es recupera el producte desitjat quedant-se aquest ancorat en ella. Es presenten en la Taula 1.6 els rendiments obtinguts de les reduccions realitzades.

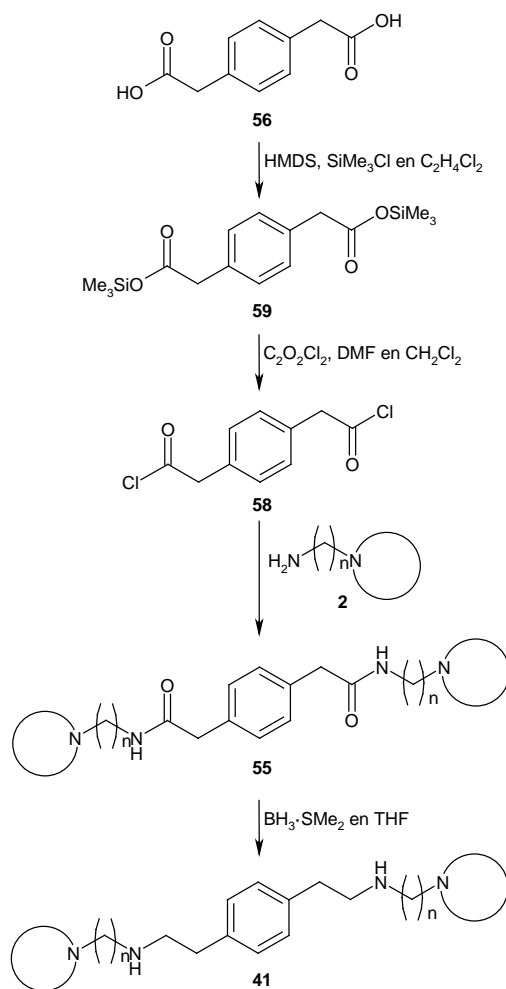
**Taula 1.6:** Amines sintetitzades **41** amb les seues respectius rendiments, entre parèntesi hi figura el rendiment global des del diàcid **56**

Estructura	Nom	Rendiment
	<b>41{1}</b>	77% (44%)
	<b>41{2}</b>	75% (57%)
	<b>41{3}</b>	53% (38%)
	<b>41{4}</b>	81% (64%)
	<b>41{5}</b>	61% (46%)

Estructura	Nom	Rendiment
	<b>41{6}</b>	89% (37%)
	<b>41{7}</b>	83% (83%)
	<b>41{8}</b>	96% (96%)
	<b>41{9}</b>	85% (46%)

Com es pot observar en la Taula 1.6, els rendiments de reducció són en general força bons, com també ho són els rendiments de reacció global si es té en compte que es tracta de 4 etapes sintètiques: la formació del disililèster **59** a partir del diàcid **56**, la formació del diclorur d'àcid **58**, la formació de la diamida **55** i finalment la reducció a amina **41** tal com mostra la Figura 1.37.





**Figura 1.37:** Ruta sintètica completa usada per l'obtenció d'amines **41**

## 1.4. Avaluació de l'activitat anti-VIH de les amides **55** i amines **41** sintetitzades

L'avaluació de l'activitat anti-VIH dels compostos sintetitzats es realitza en el grup del Dr. Esté en el Laboratori de Retrovirologia de la Fundació IrsiCaixa de l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.

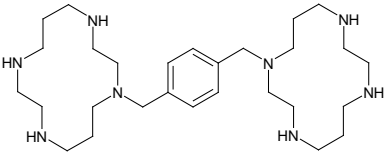
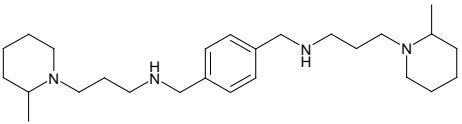
La determinació de l'activitat anti-VIH es realitza mitjançant un assaig colorimètric de MTT (bromur de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazole), sal de color groc que només metabolitzen les cèl·lules vives reduint-la a sal de formazan de color lil·lós.<sup>[82]</sup> Les cèl·lules usades en l'assaig són del tipus MT-4 (línea cel·lular de cèl·lules T humanes aïllades en un pacient amb leucèmia de cèl·lules T) i s'infecten amb la soca NL4-3 *wild type*.

L'activitat anti-VIH s'expressa com a  $\text{EC}_{50}$  (concentració efectiva 50, és a dir la concentració necessària per inhibir el 50% de la mort cel·lular a causa del VIH-1) i la toxicitat

com a  $CC_{50}$  (concentració citotòxica 50, és a dir la concentració necessària per induir el 50% de la mort cel·lular degut a la toxicitat del compost) i es dedueix de la viabilitat de les cèl·lules MT-4 infectades o no infectades respectivament, a diferents concentracions dels compostos a analitzar dissolts en DMSO. Una vegada preparat l'assaig es deixen evolucionar els sistemes durant 5 dies en un incubador i mitjançant l'anàlisi colorimètric, es quantifica el grau de viabilitat de les cèl·lules.<sup>[83]</sup>

Per poder comparar els resultats d'activitat, es presenten en la Taula 1.7 els valors obtinguts amb molècules de referència. Com a compostos de referència s'utilitzen AMD3100 (antagonista del coreceptor CXCR4) amb un valor d' $EC_{50}$  de 0.002  $\mu\text{g/mL}$  i **3{3}** (molècula sintetitzada pel grup inhibidora de CXCR4) amb un valor d' $EC_{50}$  de 0.050  $\mu\text{g/mL}$ .

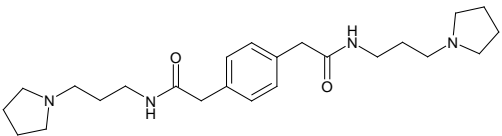
**Taula 1.7:** Valors d'activitat anti-VIH ( $EC_{50}$ ), de citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) i l'índex de selectivitat (SI) de l'AMD3100 i de **3{3}**

Estructura	Nom	$EC_{50}$ $\mu\text{g/mL}$	$CC_{50}$ $\mu\text{g/mL}$	SI
	<b>AMD3100</b>	0.002	>5	>2500
	<b>3{3}</b>	0.050*	53	1060

\* Tot i que en un altre anàlisi, el valor obtingut va ser de  $EC_{50} = 0.008 \mu\text{g/mL}$ ,<sup>[1,2]</sup> 0.050  $\mu\text{g/mL}$  és el valor obtingut en l'assaig dels compostos del present treball. Cal dir que el valor obtingut està dins del marge d'error que permet aquest tipus d'anàlisi.

Es presenten primerament en la Taula 1.8 els valors d'activitat anti-VIH i de citotoxicitat de les amides **55** sintetitzades.

**Taula 1.8:** Valors d'activitat anti-VIH ( $EC_{50}$ ), de citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) i índex de selectivitat (SI) de les amides **55** sintetitzades

Estructura	Nom	$EC_{50}$ $\mu\text{g/mL}$	$CC_{50}$ $\mu\text{g/mL}$	SI
	<b>55{1}</b>	>64.6	>64.6	0

Estructura	Nom	EC <sub>50</sub> µg/mL	CC <sub>50</sub> µg/mL	SI
	<b>55{2}</b>	4.2	>125	>29.8
	<b>55{3}</b>	68	>125	>1.8
	<b>55{4}</b>	>125	>125	---
	<b>55{5}</b>	>125	>125	---
	<b>55{6}</b>	>125	>125	---
	<b>55{7}</b>	2.0	>125	>62.5
	<b>55{8}</b>	>125	>125	---
	<b>55{9}</b>	>125	>125	---

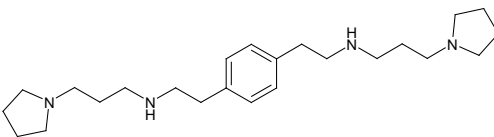
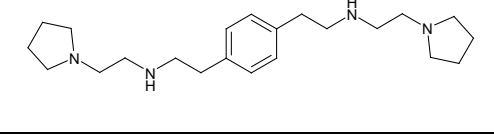
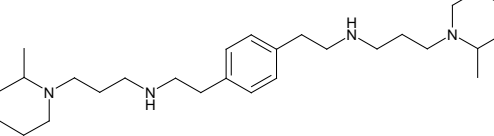
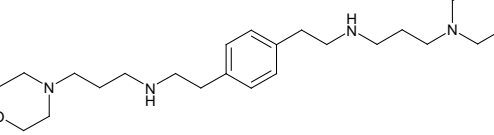
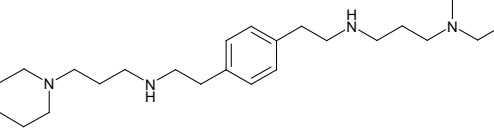
Tal com s'observa en la Taula 1.8, cap de les amides **55** presenta citotoxicitat a la concentració màxima assajada (125 µg/mL) a excepció de l'amida **55{1}** (CC<sub>50</sub> > 64.6 µg/mL). D'altra banda, de les nou amides **55** sintetitzades, només tres presenten certa activitat anti-VIH, **55{2}** (EC<sub>50</sub> = 4.2 µg/mL), **55{7}** (EC<sub>50</sub> = 2.0 µg/mL) i **55{3}** (EC<sub>50</sub> = 68 µg/mL) però tres o quatre ordres de magnitud menys actives que els compostos de referència. Tot i això es pot treure

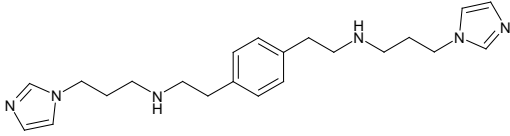
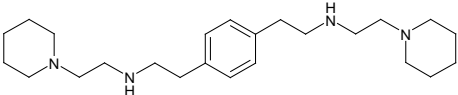
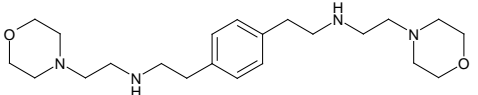
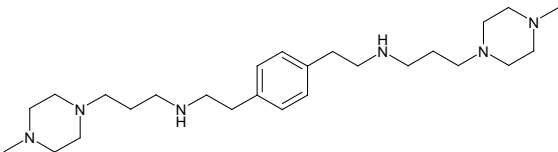
certa informació d'aquestes dades. Dos dels compostos actius, **55{2}** ( $EC_{50} = 4.2 \mu\text{g/mL}$ ) **55{7}** ( $EC_{50} = 2.0 \mu\text{g/mL}$ ), contenen una cadena alquíllica etilènica entre els àtoms de nitrogen de l'amida i de l'amina cíclica, mentre que els seus anàlegs **55{1}** i **55{5}** que contenen una cadena trimetilènica entre els dos nitrògens de cada costat de l'anell central no presenten activitat, per tant sembla que la presència d'un espaiador més curt afavoreix la inhibició. Aquest fet indica en certa manera la distància en la que l'amina terciària pot interaccionar i per tant inhibir el coreceptor CXCR4. Tot i això, la presència de l'espaiador etilènic no és garantia d'activitat com es pot comprovar amb el cas de **55{8}**, que resulta inactiva tot i tenir l'esmentat espaiador.

D'altra banda, el compost **55{3}** ( $EC_{50} = 68 \mu\text{g/mL}$ ) és l'únic amb cadena alquíllica d'unió entre nitrògens trimetilènica que presenta activitat. Cal remarcar que **55{3}** conté com a amina la pipercolina i que la presència d'aquesta amina ja va portar molt bons resultats en el treball de S. Pettersson (**3{3}**) amb una  $EC_{50} = 0.008 \mu\text{g/mL}$ .<sup>[1,2]</sup>

Pel que respecte l'assaig de les amines **41** sintetitzades, es presenten els valors d'activitat anti-VIH i de citotoxicitat en la Taula 1.9.

**Taula 1.9:** Valors d'activitat anti-VIH ( $EC_{50}$ ) i de citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) de les amines **20** sintetitzades

Estructura	Nom	$EC_{50}$ $\mu\text{g/mL}$	$CC_{50}$ $\mu\text{g/mL}$	SI
	<b>41{1}</b>	0.068	37	544
	<b>41{2}</b>	0.51	70	137
	<b>41{3}</b>	0.032	52	1625
	<b>41{4}</b>	20.73	101	5
	<b>41{5}</b>	0.042	47	1119

Estructura	Nom	EC <sub>50</sub> µg/mL	CC <sub>50</sub> µg/mL	SI
	41{6}	>125*	>125	---
	41{7}	0.1	50	500
	41{8}	>125**	>125	---
	41{9}	>36.03	36	0

\* 47% d'inhibició a 125 µg/mL; 43% de citotoxicitat a 125 µg/mL

\*\* 37% d'inhibició a 125 µg/mL

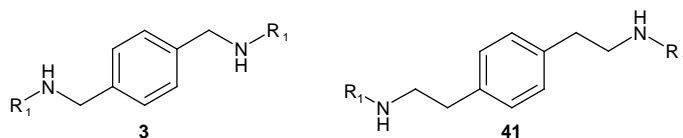
S'observa en la Taula 1.9 com de les 9 amines sintetitzades dues (41{6} i 41{8}) no presenten activitat a una concentració menor de 125 µg/mL i una (41{9}) no es pot avaluar la seva activitat en ser el compost més tòxic que actiu. En l'altre extrem 41{1} (EC<sub>50</sub> = 0.068 µg/mL), 41{3} (EC<sub>50</sub> = 0.032 µg/mL) i 41{5} (EC<sub>50</sub> = 0.042 µg/mL) presenten unes activitats anti-VIH força bones del mateix ordre que 3{3} (EC<sub>50</sub> = 0.050 µg/mL). És important mencionar que els tres compostos amb més activitat contenen com a amina terciària piperidina, pipercolina i piperidina. Totes tres amines ja van formar part també de les estructures simètriques que van donar millor valors d'activitat en el treball previ del grup.<sup>[1,2]</sup> Per tant es confirma que l'estructura de l'amina terciària té una gran influència sobre l'activitat. Una altra dada a destacar és l'alta selectivitat dels compostos 41{1}, 41{3} i 41{5} per inhibir la infecció viral front a l'efecte citotòxic exercit sobre la cèl·lula amb uns valors de SI de 544, 1625 i 1119 respectivament.

D'altra banda, si es comparen els valors d'activitat de 41{1} (EC<sub>50</sub> = 0.068 µg/mL) amb 41{2} (EC<sub>50</sub> = 0.51 µg/mL), de 41{5} (EC<sub>50</sub> = 0.042 µg/mL) amb 41{7} (EC<sub>50</sub> = 0.1 µg/mL) i de 41{4} (EC<sub>50</sub> = 20.73 µg/mL) amb 41{8} (EC<sub>50</sub> = >125 µg/mL) s'observa en tots tres casos que la presència d'una cadena trimetilènica entre els nitrògens afavoreix la inhibició en un ordre de magnitud front a la presència d'una cadena etilènica.

Per tal d'estudiar l'efecte de l'espaiador 1,4-fenilenbisetilènic sobre l'activitat anti-VIH, es comparen els valors d'activitat obtinguts amb els dels compostos amb espaiador

1,4-fenilenbismetilènic sintetitzats anteriorment en el grup.<sup>[1,2]</sup> Es presenten en la Taula 1.10 els valors d'activitat anti-VIH i de citotoxicitat dels compostos simètrics amb espaiador 1,4-fenilenbismetilènic **3** i 1,4-fenilenbisetilènic **41**.

**Taula 1.10:** Valors d'activitat anti-VIH ( $EC_{50}$ ) i de citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) expressats en  $\mu\text{g/mL}$  de les tetraamines **3** i **41**. Es ressalten en negreta els valors dels compostos que presenten activitat a menor concentració



Compost	$R_1\text{-NH}_2$	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>3</b> {1}	<b>2</b> {1}	0.9	32.4
<b>41</b> {1}	<b>2</b> {1}	<b>0.068</b>	37
<b>3</b> {2}	<b>2</b> {2}	10.2	>25
<b>41</b> {2}	<b>2</b> {2}	<b>0.51</b>	70
<b>3</b> {3}	<b>2</b> {3}	0.050	>25
<b>41</b> {3}	<b>2</b> {3}	<b>0.032</b>	52
<b>3</b> {4}	<b>2</b> {4}	>125	>125
<b>41</b> {4}	<b>2</b> {4}	<b>20.73</b>	101
<b>3</b> {5}	<b>2</b> {5}	0.14	>25
<b>41</b> {5}	<b>2</b> {5}	<b>0.042</b>	47
<b>3</b> {6}	<b>2</b> {6}	>59.5	59.5
<b>41</b> {6}	<b>2</b> {6}	>125	>125
<b>3</b> {7}	<b>2</b> {7}	>11.7	11.7
<b>41</b> {7}	<b>2</b> {7}	<b>0.1</b>	50
<b>3</b> {8}	<b>2</b> {8}	>85.7	85.7
<b>41</b> {8}	<b>2</b> {8}	>125	>125
<b>3</b> {9}	<b>2</b> {9}	9.5	>125
<b>41</b> {9}	<b>2</b> {9}	>36.03	36

Si s'analitzen els valors d'activitat de les estructures per parelles, és a dir entre compostos **3** i **41** formats amb la mateixa amina **2**, s'observa que en sis dels nou casos es millora l'activitat anti-VIH. Una millora que és poc significativa en el cas de **41**{3}, ja que es manté l'ordre de magnitud, però que és d'un ordre de magnitud en els casos de **41**{1}, **41**{4} i **41**{5} i fins i tot de dos ordres de magnitud per **41**{2} i **41**{7}. Pel que fa als compostos **41**{6} i **41**{8}, tot i que no ha estat possible obtenir un valor d'activitat pel fet de no ser actius a una concentració menor a la concentració màxima assajada de 125  $\mu\text{g/mL}$ , aquests presenten una

menor citotoxicitat si es compara amb el valor dels seus anàlegs **3{6}** i **3{8}**. Finalment, mencionar que quan l'amina és una piperazina, succeeix l'efecte contrari ja que s'observa un augment de la toxicitat. Es conclou per tant d'aquest anàlisi que de manera general l'espaiador 1,4-fenilbisetilènic aporta millors valors d'activitat anti-VIH que quan es tracta d'un espaiador 1,4-fenilbismetilènic.

Com es pot observar, en la Taula 1.11 es representen compostos amb 5 metilens a cada banda del fenil central de la molècula però amb una distribució diferent. D'una banda els compostos **39** –sintetitzats per M. Corredor<sup>[3]</sup>– amb espaiador 1,4-fenilbismetilènic i cadena alquílica entre nitrògens tetrametilènica i de l'altra els compostos **41** amb espaiador 1,4-fenilbisetilènic i cadena trimetilènica.

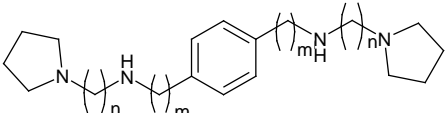
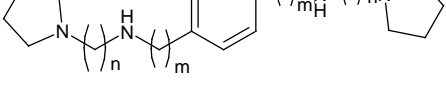
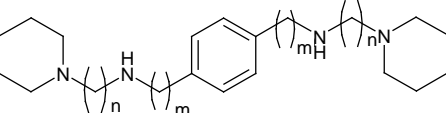
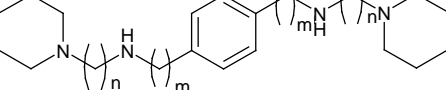
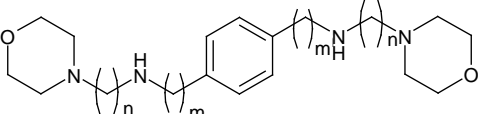
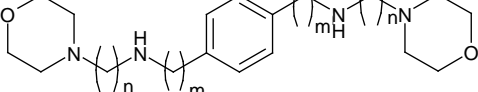
**Taula 1.11:** Activitat anti-VIH ( $EC_{50}$ ) i citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) expressats en  $\mu\text{g/mL}$  dels compostos **39** i **41**

Estructura	Nom	m	n	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$CC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
	<b>39{5}</b>	1	4	0.298	>25
	<b>41{5}</b>	2	3	0.042	47
	<b>39{3}</b>	1	4	0.336	>25
	<b>41{3}</b>	2	3	0.032	52

Si es comparen els compostos per parelles que contenen la mateixa amina terciària, s'observa com en ambdós casos els compostos **41** milloren l'activitat d'un ordre de magnitud. Per tant es conclou d'aquest estudi que és més efectiu de cara a millorar l'activitat allargar la molècula per la banda de l'espaiador que allargar la cadena d'unió entre nitrògens.

Per últim, es comparen els compostos amb 4 metilens a cada banda del fenil central de la molècula però situats de manera diferent. Per una banda els compostos **3** sintetitzats per S. Pettersson,<sup>[2]</sup> amb un espaiador 1,4-fenilbismetilènic i una cadena trimetilènica entre els dos nitrògens, i per una altra banda els compostos **41**, amb un espaiador 1,4-fenilbisetilènic i una cadena etilènica entre els dos nitrògens (Taula 1.12).

**Taula 1.12:** Activitat anti-VIH ( $EC_{50}$ ) i citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) expressats en  $\mu\text{g/mL}$  dels compostos **3** i **41**

Estructura	Nom	m	n	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$CC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
	<b>3{1}</b>	1	3	0.9	32.4
	<b>41{2}</b>	2	2	0.51	70
	<b>3{5}</b>	1	3	0.14	>25
	<b>41{7}</b>	2	2	0.1	50
	<b>3{4}</b>	1	3	>125	>125
	<b>41{8}</b>	2	2	>125	>125

Analitzant la Taula 1.12, si es comparen els compostos per parelles amb la mateixa amina terciària, s'observa que el valor d'activitat en tots tres casos es manté en el mateix ordre de magnitud. Per tant d'aquest estudi es conclou que si l'estructura conté 4 metilens a cada banda del fenil central de la molècula, no té cap incidència sobre l'activitat la forma en la que es situïn.

En resum, es conclou que de manera general es millora l'activitat si es substitueix l'espaiador 1,4-fenilenbismetilènic per un espaiador 1,4-fenilenbisetilènic. També es confirma que una cadena trimetilènica entre les dues amines afavoreix l'activitat. Es conclou també que en molècules llargues, -és a dir amb 5 metilens a cada banda del fenil central de la molècula- són més actives les que contenen un espaiador 1,4-fenilenbisetilènic amb una cadena d'unió entre nitrògens trimetilènica que les que estan formades per un espaiador 1,4-fenilenbismetilènic i una cadena tetrametilènica entre nitrògens. Per últim es conclou que per estructures amb 4 metilens a cada costat del fenil central de la molècula, es conserva el valor d'activitat entre les estructures formades amb un espaiador 1,4-fenilenbismetilènic i una cadena d'unió entre nitrògens trimetilènica, i les estructures formades per un espaiador 1,4-fenilenbisetilènic i un cadena entre nitrògens etilènica.



## Bibliografia

- [1] S. Pettersson, V. I. Perez-Nueno, L. Ros-Blanco, R. Puig de La Bellacasa, M. O. Rabal, X. Batllori, B. Clotet, I. Clotet-Codina, M. Armand-Ugon, J. Este, J. I. Borrell, J. Teixido. Discovery of novel non-cyclam polynitrogenated CXCR4 coreceptor inhibitors. *ChemMedChem*, **2008**, 3 (10), p. 1549-1557.
- [2] S. Pettersson. Diseño, selección y síntesis de nuevos inhibidores de entrada del VIH. Tesi doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2009**.
- [3] M. Corredor. Obtenció i optimització de caps de sèrie com inhibidors d'entrada del VIH. Treball final de carrera. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2009**.
- [4] R. D. Crouch, M. S. Holden, C. A. Romany. The Darzens condensation: structure determination through spectral analysis and understanding substrate reactivity. *J. Chem. Educ.*, **2004**, 81 (5), p. 711-712.
- [5] T. W. Greene, P. G. M. Wuts. Protection for the amino group. A: Protective groups in organic synthesis. 2<sup>o</sup> edition. Wiley Interscience. **1991**. p. 309-405.
- [6] J. G. Cannon, C. D. True, J. P. Long, R. K. Bhatnagar, P. Leonard, J. R. Flynn. Introduction of a putative dopaminergic prodrug moiety into a 6,7-substitution pattern characteristic of certain 2-aminotetralin dopaminergic agonists. *J Med Chem*, **1989**, 32 (9), p. 2210-2214.
- [7] H. Jian, J. M. Tour. Preparative Fluorous Mixture Synthesis of Diazonium-Functionalized Oligo(phenylene vinylene)s. *J. Org. Chem.*, **2005**, 70 (9), p. 3396-3424.
- [8] S. V. Pansare, J. C. Vederas. Reaction of  $\beta$ -hydroxy  $\alpha$ -amino acid derivatives with (diethylamino)sulfur trifluoride (DAST). Synthesis of  $\beta$ -fluoro  $\alpha$ -amino acids. *J. Org. Chem.*, **1987**, 52 (21), p. 4804-4810.
- [9] B. S. Jursic, Z. Zdravkovski. A simple preparation of amides from acids and amines by heating of their mixture. *Synth. Commun.*, **1993**, 23 (19), p. 2761-2770.
- [10] E. Valeur, M. Bradley. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, 38 (2), p. 606-631.
- [11] S. G. Nelson. Product class 1: acid halides. *Sci. Synth.*, **2006**, 20a, p. 15-52.
- [12] J. R. Vaughan Jr., R. L. Osato. Preparation of peptides using mixed carbonic-carboxylic acid anhydrides. *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 74, p. 676-678.
- [13] F. X. Tavares, K. A. Al-Barazanji, M. J. Bishop,. 6-(4-Chlorophenyl)-3-substituted-thieno[3,2-d]pyrimidin-4(3H)-one-Based Melanin-Concentrating Hormone Receptor 1 Antagonist. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49 (24), p. 7108-7118.
- [14] I. Roufos, S. J. Hays, D. J. Dooley, R. D. Schwarz, G. W. Campbell, A. W. Probert Jr. Synthesis and pharmacological evaluation of phenylacetamides as sodium-channel blockers. *J. Med. Chem.*, **1994**, 37 (2), p. 268-274.
- [15] R. Adams, L. H. Ulich. The use of oxalyl chloride and bromide for producing acid chlorides, acid bromides or acid anhydrides. III. *J. Am. Chem. Soc.*, **1920**, 42, p. 599-611.

- [16] M. N. Jo, H. J. Seo, Y. Kim, S. H. Seo, H. Rhim, Y. S. Cho, J. H. Cha, H. Y. Koh, H. Choo, A. N. Pae. Novel T-type calcium channel blockers: Dioxoquinazoline carboxamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15* (1), p. 365-373.
- [17] L. A. Valitova, E. V. Popova, S. N. Ibragimov, B. E. Ivanov. Interaction of phosphorous trichloride with carboxylic acids. *Russ. Chem. Bull.*, **1990**, *39* (2), p. 428-432.
- [18] I. Andreu, I. M. Morera, F. Bosca, L. Sanchez, P. Camps, M. A. Miranda. Cholesterol-diaryl ketone stereoisomeric dyads as models for "clean" type I and type II photooxygenation mechanisms. *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, *6* (5), p. 860-867.
- [19] R. Appel. Tertiary phosphane/tetrachloromethane, a versatile reagent for chlorination, dehydration, and phosphorus-nitrogen linking. *Angew. Chem.*, **1975**, *87* (24), p. 863-874.
- [20] J. B. Lee. Preparation of acyl halides under very mild conditions. *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88* (14), p. 3440-3441.
- [21] U. Schmidt, M. Kroner, U. Beutler. Amino acids and peptides. 67. Easy preparation and use of benzyloxycarbonyl derivatives of amino acid chlorides and  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acid chlorides. *Synthesis*, **1988** (6), p. 475-477.
- [22] L. Cotarca, H. Eckert. Phosgenations - A handbook. Weinheim. Wiley-VCH. **2003**. p. 670.
- [23] K. Venkataraman, D. R. Wagle. Cyanuric chloride: a useful reagent for converting carboxylic acids into chlorides, esters, amides and peptides. *Tetrahedron Lett.*, **1979** (32), p. 3037-3040.
- [24] A. Bencini, V. Fusi, C. Giorgi, M. Micheloni, N. Nardi, B. Valtancoli. Aza-macrocycles bearing lipophilic functions. Their synthesis and selective lithium complexation. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1996** (11), p. 2297-2302.
- [25] H. Stetter, L. Marx-Moll, H. Rutzen. Macrocyclic ring systems V. Macrocyclic diamides, starting from aromatic dicarboxylic acids. *Chem. Ber.*, **1958**, *91*, p. 1775-1781.
- [26] J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers. Nucleophilic substitution at the carbonyl (C=O) group. 12. A: Organic Chemistry. 1<sup>a</sup>. Oxford:Oxford University Press. 2001. p. 279.
- [27] M. L. Falck-Pedersen, K. Undheim. Asymmetric synthesis of phenylbis(glycines). *Tetrahedron*, **1996**, *52* (22), p. 7761-7770.
- [28] C. A. Bruynes, T. K. Jurriens. Catalysts for silylations with 1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazane. *J. Org. Chem.*, **1982**, *47* (20), p. 3966-3969.
- [29] W. Mormann, G. Leukel. A simple and versatile synthesis of trimethylsiloxy-substituted isocyanates. *Synthesis*, **1988** (12), p. 990-992.
- [30] D. R. Knapp. Handbook of analytical derivatization reactions. **1979**. p. 768.
- [31] S. H. Langer, S. Connell, I. Wender. Preparation and properties of trimethylsilyl ethers and related compounds. *J. Org. Chem.*, **1958**, *23*, p. 50-58.
- [32] A. Wissner, C. V. Grudzinskas. Reaction of tert-butyltrimethylsilyl esters with oxalyl chloride-dimethylformamide: preparation of carboxylic acid chlorides under neutral conditions. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43* (20), p. 3972-3974.

- [33] M. Yoshihara, T. Eda, K. Sakaki, T. Maeshima. Conversion of alcohols to alkyl halides using iminium salts. *Synthesis*, **1980** (9), p. 746-748.
- [34] J. Zabicky. Synthesis of Amides. 2. A: The Chemistry of Amides (The Chemistry of Functional Groups). **1970**. p. 73.
- [35] C. Schotten. Oxidation of piperidine. *Ber.*, **1884**, 17, p. 2544-2547.
- [36] E. Baumann. Preparation of derivatives of carbohydrates. *Ber.*, **1886**, 19, p. 3218-3222.
- [37] W. Reeve, W. M. Eareckson III. Synthesis of some isoquinoline derivatives related to podophyllotoxin. *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, p. 5195-5197.
- [38] J. H. Billman, E. E. Parker. Amino acids. III.  $\alpha$ -Aminobutyric acid and  $\alpha$ -aminoisobutyric acid. *J. Am. Chem. Soc.*, **1944**, 66, p. 538-539.
- [39] D. Cook. The infrared spectra of *N*-acyltrialkylammonium halides, in relation to those of amide salts. *Can. J. Chem.*, **1962**, 40, p. 2362-2368.
- [40] H. Adkins, Q. E. Thompson. Diacylation of water and of hydrogen sulfide with acyl chloride-pyridine compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, p. 2242-2244.
- [41] W. T. Brady, G. A. Scherubel. Halogenated ketenes. XXVII. Mechanism of the dehydrohalogenation of  $\alpha$ -halo acid halides. *J. Org. Chem.*, **1974**, 39 (25), p. 3790-3791.
- [42] W. T. Brady, G. A. Scherubel. Halogenated ketenes. XXIII. Mechanism of the dehydrohalogenation of acid halides. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1973**, 95 (22), p. 7447-7449.
- [43] J. V. Paukstelis, M. Kim. *N*-Acyl-*N,N,N*-trialkylammonium fluoroborates. Synthesis and reactions. *J. Org. Chem.*, **1974**, 39 (11), p. 1503-1507.
- [44] H. M. Walborsky. Dimethyleneketene: an attempted synthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 74, p. 4962-4963.
- [45] J. E. Lynch, S. M. Riseman, W. L. Laswell, R. P. Volante, G. B. Smith, I. Shinkai, D. M. Tschaen. Mechanism of an acid chloride-imine reaction by low-temperature FT-IR:  $\beta$ -lactam formation occurs exclusively through a ketene intermediate. *J. Org. Chem.*, **1989**, 54 (16), p. 3792-3796.
- [46] S. Patai. The chemistry of ketenes, allenes and related compounds. John Wiley & Sons. **1980**.
- [47] H. Staudinger. Die ketene. Stuttgart. Verlag Enke. **1912**.
- [48] K. Sung, T. T. Tidwell. Amination of Ketene: A Theoretical Study. *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120 (13), p. 3043-3048.
- [49] G. Raspoet, M. T. Nguyen, S. Kelly, A. F. Hegarty. Amination of Ketenes: Evidence for a Mechanism Involving Enols of Amides as Intermediates. *J. Org. Chem.*, **1998**, 63 (26), p. 9669-9677.
- [50] A. D. Allen, T. T. Tidwell. Amination of Ketenes: Kinetic and Mechanistic Studies. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64 (1), p. 266-271.

- [51] N. C. de Lucas, J. C. Netto-Ferreira, J. Andraos, J. C. Scaiano. Nucleophilicity toward Ketenes: Rate Constants for Addition of Amines to Aryl Ketenes in Acetonitrile Solution. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66 (15), p. 5016-5021.
- [52] C. K. Kim, K. A. Lee, J. Chen, H. W. Lee, B. Lee, C. K. Kim. Theoretical studies on the addition reactions of ketene with NH<sub>3</sub> in the gas phase and in non-aqueous solutions. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2008**, 29 (7), p. 1335-1343.
- [53] S. V. Gonzalez, P. Carlsen. Tartaric acid amides by the Gabriel route. *Eur. J. Org. Chem.*, **2007** (21), p. 3495-3502.
- [54] L. Zhang, X. Wang, J. Wang, N. Grinberg, D. K. Krishnamurthy, C. H. Senanayake. An improved method of amide synthesis using acyl chlorides. *Tetrahedron Lett.*, **2009**, 50 (24), p. 2964-2966.
- [55] L. Routaboul, N. Vanthuynne, S. Gastaldi, G. Gil, M. Bertrand. Highly Efficient Photochemically Induced Thiyl Radical-Mediated Racemization of Aliphatic Amines at 30 °C. *J. Org. Chem.*, **2008**, 73 (2), p. 364-368.
- [56] A. D. Brown, M. E. Bunnage, P. A. Glossop, K. James, C. A. L. Lane, R. A. Lewthwaite, G. Lunn, D. A. Price. Compounds having beta-agonist activity. World patent WO 2005/092841 (filing date:10/05/2005)
- [57] A. A. Núñez Magro, G. R. Eastham, D. J. Cole-Hamilton. The synthesis of amines by the homogeneous hydrogenation of secondary and primary amides. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)*, **2007** (30), p. 3154-3156.
- [58] K. Matsubara, T. Iura, T. Maki, H. Nagashima. A Triruthenium Carbonyl Cluster Bearing a Bridging Acenaphthylene Ligand: An Efficient Catalyst for Reduction of Esters, Carboxylic Acids, and Amides by Trialkylsilanes. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67 (14), p. 4985-4988.
- [59] R. Kuwano, M. Takahashi, Y. Ito. Reduction of amides to amines via catalytic hydrosilylation by a rhodium complex. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39 (9), p. 1017-1020.
- [60] M. Igarashi, T. Fuchikami. Transition-metal complex-catalyzed reduction of amides with hydrosilanes: a facile transformation of amides to amines. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42 (10), p. 1945-1947.
- [61] H. Sasakuma, Y. Motoyama, H. Nagashima. Functional group-selective poisoning of molecular catalysts: a ruthenium cluster-catalysed highly amide-selective silane reduction that does not affect ketones or esters. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)*, **2007** (46), p. 4916-4918.
- [62] S. Hanada, Y. Motoyama, H. Nagashima. Dual Si-H effects in platinum-catalyzed silane reduction of carboxamides leading to a practical synthetic process of tertiary amines involving self-encapsulation of the catalyst species into the insoluble silicone resin formed. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47 (35), p. 6173-6177.
- [63] A. C. Fernandes, C. C. Romao. Reduction of amides with silanes catalyzed by MoO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2007**, 272 (1-2), p. 60-63.
- [64] N. Sakai, K. Fujii, T. Konakahara. One-step conversion to tertiary amines: InBr<sub>3</sub>/Et<sub>3</sub>SiH-mediated reductive deoxygenation of tertiary amides. *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49 (48), p. 6873-6875.

- [65] K. Selvakumar, K. Rangareddy, J. F. Harrod. The titanocene-catalyzed reduction of acetamides to tertiary amines by  $\text{PhMeSiH}_2$ . *Can. J. Chem.*, **2004**, *82* (8), p. 1244-1248.
- [66] S. Zhou, K. Junge, D. Addis, S. Das, M. Beller. A convenient and general iron-catalyzed reduction of amides to amines. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, *48* (50), p. 9507-9510, S9507/1-S9507/124.
- [67] S. Hanada, T. Ishida, Y. Motoyama, H. Nagashima. The ruthenium-catalyzed reduction and reductive N-alkylation of secondary amides with hydrosilanes: practical synthesis of secondary and tertiary amines by judicious choice of hydrosilanes. *J. Org. Chem.*, **2007**, *72* (20), p. 7551-7559.
- [68] X. He, L. P. Raymon, M. V. Mattson, M. E. Eldefrawi, B. R. de Costa. Further studies of the structure-activity relationships of 1-[1-(2-benzo[b]thienyl)cyclohexyl]piperidine. Synthesis and evaluation of 1-(2-benzo[b]thienyl)-N,N-dialkylcyclohexylamines at dopamine uptake and phencyclidine binding sites. *J. Med. Chem.*, **1993**, *36* (25), p. 4075-4081.
- [69] B. R. De Costa, C. Dominguez, X. S. He, W. Williams, L. Radesca, W. Bowen. Synthesis and biological evaluation of conformationally restricted 2-(1-pyrrolidiny)-N-[2-(3,4-dichlorophenyl)ethyl]-N-methylethylenediamines as  $\sigma$  receptor ligands. 1. Pyrrolidine, piperidine, homopiperidine, and tetrahydroisoquinoline classes. *J. Med. Chem.*, **1992**, *35* (23), p. 4334-4343.
- [70] V. M. Micovic, M. L. Mihailovic. The reduction of acid amides with lithium aluminum hydride. *J. Org. Chem.*, **1953**, *18*, p. 1190-1200.
- [71] B. M. Trost, V. S. C. Yeh, H. Ito, N. Bremeyer. Effect of Ligand Structure on the Zinc-Catalyzed Henry Reaction. Asymmetric Syntheses of (-)-Denopamine and (-)-Arbutamine. *Org. Lett.*, **2002**, *4* (16), p. 2621-2623.
- [72] A. Kamal, A. A. Shaik, M. Sandbhor, M. S. Malik. Chemoenzymatic synthesis of (R)- and (S)-tembamide, aegeline and denopamine by a one-pot lipase resolution protocol. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, *15* (24), p. 3939-3944.
- [73] T. Masuko, T. Kusama, H. Nagaoka, K. Metori, Y. Kizawa, M. Miyake. Synthesis of a novel water-soluble NMDA receptor antagonist. *J. Heterocycl. Chem.*, **2008**, *45* (2), p. 383-387.
- [74] H. C. Brown, Y. M. Choi, S. Narasimhan. Selective reductions. 29. A simple technique to achieve an enhanced rate of reduction of representative organic compounds by borane-dimethyl sulfide. *J. Org. Chem.*, **1982**, *47* (16), p. 3153-3163.
- [75] H. C. Brown, P. Heim. Selective reductions. XVIII. Fast reaction of primary, secondary, and tertiary amides with diborane. Simple, convenient procedure for the conversion of amides to the corresponding amines. *J. Org. Chem.*, **1973**, *38* (5), p. 912-916.
- [76] B. I. Martínez. Síntesis y actividad biológica de análogos del ácido 5,10-dideaza-5,6,7,8-tetrahidrofólico (DDATHF). Tesis doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **1997**.
- [77] J. L. Matallana. Síntesi i activitat biològica d'anàlegs 7-oxo substituïts de l'àcid 5,10-dideaza-5,6,7,8-tetrahidrofólic (DDATHF). Tesis doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **1998**.

- [78] R. M. Adams, L. M. Braun, R. A. Braun, H. R. Crissman, M. Opperman. Dimethyl sulfide-borane. Convenient hydroborating agent. *J. Org. Chem.*, **1971**, 36 (16), p. 2388-2389.
- [79] C. F. Lane. Reduction of amino acids in the presence of boron trifluoride. United States patent 393528 (filing date 10/01/1975).
- [80] P. K. Patra, K. Nishide, K. Fuji, M. Node. Dod-S-Me and methyl 6-morpholinohexyl sulfide (MMS) as new odorless borane carriers. *Synthesis*, **2004** (7), p. 1003-1006.
- [81] H. C. Kelly, V. B. Marriott. Reexamination of the mechanism of acid-catalyzed amine-borane hydrolysis. The hydrolysis of ammonia-borane. *Inorg. Chem.*, **1979**, 18 (10), p. 2875-2878.
- [82] F. Denizot, R. Lang. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods*, **1986**, 89 (2), p. 271-277.
- [83] I. Clotet-Codina. Determinació de l'activitat antiviral de nous compostos inhibidors del VIH-1. Tesi doctoral. Laboratori de Retrovirologia. Fundació irsiCaixa. Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona, **2007**.

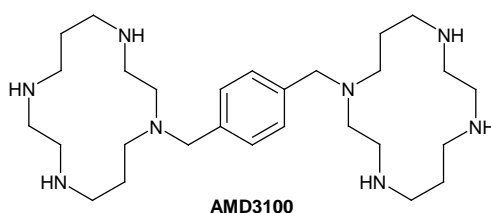
## **Capítol 2: Síntesi d'inhibidors d'entrada anàlegs a l'AMD3100**





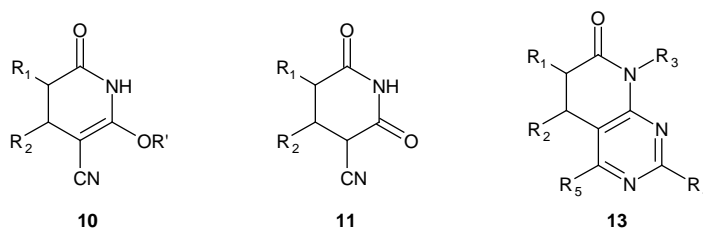
## 2.1. Disseny de sistemes bispiridònics, bisglutarimídics i bispirido[2,3-*d*]pirimidínics anàlegs de l'AMD3100

L'AMD3100 (Figura 2.1), desenvolupat per AnorMED, és un antagonista no peptídic del coreceptor de membrana cel·lular CXCR4.<sup>[1]</sup> La seva estructura es basa en dues unitats de 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecà (ciclám) unides per un espaiador *p*-fenilbismetilènic. Tot i mostrar una activitat anti-VIH molt bona ( $EC_{50} = 0.001 \mu\text{g/mL}$ ), l'AMD3100 no presenta biodisponibilitat oral degut a la seva elevada càrrega positiva a pH fisiològic que li provoca també un efecte de cardiotoxicitat.<sup>[2]</sup> Per tant, es presenta la necessitat de generar anàlegs de l'AMD3100 que solucionin aquests desavantatges.



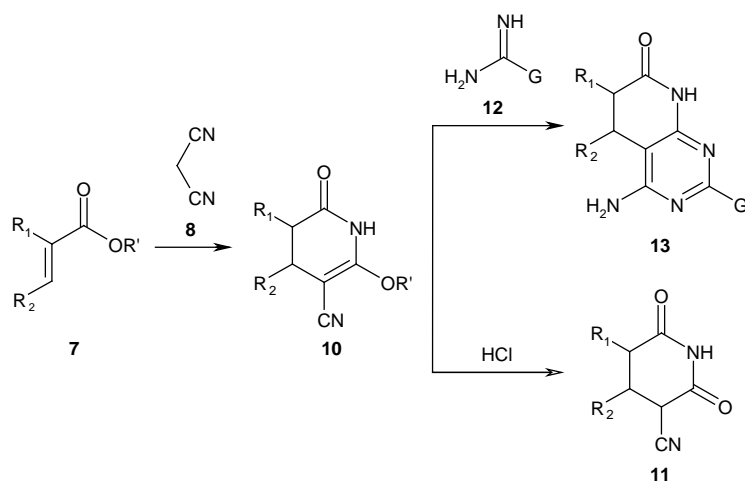
**Figura 2.1:** Estructura de l'AMD3100

Degut a què en el Grup d'Enginyeria Molecular (GEM) de l'IQS es té una llarga experiència en estructures piridòniques **10**, glutarimídiques **11** i pirido[2,3-*d*]pirimidíniques **13** (Figura 2.2), es va pensar en substituir les unitats de ciclám per aquest tipus d'estructures heterocícliques.



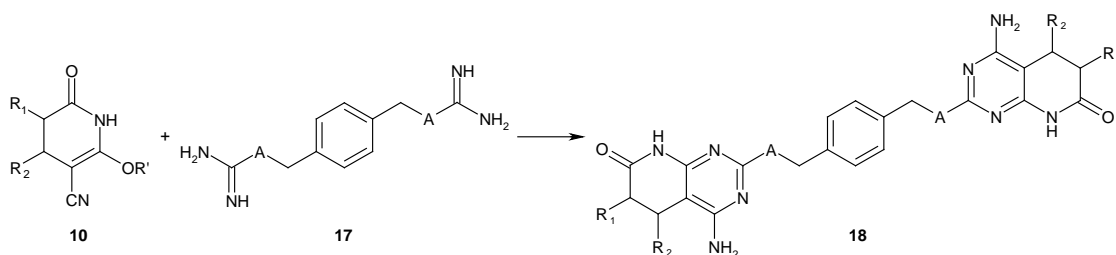
**Figura 2.2:** Estructures generals d'esquelets de piridona **10**, glutarimida **11** i pirido[2,3-*d*]pirimidina **13**

L'esquelet piridònic presentat en la Figura 2.2 es va sintetitzar per primera vegada l'any 1978 per P. Victory i J. Diago.<sup>[3,4]</sup> Una vegada obtingut l'esquelet piridònic **10**, aquest serveix de reactiu de partida de les dues altres estructures. Mentre que la glutarimida **11** s'obté després d'un tractament àcid aquós,<sup>[3,4]</sup> l'estructura pirido[2,3-*d*]pirimidínica **13** es forma en afegir-hi una guanidina (**12**) (Figura 2.3).<sup>[5]</sup>



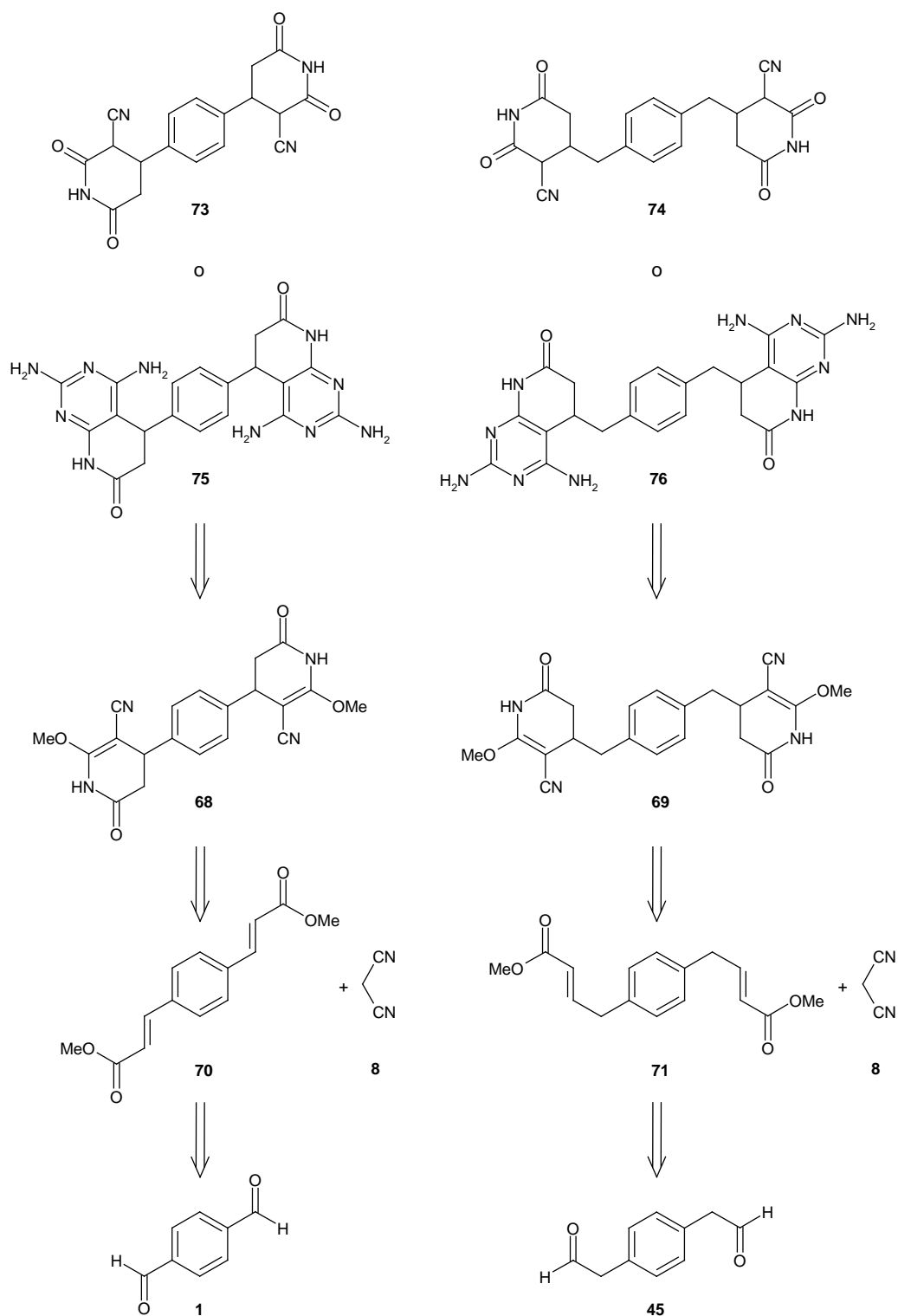
**Figura 2.3:** Formació d'estructures pirido[2,3-d]pirimidíniques **13** i glutarimídiques **11** a partir de piridones **10**

A més, paral·lelament, en el grup s'han desenvolupat algunes estructures bispirido[2,3-d]pirimidíniques **18** a partir d'esquelets piridònics **10** en les que s'uneixen les pirido[2,3-d]pirimidines per la posició 2 per un espaiador *p*-fenilènbismetilènic (Figura 2.4).<sup>[6]</sup>



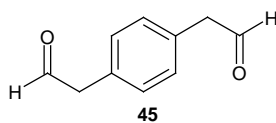
**Figura 2.4:** Síntesi de sistemes bispirido[2,3-d]pirimidínics **18**, on A = NH, S; R<sub>1</sub> = H, Me i R<sub>2</sub> = H, Me, Ph<sup>[6]</sup>

A diferència de l'estructura general **18** mostrada en la Figura 2.4, en les quals el sistema pirido[2,3-d]pirimidínic s'uneix a l'espaiador *p*-fenilènic a través d'un heteroàtom en C2 d'aquest sistema, en el present treball es volen sintetitzar estructures bispiridòniques **68** i **69** (Figura 2.5) en les que el sistema piridònic s'uneix a través de la posició C4 de la piridona. Els espaiadors que s'usen per realitzar aquestes molècules són *p*-fenilènic i *p*-fenilbismetilènic. Es presenten en la Figura 2.5 les estructures bispiridòniques objectiu **68** i **69** i la seva anàlisi retrosintètica que consisteix en la desconexió d'aquestes en èsters  $\alpha,\beta$ -insaturats **70** i **71** i malononitril (**8**). Una segona desconexió es du a terme sent els reactius de partida de la síntesi els bisaldehids **1** i **45**. Cas d'obtenir-se els sistemes bispiridònics **68** i **69**, s'assajarà la seva transformació en els corresponents sistemes bisglutarimídics **73** i **74** i bispirido[2,3-d]pirimidínics **75** i **76**.



**Figura 2.5:** Anàlisi retrosintètica d'obtenció de les estructures bisglutarimídiques **73** i **74**, bispirido[2,3-d]-pirimidíniques **75** i **76**, bispiridòniques **68** i **69**.

## 2.2. Formació d'1,4-fenilendiacetaldehid (45)



**Figura 2.6:** Estructura d'1,4-fenilendiacetaldehid (45)

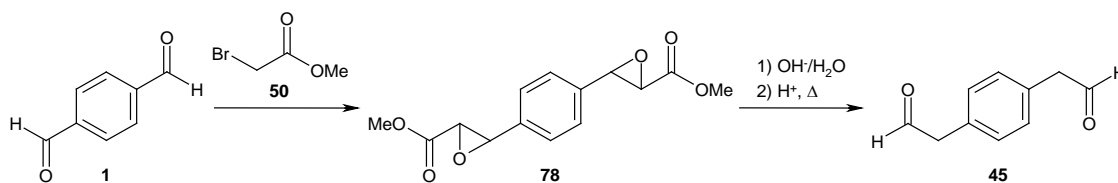
Tal com mostra la Figura 2.5, mentre que per obtenir l'estructura bispiridònica **68** es parteix de tereftalaldehid (**1**), sent aquest comercial, el reactiu de partida de la molècula **69** és l'1,4-fenilendiacetaldehid (**45**), no comercialment disponible. Per tant el primer objectiu és la formació de **45**.

Després d'una primera cerca bibliogràfica, es tenen en compte bàsicament tres maneres d'obtenir **45**:

- Via reacció de Darzens a partir de tereftalaldehid (**1**)
- Via reacció de Wittig a partir de tereftalaldehid (**1**)
- Via oxidació a partir d'1,4-fenilendietanol (**77**)

### 2.2.1. Estudi d'obtenció de d'1,4-fenilendiacetaldehid (45) via reacció de Darzens

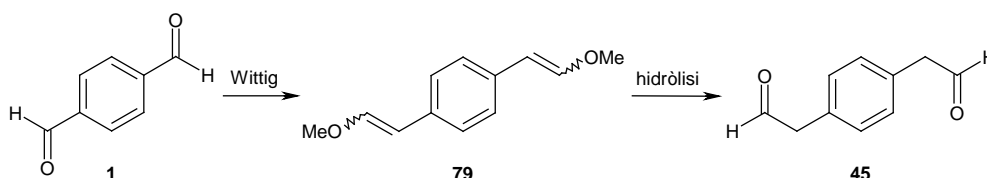
En una primera etapa es formaria l'estructura bisepoxidada **78** a partir de tereftalaldehid (**1**) i un acetat halogenat en  $\alpha$  **50**, per després mitjançant un primer tractament bàsic i d'un segon tractament àcid obtenir el bisaldehid **45** (Figura 2.7). En l'apartat 1.2.1. del Capítol 1, ja es va provar d'augmentar en una baula una posició benzaldehídica però com que no es va obtenir l'esmentada homologació, es descarta aquesta via sintètica per la formació de **45** ja que implicaria una doble Darzens.



**Figura 2.7:** Proposta d'obtenció de **45** via reacció de Darzens

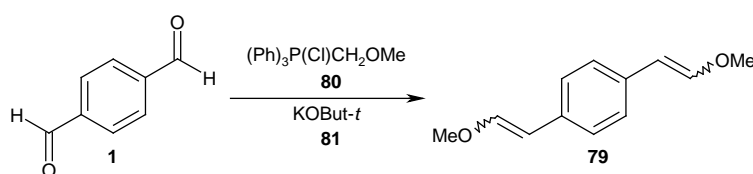
## 2.2.2. Estudi d'obtenció d'1,4-fenilendiacetaldehid (**45**) via reacció de Wittig

Una vegada descartada l'obtenció de **45** a partir de la reacció de Darzens, s'assaja la homologació de tereftalaldehid (**1**) mitjançant la reacció de Wittig. Tal com mostra la Figura 2.8 la metodologia consta de dues etapes: la primera en la que es realitza la reacció de Wittig amb la corresponent obtenció del bisenolèter **79** i la segona en que aquest es desprotegeix.



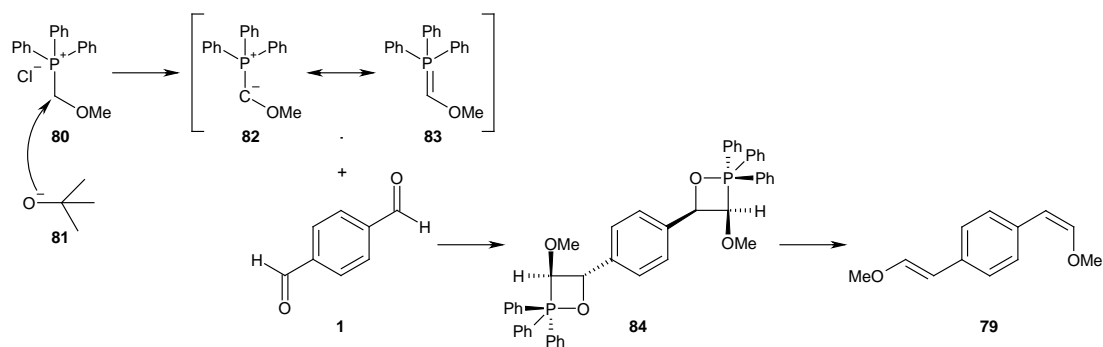
**Figura 2.8:** Ruta sintètica d'obtenció de **45** mitjançant reacció de Wittig

### 2.2.2.1. Formació d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**)



**Figura 2.9:** Reacció d'obtenció d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**)

La síntesi consisteix en barrejar tereftalaldehid (**1**) amb clorur de metoximetiltrifenilfosfina (**80**) emprant com a base *tert*-butòxid potàssic (**81**) en THF anhidre. Primerament, es produeix l'atac de la base, el *tert*-butòxid potàssic (**81**) sobre la metoximetiltrifenilfosfina (**80**) arrencant un dels protons metilènics generant un ilur. Aquest ilur presenta dues formes ressonants: la forma neutre, anomenada fosforà **83** i la forma zwitteriònica, anomenada ilur **82**. Una vegada format l'ilur, aquest reacciona amb el tereftalaldehid (**1**) generant un intermedi oxafofetà **84** que rendeix l'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**) i òxid de trifenilfosfina com a subproducte (Figura 2.10). Depenent de l'estereoquímica amb la que es formi l'oxafofetà **84** en resultarà la isomeria de les insaturacions de **79**. A mode d'exemple, en la Figura 2.10, es mostra la formació de l'isòmer *cis-trans* de **79**.



**Figura 2.10:** Reacció de Wittig a partir de clorur de metoximetiltrifenilfosfina (**80**) i tereftalaldehid (**1**) amb *t*-butòxid potàssic (**81**) com a base. Formació d'isòmers *cis* i *trans* d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**).

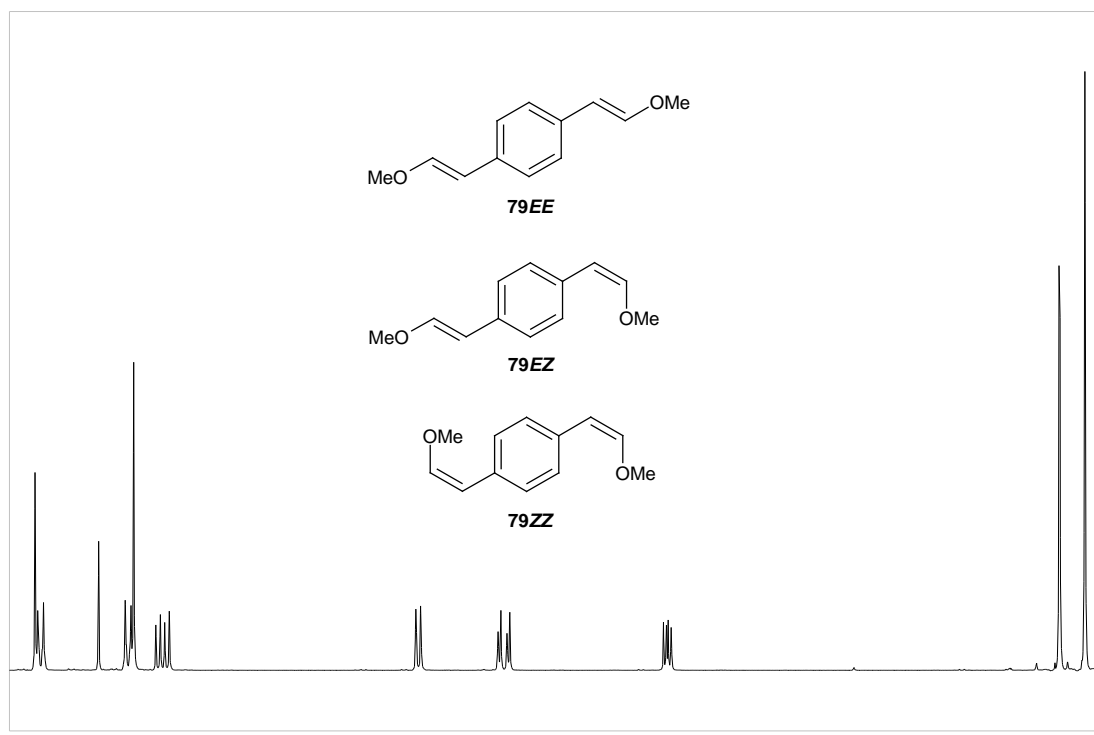
L'estereoquímica resultant de la reacció de Wittig pot ser deguda a molts factors com poden ser: estabilitat de l'ilur, tipus de substrat, dissolvent, la base, cations presents en el medi, tots ells estretament lligats al mecanisme de reacció.<sup>[7-11]</sup> En definitiva, pot existir un control termodinàmic front a cinètic del qual en resulta l'estereoquímica. Durant molt de temps, es va descriure la reacció com un procés iònic<sup>[12]</sup> pel qual es passa per una betaïna com intermedi, com que existien casos d'isomeria que no quedaven explicats amb aquest model, a la literatura es poden trobar propostes d'altres mecanismes (diradicalaris,<sup>[13,14]</sup> o de transferència d'un electró<sup>[13,15]</sup>).<sup>[16]</sup>

Tot i que l'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**) es troba descrit per Campà i col·laboradors, amb un rendiment del 59%,<sup>[17]</sup> es busquen noves condicions de reacció per tal d'aconseguir un major rendiment.<sup>[17]</sup> Es realitza una cerca bibliogràfica d'homologacions de Wittig amb el reactiu clorur de metoximetiltrifenilfosfina (**80**) sobre un aldehyd en posició fenilica, es pot concloure que s'usa hexametildisilazà de potassi (KHMDs) en toluè<sup>[18]</sup> o *t*-butòxid potàssic (**81**) en tetrahidrofuran (THF).<sup>[19-22]</sup> Com que a la literatura s'usa bastant més la segona metodologia presentada, es decideix d'emprar aquesta.

Es du a terme l'obtenció d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**) amb 2 mols de *t*-butòxid potàssic (**81**) i 4.5 mols de clorur de metoximetiltrifenilfosfina (**80**) per cada mol de tereftalaldehid (**1**), amb un rendiment del 94% front al 59% descrit per Campà *et al.*<sup>[17]</sup> Les principals diferències entre la metodologia del present treball i la de Campà *et al.*<sup>[17]</sup> són l'ús d'un major excés de reactiu de Wittig (4.5 mols en comptes de 3 mols per cada mol de tereftalaldehid (**1**)), el dissolvent (THF en comptes de *t*-butanol) i la purificació (es procedeix per separació cromatogràfica sobre sílice com a fase estacionària en comptes d'eliminar l'òxid de trifenilfosfina per cicles de filtració-rentat-concentració).

D'altra banda, en el treball de Campà i col·laboradors, descriuen l'obtenció d'isòmers *E/Z* de manera molt poc precisa segurament degut a que es registra l'espectre de protó a 60 MHz. En canvi, registrant l'espectre a 400 MHz, s'assignen molt millor els

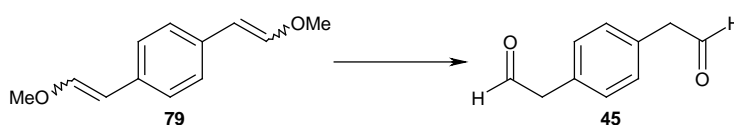
desplaçaments dels senyals i la seva correspondència amb els protons de la molècula. Es mostra en la Figura 2.11, l'espectre resultant de la reacció de Wittig, on es pot observar la mescla dels tres isòmers que es poden formar. La presència de les tres estructures isomèriques és visible, d'una banda, per la presència de dos singlets a 7.49 ppm i 7.13 ppm corresponents als protons aromàtics a les estructures simètriques **79EE**, **79EE**, respectivament, i d'altra banda dos multiplets a 7.47 ppm i 7.15 ppm corresponent a l'estructura **79EZ**. De la relació d'integrals corresponent als protons dels metoxils (3.76 ppm i 3.67 ppm) s'extreu la corresponent relació d'enllaços *cis* i *trans* amb una proporció de 1:1.3 front a la proporció de 1:1.4 descrita per Campà *et al.*<sup>[17]</sup>



**Figura 2.11:** Espectre de  $^1\text{H}$ -RMN on es pot observar que s'obté una mescla de tres isòmer **79EE**, **79EZ** i **79ZZ**.

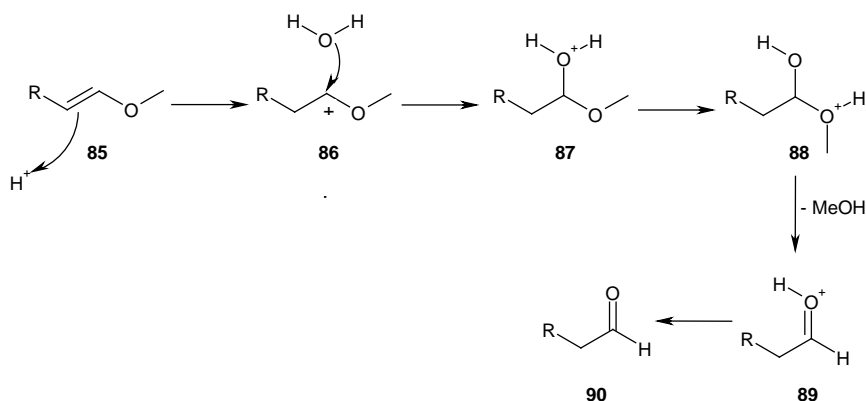
### 2.2.2.2. Hidròlisi d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**)

Una vegada obtingut 1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**), es procedeix a la seva hidròlisi per obtenir la molècula objectiu **45**.



**Figura 2.12:** Formació d'1,4-fenilendiactaldehid (**45**) a partir d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**)

Per hidrolitzar èters enòlics existeixen descrits en la bibliografia múltiples metodologies que usen com a reactius: àcid clorhídric,<sup>[18,23]</sup> àcid perclòric,<sup>[24]</sup> àcid fòrmic,<sup>[20,22]</sup> acetat de mercuri<sup>[17]</sup> o alguna sal de coure<sup>[17]</sup> sota atmosfera inert, entre d'altres.<sup>[25]</sup> Com es pot observar la majoria de metodologies, usen medi àcid per hidrolitzar èters enòlics. Es descriu que la reacció comença per la formació d'un carbocatió **86**, seguit d'un atac d'una molècula d'aigua, per rendir finalment l'aldehid **90** després de l'eliminació d'una molècula de metanol (Figura 2.13).<sup>[26]</sup>



**Figura 2.13:** Mecanisme de la hidròlisi àcida d'un èter enòlic per rendir un aldehid<sup>[26]</sup>

Es proven tres condicions diferents, d'una banda, s'adapta la metodologia de Clive i col·laboradors,<sup>[18]</sup> i es deixa a reflux durant 5 hores una mescla de 23 mols d'HCl aquós per cada mol d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**), dissolts en acetona. En segon lloc s'adapta la metodologia de Treu *et al.*,<sup>[23]</sup> en la que es deixa a reflux durant 5 hores una mescla dissolta en THF de 60 mols d'HCl aquós per cada mol d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**). D'altra banda també, s'agita durant una hora a temperatura ambient una mescla d'HClO<sub>4</sub> i de **79** en proporció 3:1.<sup>[24]</sup> En tots tres casos, una vegada realitzada la reacció, es genera un sòlid insoluble en qualsevol dissolvent, per tant es registra l'espectre de protó de la part soluble. En l'esmentat espectre, a banda de confirmar que la conversió ha estat completa, es poden observar múltiples senyals en la zona corresponent als protons aldehídics (9.5 - 10.5 ppm). La presència d'aquests senyals aniria amb concordança amb l'aparició dels molts productes perceptibles per cromatografia de capa prima. Tot i la formació de múltiples productes, es confirma la presència d'1,4-fenilendiactaldehid (**45**) en el cru de reacció realitzant un espectre de masses, on s'observa un pic a *m/z* 162.1. La formació de tants subproductes i d'un sòlid insoluble, s'explica per una polimerització, segurament via condensació aldòlica intramolecular en medi àcid, de l'1,4-fenilendiactaldehid (**45**) format.<sup>[17]</sup>

Per resoldre aquest problema d'autocondensació aldòlica derivat de l'ús de medi àcid, es decideix hidrolitzar l'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**) en condicions neutres. Es troba descrit per Tokunaga i col·laboradors<sup>[25]</sup> la hidròlisi d'estructures fenilacetadehídiques catalitzada per clorur de coure (II). S'adapta la metodologia esmentada i s'agita durant 2 hores a 40 °C sota



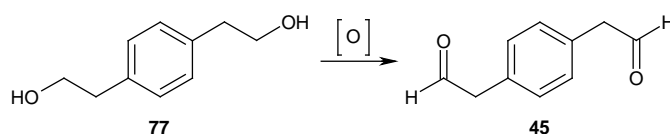
atmosfera inert en solució d'acetonitril una mescla composta de 0.1 mol de  $\text{CuCl}_2$  per cada mol d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**) i 10 mols d'aigua. Una vegada finalitzada la reacció, s'observa la formació d'un sòlid insoluble en qualsevol dissolvent i el mateix perfil d'espectre d' $^1\text{H}$ -RMN que quan es va intentar la hidròlisi en condicions àcides. Es conclou doncs que l'ús d'aquestes condicions neutres també afavoreixen la condensació aldòlica.

Es va efectuar llavors una cerca més exhaustiva del comportament i estabilitat de compostos fenilacetaldhídics i es va trobar descrit en una patent de Kuhn les condicions en les quals el fenilacetaldhid és inestable.<sup>[27]</sup> Segons aquesta patent, a més de la condensació aldòlica ja comentada anteriorment, el fenilacetaldhid pot polimeritzar, generant preferentment estructures tipus 2,4,6-tribenzil-1,3,5-trioxà. Aquesta polimerització es generaria espontàniament en presència d'àcid i en presència de llum ultraviolada. Tot i que no es menciona res sobre l'efecte del clorur de coure (II), si que es cita que tant el clorur d'alumini, com el clorur de ferro i el clorur de zinc provoquen el fenomen de polimerització,<sup>[27]</sup> pel que es pot intuir que la presència de  $\text{CuCl}_2$  provoqui el mateix comportament.

Degut als problemes amb la hidròlisi d'1,4-bis(2-metoxivinil)benzè (**79**), es decideix obtenir el bisaldehyd **45** per alguna altra via sintètica.

### 2.2.3. Obtenció d'1,4-fenilendiacetaldehyd (**45**) via oxidació

Es va pensar en partir d'1,4-fenilendietanol (**77**) i mitjançant una oxidació suau obtenir el bisaldehyd **45** (Figura 2.14)



**Figura 2.14:** Reacció general d'oxidació d'1,4-fenilendietanol (**77**)

A la literatura es descriuen un gran nombre d'agents d'oxidació suaus per aconseguir aldehids a partir d'alcohols primaris. Entre els reactius més comuns es troben: òxid de manganès (IV),<sup>[28-30]</sup> clorocromat de  $\gamma$ -picolina ( $\gamma$ -PCC),<sup>[31,32]</sup> *N*-metilmorfolina-*N*-òxid amb catàlisi de ruteni,<sup>[33]</sup> àcid iòdic amb  $\text{H}_2\text{O}$ , sílica i catàlisi de bromur potàssic,<sup>[34]</sup> oxidació de Swern mitjançant clorur d'oxalil, DMSO i trietilamina,<sup>[35-38]</sup> clorur de pivaloil amb DMSO i trietilamina,<sup>[39]</sup> complex de piridina i triòxid de sofre amb DMSO i *N,N*-diisopropiletilamina,<sup>[40]</sup> periodinà de Dess-Martin,<sup>[41]</sup> alumini,<sup>[42]</sup> coure,<sup>[42]</sup> trietil(metoxi)estannat,<sup>[43]</sup> òxid de vanadi (V),<sup>[44]</sup> i àcid tricloroisocianúric catalitzat per bromur potàssic.<sup>[45][46]</sup> D'aquesta llarga llista es va decidir assajar els reactius inclosos a la Taula 2.1.

**Taula 2.1:** Resum de les diferents reaccions assajades per oxidar 1,4-fenilendietanol (**77**) a 1,4-fenilendiacetaldehid (**45**) on es mostren els reactius usats, les condicions de reacció i el resultat de la reacció. Sota cada reactiu es mostra la proporció afegida front a una unitat d'1,4-fenilendietanol (**77**).

Reactiu	Condicions de reacció	Producte obtingut
<p>A</p> <p style="text-align: center;">O=Mn=O òxid de manganès (IV) 20</p>	<p>CHCl<sub>3</sub> 24 h T<sub>amb</sub></p>	<p style="text-align: center;"><b>91</b></p>
<p>B</p> <p style="text-align: center;">Clorocromat de <math>\gamma</math>-picolina (<math>\gamma</math>-PCC) 3</p>	<p>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 4 h T<sub>amb</sub></p>	
<p>C</p> <p style="text-align: center;">NMO : Dichlorobis(trifenilfosfina) de Ruteni (II) 7 : 0.07</p>	<p>Acetona 24 h T<sub>amb</sub></p>	
<p>D</p> <p style="text-align: center;">àcid iòdic 6</p> <p style="text-align: center;">+ KBr + SiO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O : 0.6 : 0.2 : 2.2</p>	<p>CHCl<sub>3</sub> 4 dies T<sub>amb</sub></p>	No reacciona
<p>E</p> <p style="text-align: center;">Clorur d'oxalil : DMSO : Trietilamina 4 : 8 : 16</p>	<p>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1 h T<sub>amb</sub></p>	Descomposició
<p>F</p> <p style="text-align: center;">Clorur de pivaloil : DMSO : Trietilamina 4 : 6 : 10</p>	<p>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1 h -78 °C → T<sub>amb</sub></p>	
<p>G</p> <p style="text-align: center;">Complex de piridina i SO<sub>3</sub> : DMSO : N,N-diisopropiletilamina 6 : 12 : 6</p>	<p>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 2 h T<sub>amb</sub></p>	<p style="text-align: center;"><b>45</b></p>
<p>H</p> <p style="text-align: center;">Periodinà de Dess-Martin 3</p>	<p>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 4 h T<sub>amb</sub></p>	

Com es pot observar en la Taula 2.1, en totes les reaccions on intervé algun metall (Mn (A), Cr (B) i Ru (C)) no en resulta el producte oxidat desitjat **45** sinó que s'obté el terme de ruptura oxidativa **91**. En tots tres casos es produeix una ruptura de l'enllaç benzílic de només d'una banda de l'espaiador -tot i posar el reactiu oxidant en excés- tal com mostra la Taula 2.1. Aquest fenomen es troba descrit en el treball de Fernandes i col·laboradors.<sup>[31]</sup>

Amb la metodologia A, tot i emprar un excés de 20 vegades (10 per grup hidroxil) d'òxid de manganès (IV), la reacció no acaba de ser completa obtenint una mescla de reactiu de partida **77** i de 4-(2-hidroxietil)benzaldehyd (**91**) en proporció 3:1. En canvi, amb les metodologies B i C la conversió és completa. En el cas de la metodologia C, s'aconsegueix aïllar el compost **91** després d'una separació cromatogràfica emprant sílice com a fase estacionària i una mescla d'hexà/acetat d'etil amb una rampa de concentració de 100:0 a 0:100 en 35 minuts.

Es caracteritza **91** obtenint els següents espectres (Figura 2.15): <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 9.98 (s, 1H, C1-H), 7.83 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C3-H), 7.41 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C4-H), 3.92 (t, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C7-H), 2.96 (t, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C6-H). <sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 191.9 (C1), 146.1 (C5), 134.9 (C2), 130.0 (C3 o C4), 129.7 (C3 o C4), 63.1 (C7), 39.3 (C6).



**Figura 2.15:** Espectre de <sup>1</sup>H-RMN i de <sup>13</sup>C-RMN de 4-(2-hidroxietil)benzaldehyd (**91**)

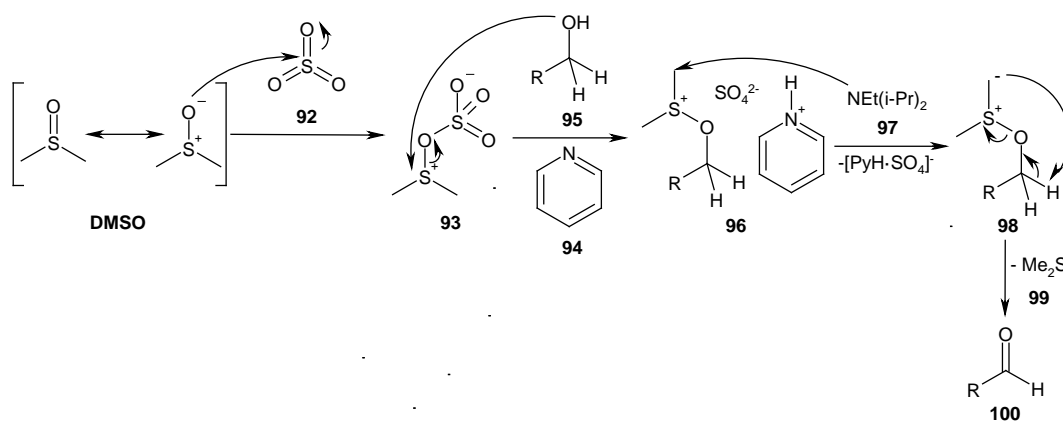
L'obtenció de **91** només es troba descrita per Ackerley i col·laboradors,<sup>[47]</sup> mitjançant un itinerari en tres etapes amb un rendiment global del 38 % mentre que en el present treball s'ha aconseguit sintetitzar aquest compost amb un única etapa de reacció amb un rendiment del 70%.

Mentre que la metodologia D que usa àcid iòdic com a oxidant no evoluciona, recuperant-se el reactiu de partida **77**, en les metodologies en que s'usa clorur d'àcid i DMSO com a oxidant (E, F), sí que es consumeix el reactiu però es produeix la descomposició de **77**, similarmet al que es troba descrit en la literatura per estructures similars.<sup>[48]</sup>

En canvi sí que es forma l'1,4-fenilendiacetaldehid (**45**) emprant les metodologies G i H, encara que quan es prova de purificar el producte per cromatografia de columna amb sílice com a fase estacionària, no s'aconsegueix aïllar aquest segurament degut a l'autocondensació o polimerització a causa del caràcter àcid de la sílice. Tot i així, es poden identificar en l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN els senyals que pertanyen a **45**: <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 9.76 (t, <sup>3</sup>J = 2.2 Hz, 2H, CHO), 7.23 (s, 4H, Ar-H), 3.70 (d, <sup>3</sup>J = 2.2 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>), encara que la descripció no s'acaba d'ajustar a la de Campà i col·laboradors,<sup>[17]</sup> probablement degut a que s'ha registrat el producte sense purificar.

Davant l'impossibilitat de purificar **45**, es decideix fer-ne ús directament en l'etapa sintètica posterior. De les dues metodologies amb les quals s'obté el producte desitjat **45**, es decideix usar preferentment l'oxidació de Parikh-Doering (G) en comptes de l'oxidació de Dess-Martin (H), degut a la percepció en l'espectre de protó d'una major puresa del cru de reacció.

L'oxidació de Parikh-Doering va ser descrita per primera vegada l'any 1967<sup>[49]</sup> i consisteix en un primer terme en la reacció entre DMSO i triòxid de sofre (**92**) per formar l'intermedi **93**. Aquest intermedi rep un atac nucleòfil de l'alcohol **95** del substrat per rendir l'intermedi alcoxisulfònic **96** on la càrrega queda contrarestada pel sulfat -resultant de la reacció anterior- coordinat amb el catió de piridini. Tot seguit la *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) (**97**) arrenca un protó d'un dels metils de l'intermedi **96** i es genera l'ilur **98**. Finalment, es produeix la descomposició de l'ilur **98** rendint l'aldehid **100** i dimetilmercaptà (**99**) (Figura 2.16).

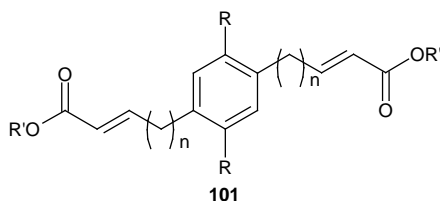


**Figura 2.16:** Mecanisme de reacció de l'oxidació de Parikh-Doering

Una vegada obtingut el dialdehid **45** amb aquesta metodologia, ja es pot procedir a la següent etapa de síntesi que consisteix en la formació del dièster  $\alpha,\beta$ -insaturat **71**.

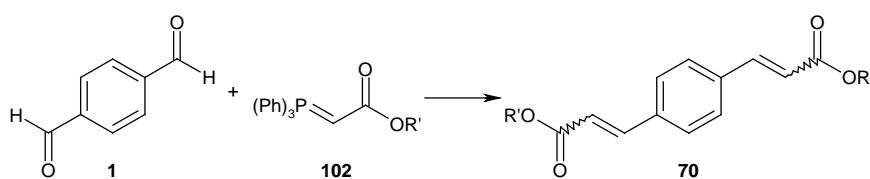
## 2.3. Síntesi de dièsters $\alpha,\beta$ -insaturats **101**

Una vegada garantida la disponibilitat dels bisaldehids de partida **1** i **45**, el primer comercialment disponible i el segon sintèticament, es procedeix a formar els seus èsters  $\alpha,\beta$ -insaturats **101** (Figura 2.18).



**Figura 2.18:** Estructura general dels èsters  $\alpha,\beta$ -insaturats **101**, on  $R' = \text{Me, Et}$ ,  $R = \text{H, hexiloxi}$  i  $n = 0, 1$

### 2.3.1. Síntesi de 3,3'-(1,4-fenilen)bis(2-propenoat) de dimetil (**70{1}**) i de dietil (**70{2}**)



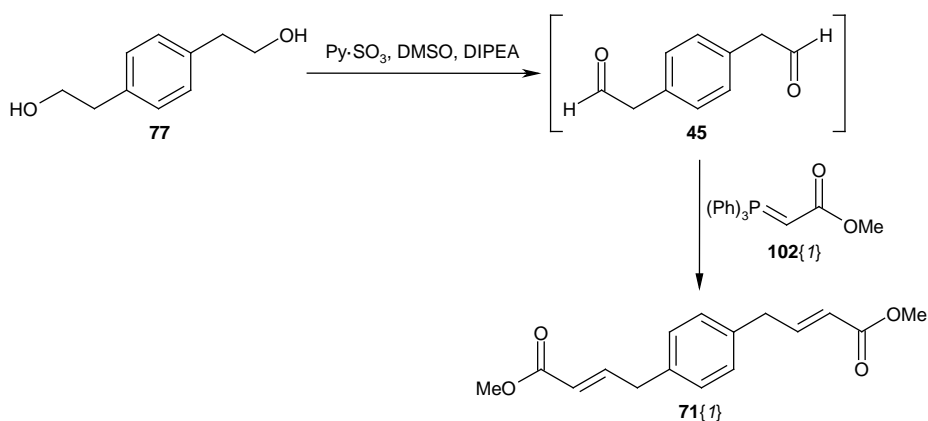
**Figura 2.19:** Síntesi de l'èster 3,3'-(1,4-fenilen)bis(2-propenoat) (**70**)

Tot i que existeixen moltes metodologies de reacció de Wittig per formar un èster  $\alpha,\beta$ -insaturat a partir d'un aldehyd, es va decidir adaptar la metodologia de Carling i col·laboradors en la que es posen tant el substrat com el reactiu de Wittig sense necessitat d'afegir una base.<sup>[50]</sup> Pel que fa el mecanisme de reacció, aquest es produeix de manera similar al que ja s'ha explicat anteriorment en l'apartat 2.2.2.1.

Experimentalment, es dissolen en toluè anhidre, tereftalaldehid (**1**) i acetat de trifenilfosforanilidèn (**102**) en proporció 1:2.2 i s'escalfa a reflux durant 2 hores que és el temps en que la reacció es dona per finalitzada. A més de fer un seguiment per  $^1\text{H-RMN}$ , la reacció es pot seguir per CCP fins que el test de Brady dóna negatiu. Una vegada la reacció completada, es realitza una separació per cromatografia *dryflash* en sílice com a fase estacionària i una mescla d'hexà/acetat d'etil com a fase mòbil. La reacció s'ha dut a terme amb l'acetat metílic i etílic de trifenilfosforanilidèn (**102{1}**) i (**102{2}**) obtenint-se els corresponents èsters **70{1}** i **70{2}** amb rendiments del 96% i 95%, respectivament.

Una vegada purificats, es registren els respectius espectres d' $^1\text{H}$ -RMN i es verifica que les dades obtingudes concorden amb les descrites a la bibliografia.<sup>[51,52]</sup> En la literatura no es descriu la mescla d'isòmers, però se'n poden generar tres de diferents, els composts amb els enllaços *trans-trans*, *cis-trans* i *cis-cis*. En tots dos casos es pot observar per  $^1\text{H}$ -RMN com es genera de manera molt majoritària el compost *trans-trans*, encara que les dues altres estructures també són perceptibles.

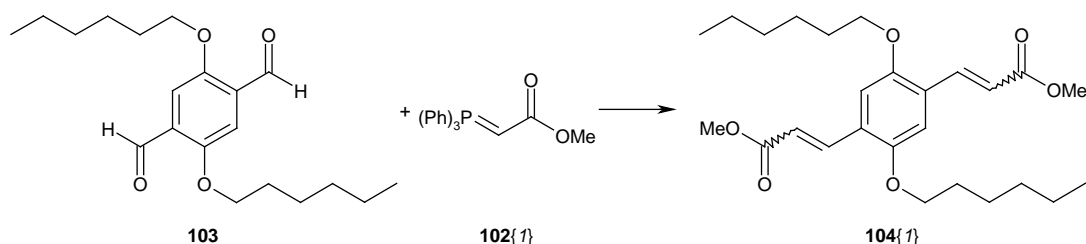
### 2.3.2. Síntesi de 4,4'-(1,4-fenilen)bis(2-butenoat) de dimetil (**71{1}**)



**Figura 2.20:** Síntesi de 4,4'-(1,4-fenilen)bis(2-butenoat) de dimetil **71{1}**

Com s'ha vist anteriorment en l'apartat 2.2.3., degut a problemes d'estabilitat del bisaldehid **45** s'ha decidit no purificar-lo i, per tant, s'afegeix directament sobre el cru de reacció l'acetat metílic de trifenilfosforanilidèn **102{1}** i es realitza la homologació de Wittig amb les mateixes condicions que les descrites anteriorment agafant com a supòsit que la reacció d'obtenció de **45** ha estat quantitativa. Una vegada purificat el producte de reacció, el dièster **71{1}** s'obté amb un rendiment del 57%. Cal dir que el rendiment es refereix a les dues etapes de reacció, la primera en que **77** s'oxida a **45** i la segona en que mitjançant la homologació de Wittig s'obté 4,4'-(1,4-fenilen)bis(2-butenoat) de dimetil **71{1}**. El conjunt de dades espectroscòpiques del compost obtingut és compatible amb l'estructura **71{1}**, destacant-ne en l'espectre de  $^1\text{H}$ -RMN la única formació del compost amb els enllaços en *trans*. Això és perceptible sobretot pel valor de l'acoblament entre els senyals corresponents als protons de les insaturacions ( $J = 15.9$  Hz).

### 2.3.3. Síntesi de 1,4-bis(2-metiloxycarbonil-1-etenil)-2,5-bis(hexiloxi)benzè (104{1})

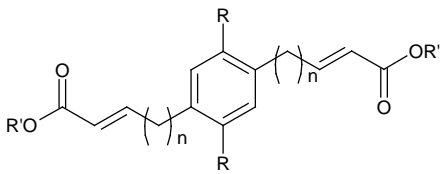


**Figura 2.21:** Síntesi d'1,4-bis(2-metiloxycarbonil-1-etenil)-2,5-bis(hexiloxi)benzè **104{1}**

Com es veurà més endavant en l'apartat 2.6.1., els sistemes bispirido[2,3-*d*]pirimidínics es caracteritzen per la seva baixa solubilitat en qualsevol dissolvent. Amb l'objectiu d'augmentar la seva solubilitat es va pensar en disminuir el seu caràcter polar. Per aconseguir-ho es va trobar un tereftalaldehid comercialment disponible que presenta substituents apolars, el 2,5-bis(hexiloxi)tereftalaldehid (**103**) que conté dues cadenes de caràcter apolar unides al fenil que es convertirà en l'espaiador fenilènic. Per obtenir el dièster **104{1}** es procedeix com anteriorment en el cas de 3,3'-(1,4-fenilen)bis(2-propenoat) de dimetil **102{1}**. **104{1}** s'obté amb rendiment quantitatiu i és de color groc fluorescent. Les seves dades espectroscòpiques són compatibles amb l'estructura proposada. En aquest cas es pot observar en l'espectre de  $^1\text{H}$ -RMN la formació dels tres isòmers: *trans-trans*, *cis-trans* i *cis-cis* amb una proporció de 15:6:1. L'existència dels tres isòmers és observable en l'espectre de  $^1\text{H}$ -RMN en la zona dels senyals corresponent als protons de les insaturacions. Els senyals corresponent als protons en *trans* apareixen cap a 7.9 ppm i 7.5 ppm amb una constant d'acoblament de 16.1 Hz. En canvi, el desplaçament químic corresponent als protons en *cis* és de 7.2 ppm i 5.9 ppm amb una constant d'acoblament de 12.7 Hz.

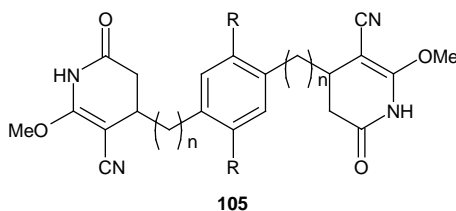
A mode de resum, es representen en la Taula 2.2 els èsters  $\alpha,\beta$ -insaturats amb els seus respectius rendiments. Com es pot observar els rendiments són molt bons a excepció de **71{1}** ja que es tenen en compte les dues etapes de síntesi necessàries per la seva formació: la oxidació d'1,4-fenilendietanol **77** i la posterior reacció de Wittig amb **102{1}** (Figura 2.20).

**Taula 2.2:** Èsters  $\alpha,\beta$ -insaturats sintetitzats amb els seus respectius rendiments

Estructura	Nom	R	R'	n	Rdt
	<b>70</b> {1}	H	Me	0	96%
	<b>70</b> {2}	H	Et	0	95%
	<b>71</b> {1}	H	Me	1	57%*
	<b>104</b> {1}	O(C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> )	Me	0	quantitatiu

\* El rendiment consta de dues etapes sintètiques degut a que el tereftalaldehid precursor no és comercialment disponible i tampoc aïllable en la seva etapa sintètica de formació.

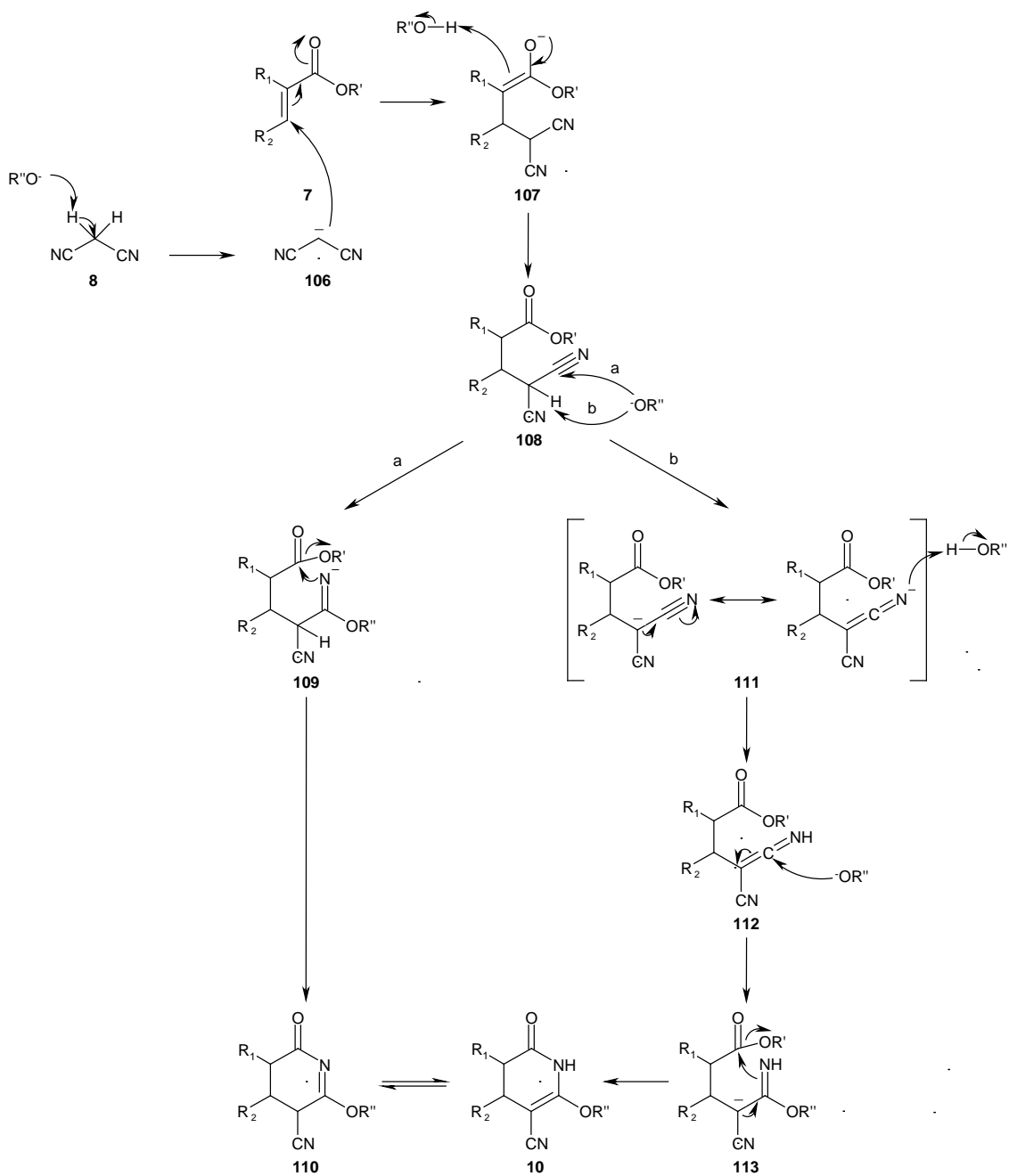
## 2.4. Síntesi d'estructures bispiridòniques 105


**Figura 2.22:** Estructura general de bispiridones **105** sent R = H, hexiloxi i n = 0, 1

De manera general, les estructures piridòniques **10** es formen per reacció entre un èster  $\alpha,\beta$ -insaturat **7** i malononitril (**8**). Existeixen dos itineraris mecanístics que justifiquen la formació d'aquests compostos (Figura 2.23).<sup>[53]</sup> Primerament, l'alcòxid arrenca un dels protons del malononitril (**8**) per després produir-se l'atac del carbanió **106** sobre la posició  $\beta$  de l'èster **7**. Finalment, l'enolat **107** recupera el protó de la base protonada per rendir l'adducte de Michael **108**.

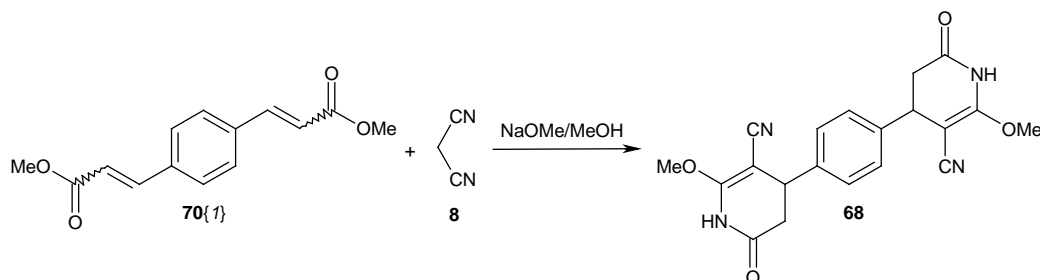
**108** pot evolucionar per addició de l'alcòxid sobre un dels grups nitril obtenint-se l'iminoéter **109** el qual pot rendir el sistema **110** per ciclació sobre el grup èster. La ulterior tautomerització de **110** rendiria la piridona **10**. Alternativament, la ionització de la posició malònica de **108** generaria la cetenimina **112**, la qual patiria l'addició de l'alcòxid per finalment produir-se la ciclació i conseqüent formació de l'estructura piridònica **10**.





**Figura 2.23:** Mecanisme de reacció entre un èster  $\alpha,\beta$ -insaturat **7** i malononitril (**8**) mitjançant la reacció de Michael i la posterior ciclació i obtenció de la piridona **10**

### 2.4.1. Síntesi d'1,4-bis(5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)benzè (68)



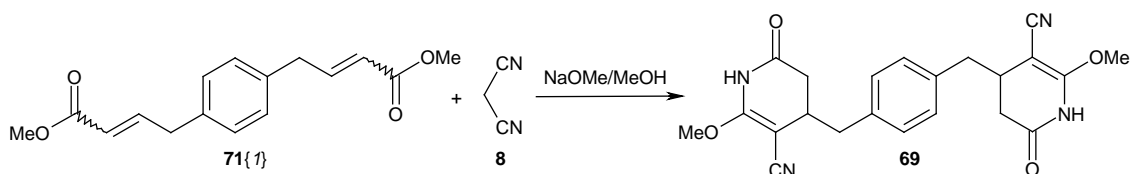
**Figura 2.24:** Síntesi d'1,4-bis(5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)benzè (68)

Per sintetitzar l'1,4-bis(5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)-benzè (68) s'adapta la metodologia de Victory i col·laboradors.<sup>[54]</sup> Primer es dissolen malononitril (8) i metòxid sòdic en metanol anhidre per després afegir 3,3'-(1,4-fenil)bis(2-propenoat) de metil (70{1}) en proporcions (2.2:2.5:1). Es deixa a reflux durant 5 hores, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, es dissol el cru en la mínima quantitat d'aigua i es neutralitza amb àcid clorhídric 2M generant-se un sòlid de color blanc que correspon al producte 68 desitjat.

Una vegada obtingut 68 amb un rendiment del 88%, es caracteritza espectroscòpicament la seva estructura bispiridònica. Com a trets més característics a banda d'observar el pic a  $m/z$  378.1331 corresponent a la seva massa molecular en l'espectre de masses d'alta resolució quan el valor calculat és  $m/z$  378.1328, en l'espectre d'IR, s'observa a  $2202\text{ cm}^{-1}$  la banda corresponent a la tensió de l'enllaç del nitril. A més en l'espectre de protó, degut a la presència de dos centres quirals, els dos protons metilènics i el protó metínic formen un sistema AMX.

És important assenyalar que una vegada format l'anió corresponent al malononitril (8) és important no trigar gaire en afegir el dièster 70 per evitar la polimerització del malononitril. També és important remarcar que quan s'addiciona l'àcid clorhídric 2M, el pH s'ha d'ajustar a 7 ja que si s'acidula de més, es podria produir la hidròlisi de l'èter enòlic (apartat 2.2.2.2.).

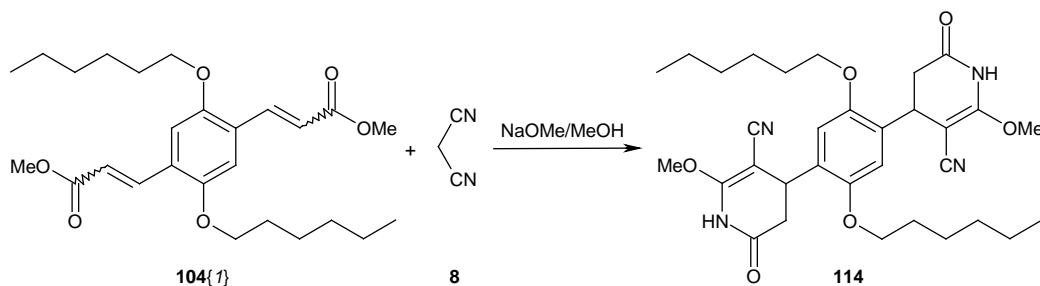
### 2.4.2. Síntesi d'1,4-bis((5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)metil)benzè (69)



**Figura 2.25:** Síntesi d'1,4-bis((5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)metil)benzè (69)

Per sintetitzar l'1,4-bis((5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)metil)benzè (69) s'empren les mateixes condicions descrites amb anterioritat a excepció de l'etapa d'acidulació. En afegir un excés d'àcid clorhídric 2M es forma un agregat enganxós de color marró insoluble en el medi que es recupera, es dissol en metanol i es deixa durant 12 hores a la nevera. Passat aquest temps, precipita un sòlid de color blanc que es recupera per filtració. L'espectroscòpia del producte obtingut certifica l'obtenció d'69 amb un rendiment del 18%. Com en el cas del seu anàleg 68, s'observa en l'espectre d'IR la banda característica de la tensió de l'enllaç nitrílic a  $2204\text{ cm}^{-1}$ . Es va pensar inicialment que el baix rendiment obtingut podia ser degut a la formació de l'agregat enganxós resultant d'un canvi bruscat de pH. Per aquesta raó a l'hora d'acidular es va substituir l'àcid clorhídric 2M per un àcid dèbil com l'àcid acètic, però tot i així es formà de nou l'agregat havent de fer el mateix tractament anterior sobre el producte per eliminar les impureses ocluses en l'agregat.

### 2.4.3. Síntesi d'1,4-bis((5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)-2,5-di(hexiloxi)benzè (114)



**Figura 2.26:** Síntesi d'1,4-bis((5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)-2,5-di(hexiloxi)benzè (114)

Tal com s'ha comentat prèviament (apartat 2.3.3), el dièster 104{1} s'ha obtingut amb la finalitat d'augmentar, si es possible, la solubilitat dels sistemes bispirido[2,3-d]pirimidínics corresponents. gràcies a la presència de dues cadenes hexiloxi de caràcter apolar. Per obtenir l'estructura bispiridònica 114, es procedeix amb la mateixa metodologia emprada per la síntesi

de **68**. La reacció es pot seguir per cromatografia de capa prima; la desaparició d'una taca que absorbeix a 366 nm corresponent al dièster  $\alpha,\beta$ -insaturat **104**{1}, indica que la reacció ha finalitzat. Una vegada aïllat el producte com a sòlid de color blanc, amb un rendiment del 97%, es caracteritza espectroscòpicament. Com en els dos casos anteriors, en l'espectre d'IR s'observa la banda característica de la tensió del nitril a  $2205\text{ cm}^{-1}$  a més de la tensió simètrica ( $1022\text{ cm}^{-1}$ ) i asimètrica ( $1203\text{ cm}^{-1}$ ) corresponent a la funcionalitat del grup èter. D'altra banda, tant en l'espectre de  $^1\text{H-RMN}$  com en el de  $^{13}\text{C-RMN}$  (encara que de manera molt més clara en el segon) s'observa una duplictat de la majoria dels senyals. Aquest fenomen pot ser atribuït a la presència de les cadenes laterals hexiloxi que restringeixen el moviment de la molècula. Aquesta restricció de moviment provoca que l'entorn químic no sigui igual en tota la molècula, i per tant que dos àtoms suposadament equivalents tinguin un comportament diferent front al camp magnètic (anisotropia).

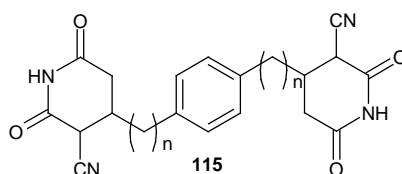
A mode de resum, es presenten en la Taula 2.3 les estructures bispiridòniques sintetitzades amb els seus rendiments d'obtenció. Com es pot observar, s'obtenen bons rendiments excepte quan  $n = 1$ .

**Taula 2.3:** Estructures bispiridòniques sintetitzades amb les seus respectius rendiments. Entre parèntesi hi figura el rendiment des del primer precursor

Estructura	Nom	R	n	Rdt
	<b>68</b>	H	0	88% (84%)
	<b>69</b>	H	1	18% (10%)
	<b>114</b>	O(C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> )	0	97% (97%)

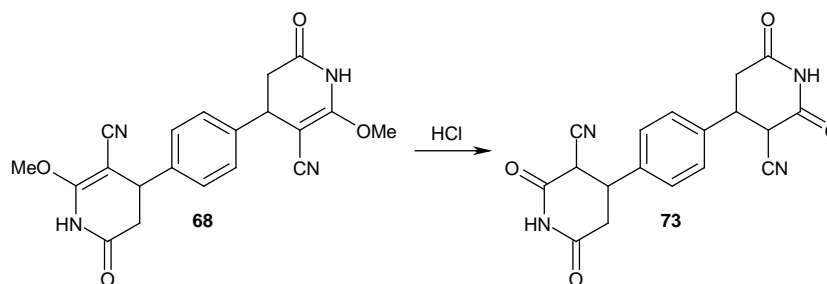
## 2.5. Síntesi d'estructures bisglutarimídiques **115**

Una vegada obtingudes les estructures bispiridòniques **105**, es procedeix a formar les estructures bisglutarimídiques **115**.



**Figura 2.27:** Estructura general de bisglutarimides **115** sent  $n = 0,1$

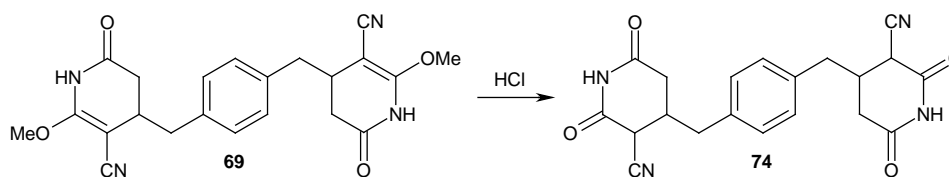
### 2.5.1. Síntesi d'1,4-bis(2-cianoglutarimido-3-il)benzè (73)



**Figura 2.28:** Síntesi d'1,4-bis(2-cianoglutarimido-3-il)benzè (73)

Una vegada obtinguda l'estructura bispíridònica **68**, mitjançant una hidròlisi àcida es forma la corresponent estructura bisglutarimídica **73**. La reacció transcorre per un mecanisme similar al que es mostra en l'apartat 2.2.2.2. en la que s'agita durant 6 hores a temperatura ambient una suspensió de compost bispíridònic **68** en àcid clorhídric 1.5M. Passat aquest temps es filtra el sòlid blanc obtingut, es renta amb aigua freda i s'asseca sobre pentòxid de fòsfor. S'obté el compost **57** amb un rendiment del 70%. Les dades espectroscòpiques de **73** són compatibles amb l'estructura proposada destacant principalment en  $^1\text{H-RMN}$  la desaparició del singlet cap a 3.89 ppm corresponent al metoxil del seu precursor bispíridònic **68**. Cal remarcar també en l'espectre d'IR el desplaçament de la banda corresponent a la tensió nitrílica de  $2202\text{ cm}^{-1}$  fins  $2255\text{ cm}^{-1}$  a més de l'aparició d'una segona banda a  $1738\text{ cm}^{-1}$  corresponent a la tensió del grup carbonil que s'acaba de formar.

### 2.5.2. Síntesi d'1,4-bis((2-cianoglutarimido-3-il)metil)benzè (74)



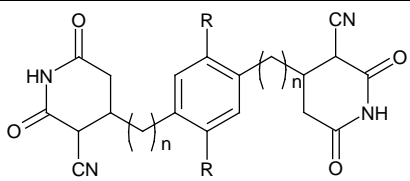
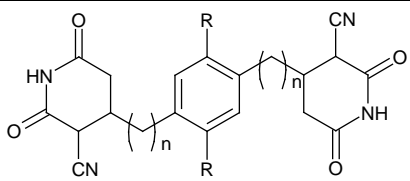
**Figura 2.29:** Síntesi d'1,4-bis((2-cianoglutarimido-3-il)metil)benzè **74**

Per l'obtenció d'1,4-bis((2-cianoglutarimido-3-il)metil)benzè (**74**), es procedeix amb les mateixes condicions que el cas anterior i s'obté aquest compost amb un rendiment del 80%. Com a curiositat mencionar que tant en l'espectre de protó com en el de carboni s'observa duplictat d'alguns dels senyals. Aquest fenomen es podria explicar per la presència d'una estructura tautomèrica. Tot i així, els senyals majoritaris coincideixen amb l'estructura bisglutarimídica **74** proposada. D'altra banda, un altre dels indicis que indiquen la formació del producte és l'espectre d'IR en el que es pot observar com en el cas anterior el desplaçament del senyal corresponent a la tensió del nitril de  $2204\text{ cm}^{-1}$  fins  $2254\text{ cm}^{-1}$  a més de l'aparició

d'una segona banda a  $1744\text{ cm}^{-1}$  corresponent a la tensió del grup carbonil que s'acaba de formar. Tot i que només s'observa una sola banda de tensió de nitril, aquesta dada pot ser compatible amb el fet d'observar estructures tautomèriques en els espectres de protó i carboni. Això és degut a que l'espectre d'IR es registra en pastilla de KBr mentre que els espectres de ressonància es registren en dissolució de  $d_6$ -DMSO, afavorint-se en aquest cas la formació d'estructures tautomèriques. Es confirma també l'obtenció de l'estructura **74** per espectrometria de masses d'alta resolució en el que emprant com a tècnica d'ionització ESI s'obté una massa de 401.1215 quan la calculada és 401.1220. S'ha de puntualitzar que els valors són afegint-hi un àtom de sodi fruit del tipus de ionització.

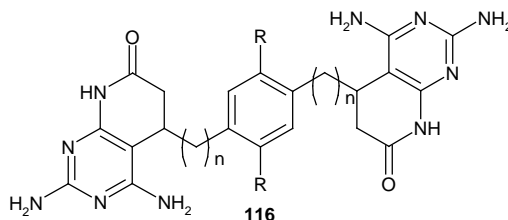
A mode de resum, es presenten en la Taula 2.4, les estructures bisglutarimídiques sintetitzades amb els seus respectius rendiments. Com es pot observar, per la hidròlisi d'aquest pas no influeix en el rendiment la baula de més de l'espaiador.

**Taula 2.3:** Estructures bisglutarimídiques sintetitzades amb les seus respectius rendiments. Entre parèntesi hi figura el rendiment des del primer precursor

Estructura	Nom	R	n	Rdt
	<b>73</b>	H	0	70 % (59%)
	<b>74</b>	H	1	80 % (8%)

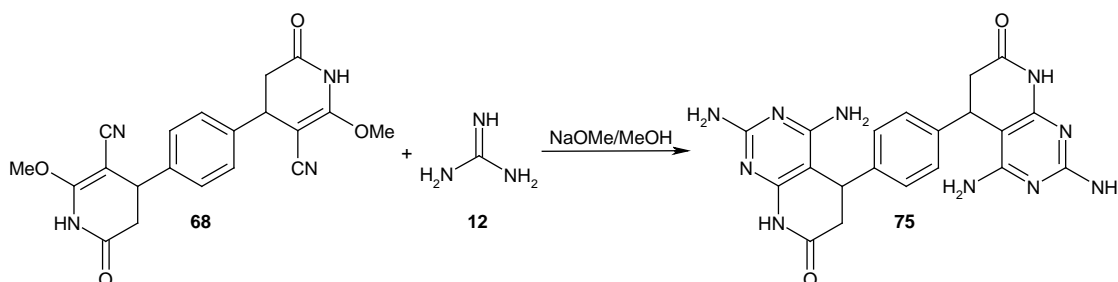
## 2.6. Síntesi d'estructures pirido[2,3-d]pirimidíniques **116**

Per tal d'obtenir les estructures bispirido[2,3-d]pirimidíniques **116** (Figura 2.30) es parteix novament de les estructures bispiridòniques **105** sintetitzades anteriorment.



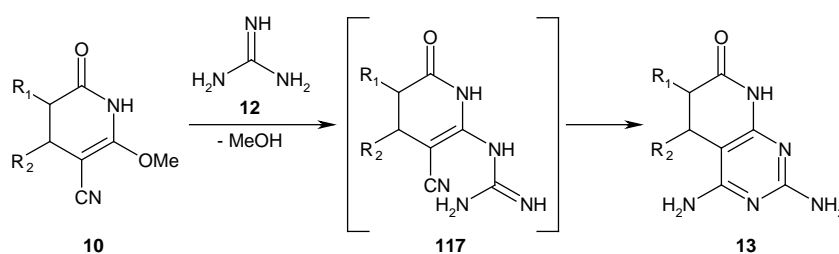
**Figura 2.30:** Estructura general de bispirido[2,3-d]pirimidina **116** sent  $R = H$ , hexiloxi i  $n = 0, 1$

### 2.6.1. Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-on-5-il)benzè (75)



**Figura 2.31:** Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidro[2,3-d]pirimidin-7(8H)-on-5-il)benzè (75)

A partir de l'estructura bispiridònica **68**, a més de generar la seva bisglutarimida **73**, afegint guanidina (**12**) es pot formar la bispirido[2,3-d]pirimidina corresponent **75**. De manera general, com que la guanidina que s'usa és en forma de carbonat de guanidina, aquesta s'allibera mitjançant l'addició de metòxid sòdic en metanol. Una vegada alliberada la guanidina **12**, s'afegeix l'estructura piridònica **10** per formar un segon cicle pirimidínic. Es creu que la reacció procedeix a través de la substitució nucleòfila del metoxil enòlic de **10** per un del nitrògens de la guanidina (**12**), seguit d'una ciclació intramolecular sobre el grup nitril (Figura 2.32).<sup>[55]</sup>



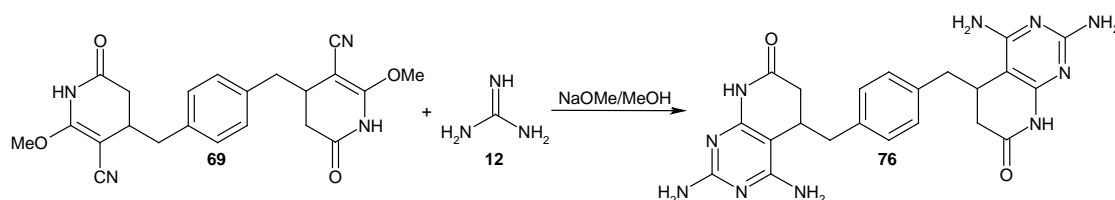
**Figura 2.32:** Etapes de reacció de formació d'estructures pirido[2,3-d]pirimidíniques **13**

Cal dir que aquesta reacció ha estat objecte d'estudi durant molts anys en el Laboratori de Síntesi del GEM de l'IQS i es va concloure que la reacció és molt sensible a la dilució dels reactius, aconseguint-se rendiments superiors amb crús concentrats.<sup>[55]</sup> En un altre estudi es va poder observar que la relació 3:1 de guanidina (**12**) front a estructura piridònica **10** era la que proporcionava millors rendiments.<sup>[53]</sup> Així doncs, per obtenir l'estructura bispirido[2,3-d]pirimidínica **75**, primerament s'escalfa amb microones durant 15 minuts a 65 °C, una mescla de carbonat de guanidina i metòxid sòdic en metanol anhidre en proporció carbonat de guanidina:NaOMe 3 mmol:6 mmol en 4 mL de MeOH. Tot seguit es filtra el carbonat sòdic format, es recupera el filtrat -amb la guanidina lliure dissolta-, s'hi afegeix 1 mmol de bispiridona

**68** i es deixa a reflux durant 20 hores formant-se un sòlid blanc. Aquest sòlid es filtra, es renta primerament amb metanol fred i posteriorment amb èter dietílic.

Una vegada obtingut l'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-on-5-il)benzè (**75**) amb un rendiment del 94%, es caracteritza el producte coincidint l'espectroscòpia amb l'estructura proposada. Primer de tot mencionar que l'estructura bispirido[2,3-*d*]pirimidina **75** és menys soluble que el seu precursor bispiridònic **68** i per aquesta raó es registren els espectres de protó i carboni en àcid trifluoroacètic deuterat pel que no és possible observar cap dels protons làbils característics i sempre indicatius de la formació de l'esmentada estructura. Tot i això en l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN s'observa bàsicament la desaparició del singlet de l'èter enòlic del precursor **68**. Aquest indicatiu també és observable en l'espectre de <sup>13</sup>C-RMN a més de la desaparició del senyal corresponent al carboni nitrílic (118.4 ppm) i l'aparició d'un nou senyal a 157.3 ppm. A més, també s'observa un desplaçament del carboni en posició 5 de l'anell piridònic de 67.8 ppm a 90.4 ppm. En l'espectre d'IR, s'observa la desaparició de la banda corresponent a la tensió del nitril, un indicatiu prou clar que l'esmentada posició ha reaccionat. Finalment, s'acaba de confirmar l'obtenció de **61** per espectrometria de masses d'alta resolució obtenint un pic de *m/z* 433.1852 quan la massa calculada és 433.1849.

### 2.6.2. Síntesi d'1,4-bis((2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-on-5-il)metil)benzè (**76**)

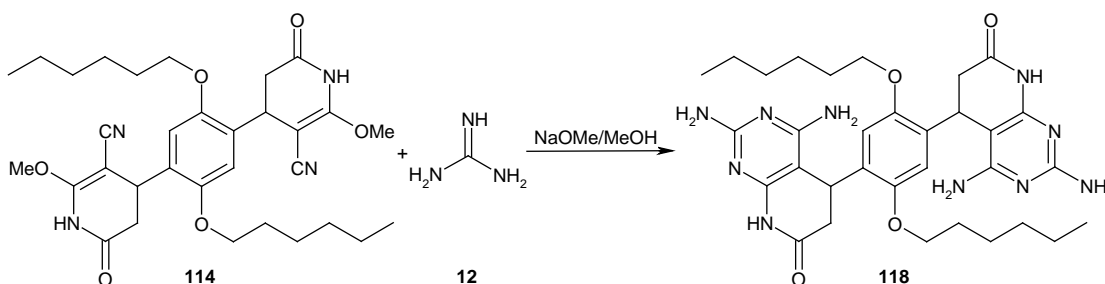


**Figura 2.33:** Síntesi d'1,4-bis((2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-on-5-il)metil)benzè (**76**)

Per obtenir 1,4-bis((2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-on-5-il)metil)benzè (**76**) es procedeix amb les mateixes condicions que el cas anterior. Finalment s'obté el producte desitjat en forma de sòlid blanc amb un rendiment quantitatiu. Una vegada més, els principals indicis que ens permeten confirmar que la reacció ha evolucionat bé i s'ha obtingut producte desitjat són, d'una banda, la desaparició en l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN del singlet corresponent al metil de l'estructura piridònica i, d'altra banda; la desaparició en l'espectre d'IR de la banda corresponent a la tensió del nitril i la presència en l'espectre de masses d'alta resolució d'un pic de *m/z* 461.2174 corresponent a [M+H]<sup>+</sup> quan la massa calculada és: 461.2162.



### 2.6.3. Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-on-5-il)-2,5-di(hexiloxi)benzè (118)



**Figura 2.34:** Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-on-5-il)-2,5-di(hexiloxi)benzè (**118**)

Per a l'obtenció d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-on-5-il)-2,5-di(hexiloxi)benzè (**118**) es procedeix emprant la mateixa metodologia dels casos anteriors. Finalment s'obté el producte desitjat en forma de sòlid blanc amb un rendiment del 60%. Espectroscòpicament es confirma l'obtenció del producte desitjat. En l'espectre d'IR, es pot observar la desaparició de la banda corresponent a la tensió del nitril. La formació del cicle pirimidínic encara restringeix més la rotació dels enllaços entre el fenil i els anells pirido[2,3-d]pirimidínics, que en el seu precursor **114** degut a la presència dels grups hexiloxi. Aquest fet es reflecteix en l'espectre de protó on els protons metilènics directament units a l'oxigen del grup hexiloxi apareixen com a dos doblets de doblets de triplets a 4.11 ppm i 3.92 ppm amb constants d'acoblament de 16.0 Hz, 9.5 Hz i 7.0 Hz. Tot i que la presència dels grups hexiloxi hauria d'augmentar la solubilitat del compost, aquest segueix sent insoluble en la majoria de dissolvents i és necessari registrar els espectres de RMN en dissolució d'àcid trifluoroacètic deuterat. Es confirma també l'obtenció de **118** per espectrometria de masses d'alta resolució obtenint-se un pic de  $m/z$  633.3629 corresponent a  $[M+H]^+$  quan el valor calculat és de 633.3625.

A mode de resum, es mostren en la taula 2.5 les bispirido[2,3-d]pirimidines sintetitzades amb les seus respectius rendiments. Com es pot observar, les rendiments són força bons a excepció de **118** que s'obté amb un 60 % potser degut a l'impediment estèric que puguin ocasionar les cadenes laterals hexiloxi.

**Taula 2.5:** Estructures bispirido[2,3-*d*]pirimidíniques sintetitzades amb les seues respectius rendiments. Entre parèntesi hi figura el rendiment des del primer precursor

Estructura	Nom	R	n	Rdtt
	<b>75</b>	H	0	94% (79%)
	<b>76</b>	H	1	Quantitatiu (10%)
	<b>118</b>	O(C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> )	0	60 % (58 %)

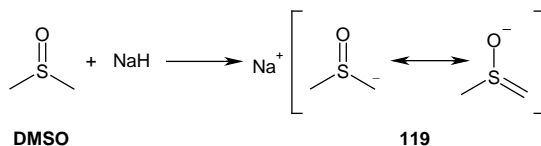
## 2.7. Síntesi d'estructures bispirido[2,3-*d*]pirimidíniques metilades 124 i 125

Com ja s'ha comentat amb anterioritat, les estructures bispirido[2,3-*d*]pirimidíniques **75**, **76** sintetitzades tenen com a característica principal la seva baixa solubilitat en dissolvents compatibles amb l'assaig d'activitat anti-VIH. Per resoldre aquest problema es va provar d'incorporar dues cadenes de caràcter apolar hexiloxi sobre l'espaiador encara que no s'ha obtingut la solubilitat desitjada. La baixa solubilitat és deguda a interaccions per ponts d'hidrogen intermoleculars. Per aquesta raó s'ha decidit impedir la formació d'aquestes interaccions alquilant alguna de les posicions nitrogenades de la molècula.

Tot i que existeixen diverses maneres d'alquilar aquestes estructures, s'ha adaptat la metodologia descrita en el GEM per Àngel Marsellés en la que s'alquila el nitrogen lactàmic de les pirido[2,3-*d*]pirimidines.<sup>[56]</sup> L'esmentada metodologia consta de dues etapes que són la formació del nucleòfil, és a dir ionitzar el nitrogen de la lactama, i el posterior atac sobre un halur d'alquil.

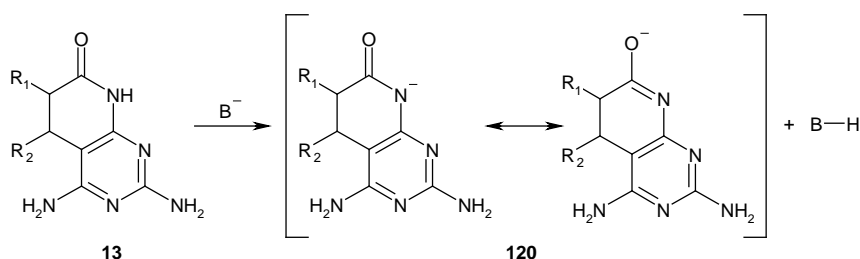
Per arrencar un protó de la pirido[2,3-*d*]pirimidina **13** i generar el corresponent nucleòfil, s'usa hidrur de sodi (NaH) com a base i DMSO com a dissolvent degut a la baixa solubilitat del substrat en altres dissolvents orgànics. En aquest punt cal tenir en compte que es pot donar una reacció en competència en la formació de l'anió dimsil (**119**) fruit de la reacció entre el DMSO i l'hidrur de sodi. Corey i col·laboradors descriuen la formació d'aquest anió escalfant a 70-75°C durant 40 minuts (Figura 2.35).<sup>[57]</sup> També s'ha de dir que la seva formació no afectaria a la reacció ja que llavors l'anió dimsil (**119**) podria actuar ell mateix com a base i arrencar el protó lactàmic. De totes maneres, si es fa referència al treball de Bordwell, on es descriu el valor de pK<sub>a</sub> de diversos compostos en dissolució de DMSO, es pot concloure que el protó més

àcid i per tant el que s'arrençarà preferentment en aquest medi és el lactàmic amb un  $pK_a$  aproximat de 21<sup>[58]</sup> front al del DMSO amb un valor de  $pK_a$  de 35.1.<sup>[59]</sup>



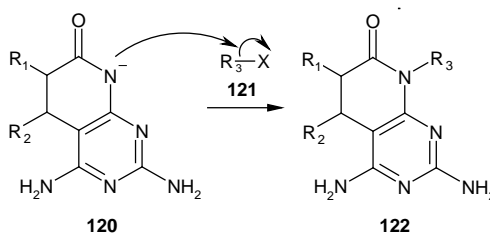
**Figura 2.35:** Formació de l'anió dimsil **119** a partir de DMSO i hidrur de sodi

La segona qüestió a tenir en compte és la posició en la que es produeix l'alquilació. Una vegada format l'anió de la pirido[2,3-*d*]pirimidina **120**, la deslocalització d'aquest en el carboni lactàmic permet que l'alquilació es produeixi en el nitrogen (formació de la *N*-alquil lactama desitjada) o en el oxigen (formació d'un iminoèter) (Figura 2.36).



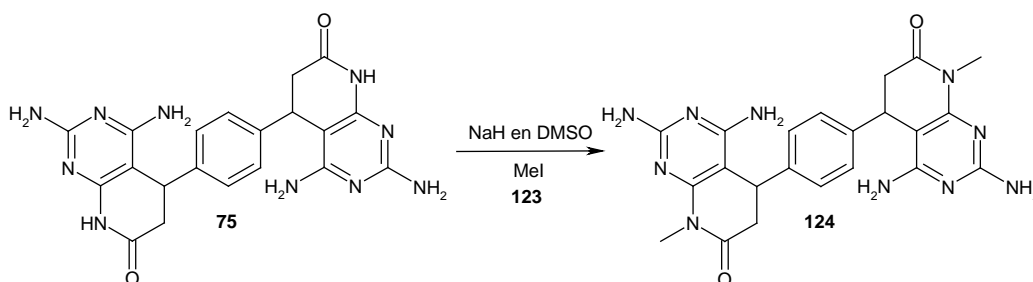
**Figura 2.36:** Formació de l'anió pirido[2,3-*d*]pirimidínic **120**

En l'experiència prèvia de l'equip, aquesta alquilació usualment procedeix amb la formació del terme de *N*-alquilació per substitució nucleòfila de l'anió pirido[2,3-*d*]pirimidínic **120** sobre un halur d'alquil **121** (Figura 2.37).



**Figura 2.37:** Obtenció de la pirido[2,3-*d*]pirimidina metilada **122** a partir de l'anió pirido[2,3-*d*]piridínic **120** i halur d'alquil **121**

### 2.7.1. Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidro-8-metilpirido[2,3-*d*]-pirimidin-7(8*H*)-on-5-il)benzè (124)

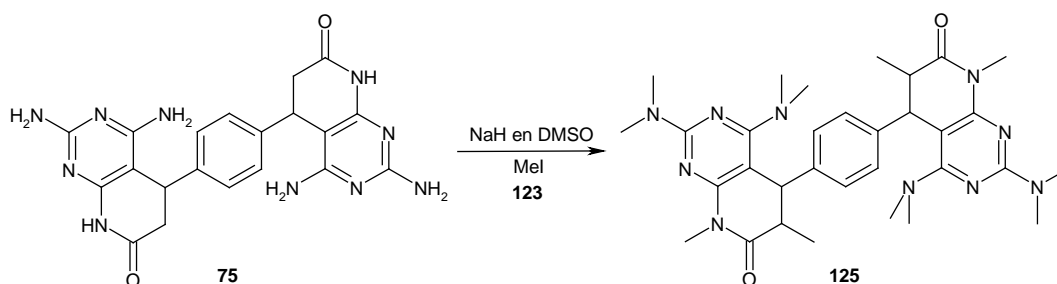


**Figura 2.37:** Síntesi d'1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidro-8-metilpirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-on-5-il)benzè (**70**)

Per formar la bispirido[2,3-*d*]pirimidina metilada **124**, en primer lloc es suspenen en DMSO, 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-on-5-il)benzè (**75**) i hidru de sodi en proporció 1:2 i es deixen en agitació a temperatura ambient durant 1 hora. Passat aquest temps, s'afegeixen gota a gota 2 equivalents de iodur de metil (**123**) i es torna a deixar en agitació durant 15 hores a temperatura ambient. Una vegada finalitzada la reacció, s'afegeix aigua i es filtra el sòlid resultant, es renta amb aigua freda i s'asseca sobre pentòxid de fòsfor al buit. El conjunt de dades espectroscòpiques del producte obtingut amb un rendiment del 34% en forma de sòlid de color blanc és coherent amb l'estructura proposada **124**.

El primer indicatiu de que s'aconsegueix la metilació és la solubilitat del compost en DMSO quan el seu precursor no ho era. Les diferències observables en l'espectre de protó respecte al reactiu de partida són: l'aparició del senyal del metil a 3.16 ppm i la presència dels dos senyals corresponents a les amines a 6.05 i 5.93 ppm degut a que l'espectre es registra en  $d_6$ -DMSO. D'altra banda es confirma per  $^{13}\text{C}$ -RMN que la metilació es produeix sobre el nitrogen lactàmic i no pas sobre l'oxigen carbonílic ja que el senyal corresponent al metil té un desplaçament químic de 27.0 ppm (l'iminoéter hauria sortit a camp més baix, ~ 50 ppm). Es confirma també l'estructura obtinguda per espectre de masses d'alta resolució en el que emprant com a tècnica d'ionització FAB s'obté un pic de  $m/z$  461.2158 quan la massa molecular calculada és 461.2162.

### 2.7.2. Síntesi d'1,4-bis(2,4-bis(dimetilamino)-5,6-dihidro-6,8-dimetilpirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-on-5-il)benzè (125)



**Figura 2.38:** Síntesi d'1,4-bis(2,4-bis(dimetilamino)-5,6-dihidro-6,8-dimetilpirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-on-5-il)benzè (**125**)

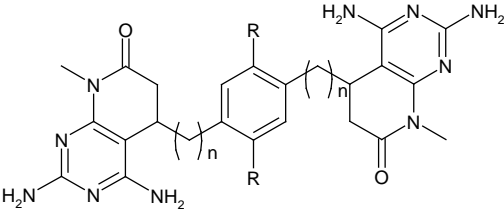
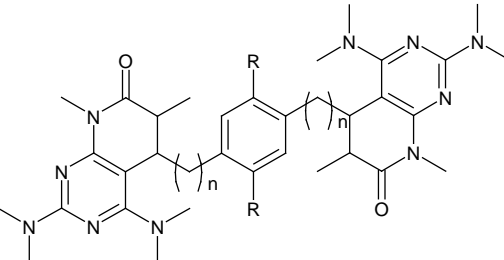
Posteriorment s'han realitzat més proves emprant la mateixa metodologia però variant la proporció de reactius per cada mol de pirido[2,3-d]pirimidina (**75**) s'han afegit 4, 6, 8, 10 i 20 mol d'hidrur de sodi i de iodur de metil (**123**). En els quatre primers casos s'ha obtingut una mescla de molts productes difícilment separables, en canvi en el cas en que s'usa una proporció d'1 a 20 s'obté un producte molt majoritari. L'esmentat producte es purifica mitjançant cromatografia de columna amb sílice com a fase estacionària i una mescla de clorur de metilè i metanol com a fase mòbil. Una vegada obtingut pur aquest producte majoritari com a sòlid de color blanc, es procedeix a la seva caracterització. Un primer indicatiu de que s'han produït més metilacions que la dels nitrògens lactàmics és la seva solubilitat en cloroform. Es registra l'espectre de protó en cloroform deuterat i s'observa la absència dels senyals corresponents a les amines de **75**, cosa que significa que s'ha dimetilat cada amina a més del nitrogen de la lactama. També s'observa la pèrdua del sistema AMX del reactiu per obtenir un nou doblet de doblets a 1.21 ppm -amb constants d'acoblament de 7.5 i 2.0 Hz- i d'integral corresponent a 6H i dos multiplets a 3.93 i 2.88 ppm d'integral 2 cadascú. D'aquesta dada i del fet que per DEPT-135 no s'observi cap carboni metilènic, es conclou que s'ha metilat també el carboni en  $\alpha$  de carbonil. Així doncs s'hauria dodecametilat la molècula **75** formant-se **125**. Aquesta hipòtesi queda confirmada d'una banda per els 13 senyals que s'observen en l'espectre de  $^{13}\text{C}$ -RMN corresponents a 13 carbonis diferents; i d'altra banda per l'espectre de masses d'alta resolució on s'obté, ionitzant la molècula per impacte electrònic, un pic a  $m/z$  600.3649 sent la massa calculada 600.3649. Finalment, en l'espectre d'infraroig no s'observen les tensions N-H, dada que també confirma la metilació de tots el nitrògens. El rendiment d'obtenció de la molècula dodecametilada **125** és del 76%.

Es realitza una cerca en el treball de Bordwell *et al.* sobre el valor de  $\text{pK}_a$  en dissolució de DMSO dels diferents punts que s'han metilat i es troba que tant els protons de les amines com els protons en  $\alpha$  de carbonil tenen un valor entre 26 i 28.<sup>[58,60,61]</sup> Aquest valor tan similar

entre si explica la formació de crús tan complexes quan s'usen quantitats intermèdies d'hidrur sòdic i de iodur de metil i la dodecametilació de la bispirido[2,3-*d*]pirimidina **125**.

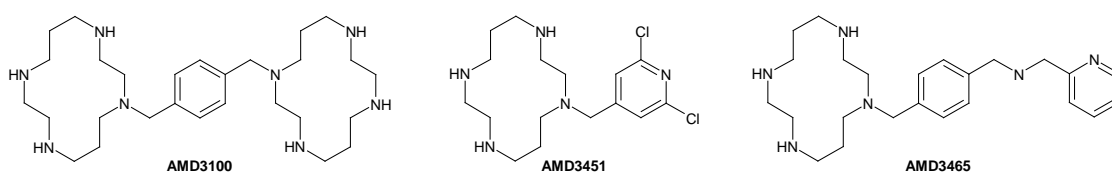
A mode de resum, es mostra en la Taula 2.6, les bispirido[2,3-*d*]pirimidíniques metilades sintetitzades amb els seus respectius rendiments.

**Taula 2.6:** Estructures bispirido[2,3-*d*]pirimidíniques metilades sintetitzades amb els seus respectius rendiments. Entre parèntesi hi figura el rendiment des del primer precursor

Estructura	Nom	R	n	Rdt
	<b>124</b>	H	0	34% (27%)
	<b>125</b>	H	0	76% (60%)

## 2.8. Estudi d'obtenció d'estructures mixtes amino-piridona **141**, amino-glutarimida **138** i amino-pirido[2,3-*d*]pirimidina **143**

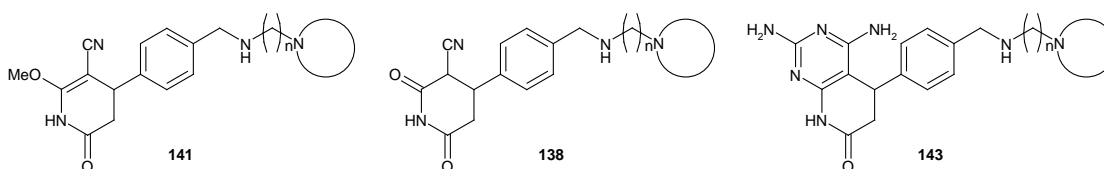
Tot i tenir una molt bona activitat anti-VIH, tal i com ja s'ha comentat amb anterioritat en l'apartat 2.1. d'aquest capítol, l'AMD3100 presenta problemes de cardiotoxicitat i de baixa biodisponibilitat oral. Amb l'objectiu de minimitzar aquests punts negatius, es troben descrits a la literatura estructures monociclàmiques amb bona activitat anti-VIH. Es destaquen en la Figura 2.39 l'AMD3451 i l'AMD3465.



**Figura 2.39:** Estructures de l'AMD3100, AMD3451 i AMD3465

El monociclam AMD3451 és un antagonista dual de CCR5/CXCR4,<sup>[62]</sup> mentre que l'AMD3465 inhibeix selectivament la unió dels virus al coreceptor CXCR4. Hatse i col·laboradors van demostrar que no són necessàries les dues unitats de ciclam per tal d'inhibir comparant l'activitat anti-VIH de l'AMD3465 i de l'AMD3100 (s'infecten cèl·lules MT-4 amb soca vírica VIH-1 III<sub>B</sub> i NL4-3; IC<sub>50</sub> = 12.3 i 6.1 nM per AMD3465 i IC<sub>50</sub> = 12.4 i 7.4 nM per AMD3100). Del treball de Hatse i col·laboradors,<sup>[2]</sup> del treball de S. Pettersson,<sup>[63]</sup> de l'estudi de Rosenkilde *et al.*,<sup>[64]</sup> i de l'estudi realitzat en el capítol 1 de la present treball, se'n dedueix que no són necessaris els vuit grups amino de l'AMD3100 per aconseguir una activitat anti-VIH.

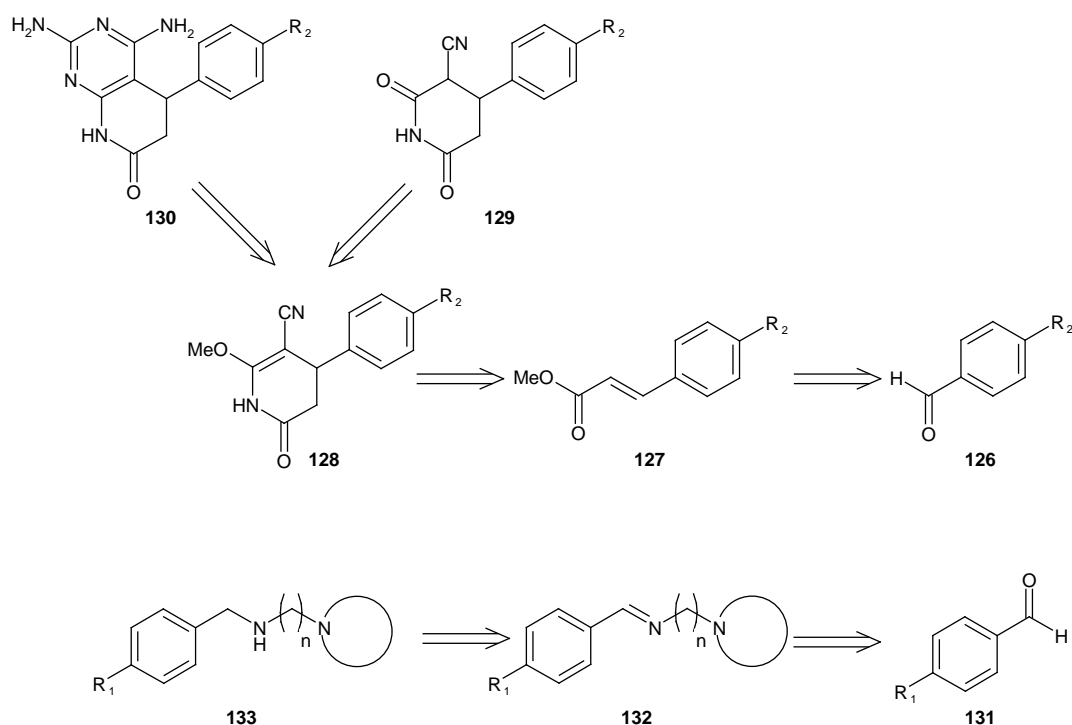
Es decideix per tant fer anàlegs d'aquestes estructures monociclàmiques, substituint d'una banda la unitat de ciclam per una piridona, glutarimida o piridopirimidina i de l'altra banda per una amina **2** com les que s'han usat al Capítol 1 (Figura 2.40)



**Figura 2.40:** Estructures generals mixtes piridona-amina **141**, glutarimida-amina **138** i pirido[2,3-*d*]pirimidina **143**

### 2.8.1. Anàlisi retrosintètic d'obtenció d'estructures mixtes amino-piridona **141**, amino-glutarimida **138**, amino-pirido[2,3-*d*]pirimidina **143**

Existeixen diferents vies sintètiques per aconseguir estructures mixtes formades per una amina i una piridona, glutarimida o pirido[2,3-*d*]pirimidina unides per un espaiador *p*-fenilènic. Com ja s'ha pogut veure en la síntesi de compostos simètrics descrita en capítols anteriors, es requereix la presència de la funcionalitat aldehyd en l'espaiador per la seva unió. Les amines s'uneixen via aminació reductora i les piridones, que són el precursor de les pirido[2,3-*d*]pirimidines i de les glutarimides, es formen a partir d'un èster  $\alpha,\beta$ -insaturat que s'hauria obtingut prèviament via reacció de Wittig. En la Figura 2.41, es recorda l'esquema retrosintètic tant de la banda d'unió a amines com de la banda d'unió a piridones, glutarimides i pirido[2,3-*d*]pirimidines.



**Figura 2.41:** Anàlisi retrosintètica d'obtenció d'estructures mixtes

Com es pot observar, ambdues parts requereixen del grup funcional aldehyd quan es derivatitza l'espaiador. Com que es volen aconseguir molècules asimètriques, cal que un dels aldehyds estigui protegit, per la qual cosa s'escull el 4-(dietoximetil)benzaldehyd (**4**) com a precursor.

Degut a que en el grup es té certa experiència en la manipulació de compostos aminats d'aquest tipus, es decideix introduir el grup amino el més tard possible en la seqüència sintètica per dos motius:

1), s'ha pogut observar que aquest tipus d'amines s'uneixen amb força amb la sílice usada com a fase estacionària per la purificació cromatogràfica.

2) és difícil traspasar les condicions de separació desenvolupades per capa prima a la separació cromatogràfica en columna quan la fase estacionària és alúmina.

En conseqüència, per tal de sintetitzar les estructures mixtes, es plantegen dos itineraris sintètics que es mostren a la Figura 2.42. Ambdós parteixen del 4-(dietoximetil)benzaldehyd (**4**) que es transforma en l'èster  $\alpha,\beta$ -insaturat **134** mitjançant reacció de Wittig. És en aquest punt on es separen els dos itineraris sintètics. D'una banda, la via sintètica A, on es generaria l'estructura piridona-acetal **135** per reacció amb malononitril (**8**) per després, mitjançant una hidròlisi àcida suau, aconseguir la piridona-aldehyd **136**. A partir del compost **136** es podrien seguir dos itineraris: el primer és obtenir la piridona-amina **141**, per



reacció amb l'amina **2** o bé la glutarimida-aldehid **137** per un tractament àcid més dràstic. Finalment s'obtidria l'estructura glutarimida-amina **138** a partir de **137** via aminació reductora o a partir de **141** mitjançant un tractament àcid.

En canvi la via sintètica B suposaria hidrolitzar primerament l'acetal de **134** per obtenir el compost èster-aldehid **139** per, en una segona etapa, via aminació reductora obtenir **140**. Per últim, es faria reaccionar **140** amb malononitril (**8**) per rendir el producte desitjat piridona-amina **141**, o bé l'intermedi acíclic **142**. El tractament de qualsevol d'aquests dos productes amb guanidina **12** rendiria la pirido[2,3-*d*]pirimidina-amina **143**.

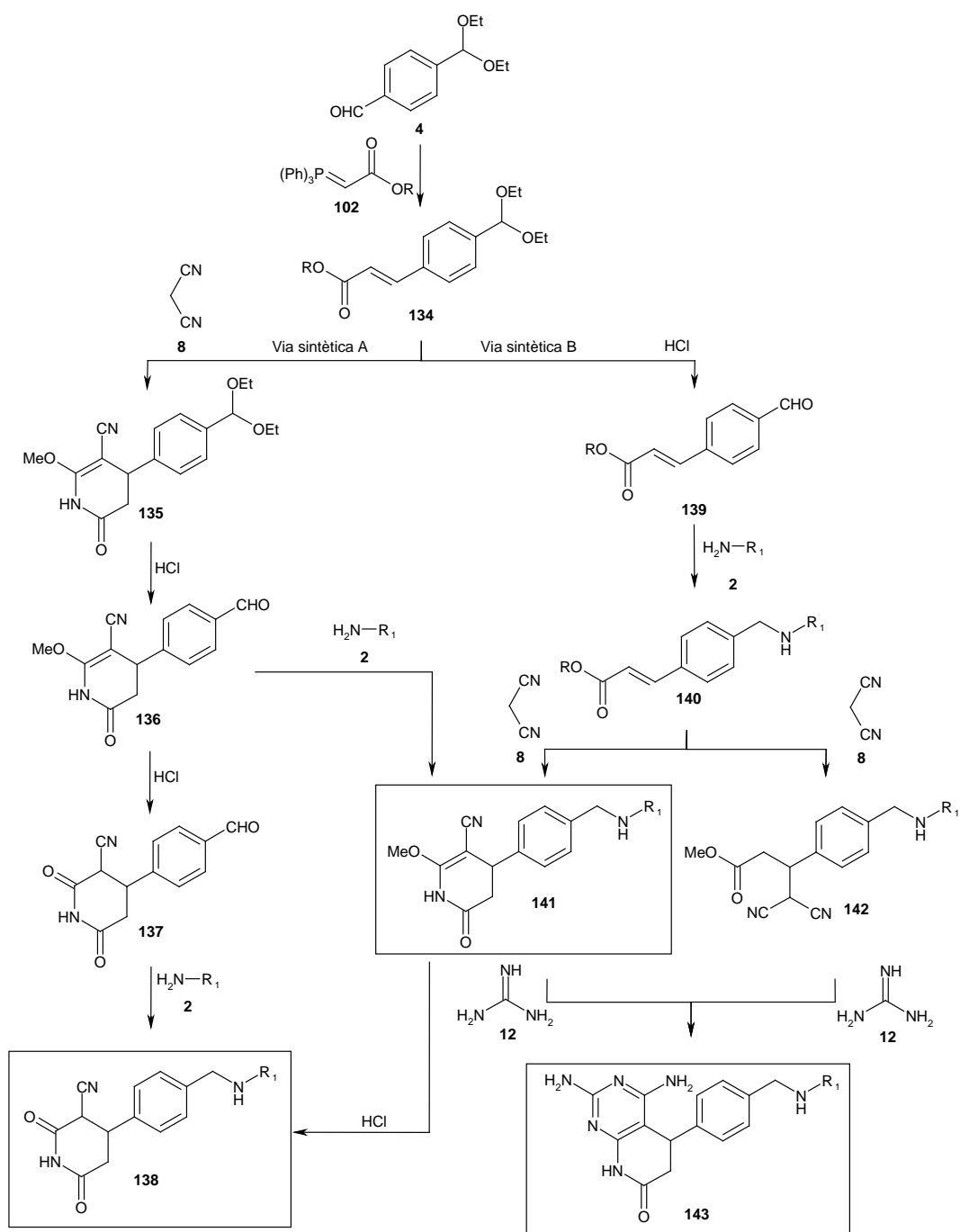
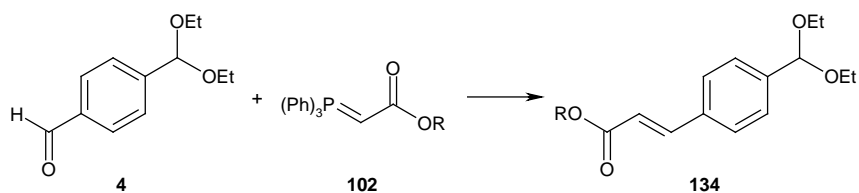


Figura 2.42: Rutes sintètiques plantejades per aconseguir les estructures mixtes **141**, **138** i **143**

## 2.8.2. Síntesi de 3-(4-(dietoximetil)fenil)acrilat de metil (134{1}) i d'etil (134{2})

Es sintetitzen en primer lloc el 3-(4-(dietoximetil)fenil)acrilat de metil (134{1}) i d'etil (134{2}), precursors de les dues vies sintètiques proposades. Tal com es mostra en la Figura 2.43, es parteix de 4-(dietoximetil)benzaldehyd (4) i acetat de trifenilfosforanilidèn 102 per realitzar una reacció de Wittig. Com anteriorment en el treball (apartat 2.3.1.) s'adapten les condicions de reacció descrites per Carling i col·laboradors.<sup>[50]</sup>



**Figura 2.43:** Reacció de formació de 3-(4-(dietiloximetil)fenil)acrilat 134 sent R = Me, Et

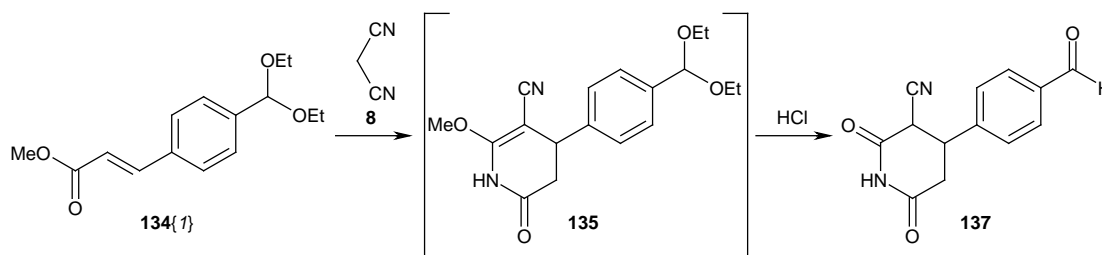
Es dissolen en toluè anhidre el 4-(dietoximetil)benzaldehyd (4) i l'acetat de trifenilfosforanilidèn 102 en proporció 1:1.1 i s'escalfa a reflux durant 2 hores. El seguiment es pot realitzar o bé per cromatografia de capa prima, fins que el test de Brady dóna negatiu; o per <sup>1</sup>H-RMN, fins que el senyal corresponent a l'aldehyd desapareix. Una vegada finalitzada la reacció, es purifica el producte per *dry-flash* usant com a fase estacionària sílice i com a fase mòbil hexà/acetat d'etil. La reacció s'ha dut a terme amb l'acetat metílic i etílic de trifenilfosforanilidèn 102{1} i 102{2} amb rendiment quantitatiu en ambdós casos. Posteriorment, es comprova que totes les dades espectroscòpiques són coherents amb les estructures proposades 134{1} i 134{2}. En els espectres tant de protó com de carboni es pot observar l'obtenció dels dos isòmers *cis* i *trans* en una proporció de 8:1, sent majoritària la configuració *trans*. S'obté aproximadament la mateixa relació d'isòmers tant si l'èster usat és metílic com si és etílic. D'altra banda en el cas de l'èster metílic s'aconsegueix obtenir l'anàlisi elemental orgànic dins dels rangs establerts.

Una vegada obtingut el 3-(4-(dietiloximetil)fenil)acrilat 134, es pot o bé formar la piridona o bé unir l'amina 2 amb desprotecció prèvia de l'acetal.

## 2.8.3. Síntesi de 4-(2-cianoglutarimido-3-il)benzaldehyd (137)

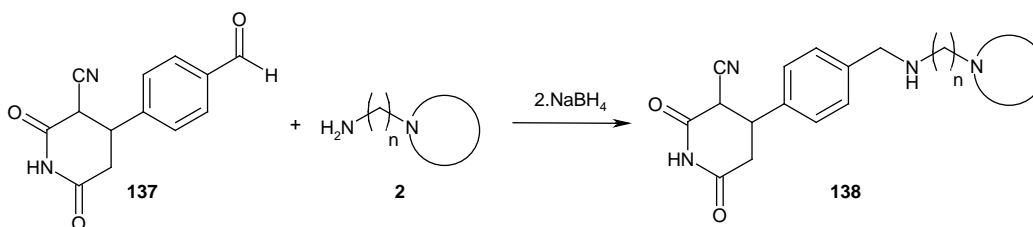
Per formar l'estructura piridònica, s'adapta la metodologia ja descrita amb anterioritat (apartat 2.4.), en la que es barregen per cada mmol de 3-(4-(dietoximetil)fenil)acrilat de metil 134{1}, 1.1 mmol de malononitril (8), 1.25 mmol de NaOMe en 1.6 mL de metanol anhidre. Es porta la barreja a reflux durant 5 hores i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda. Posteriorment

es dissol el cru obtingut en la mínima quantitat d'aigua i s'ajusta el pH a 7 amb àcid clorhídric 2M. En aquest punt es genera una pasta molt viscosa pel que es decideix realitzar el seu espectre d<sup>1</sup>H-RMN per tractar d'identificar-ne l'estructura. La presència d'un senyal a 10.01 ppm indica la desprotecció de l'acetal i, per tant, la formació d'un aldehid encara que només de manera parcial ja que es conserven els senyals característics de l'acetal. S'aprofita la desprotecció parcial de l'acetal per tractar el cru amb àcid clorhídric 1.5 M durant una hora a temperatura ambient amb l'objectiu d'acabar de desprotegir l'acetal i formar la glutarimida. Es recupera per filtració el sòlid blanc format, es renta amb aigua freda i s'asseca sobre pentòxid de fòsfor (Figura 2.44). Finalment es confirma l'obtenció del 4-(2-cianoglutarimido-3-il)benzaldehyd (**137**) amb un rendiment del 90%. En l'espectre d<sup>1</sup>H-RMN de **137** s'observen tres senyals molt característics de l'estructura: un senyal amb desplaçament químic 11.51 ppm corresponent al protó lactàmic, un altre senyal a 10.02 ppm corresponent al grup aldehid i un tercer a 4.96 ppm corresponent al protó metínic en α de nitril. En l'espectre d'IR es pot apreciar clarament la formació de la glutarimida per la presència d'una banda a 2254 cm<sup>-1</sup> corresponent a la tensió del nitril. Per altra banda es confirma també l'estructura tant per espectrometria de masses com per AEO.



**Figura 2.44:** Reacció de formació de 4-(2-cianoglutarimido-3-il)benzaldehyd (**137**) a partir de 3-(4-(diètoximetil)fenil)acrilat de metil (**134{1}**)

#### 2.8.4. Estudi d'obtenció de compostos mixtes amino-glutarimida **138**

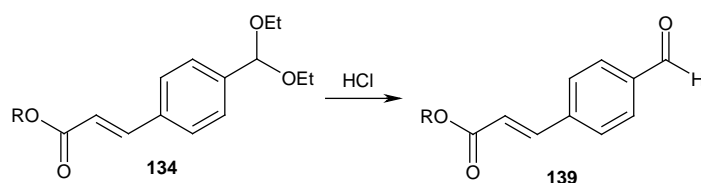


**Figura 2.45:** Reacció d'obtenció de compostos mixtes amino-glutarimida **138**

Obtingut el 4-(2-cianoglutarimido-3-il)benzaldehyd (**137**), es realitza l'aminació reductora adaptant les condicions exposades en l'apartat 1.2.1.1. del Capítol 1. Es dissolen, en quantitat equimolar, 4-(2-cianoglutarimido-3-il)benzaldehyd (**137**) i amina **2** en metanol anhidre en

presència de sulfat sòdic anhidre i s'agita a temperatura ambient durant 18 hores. Tot seguit es filtra el sulfat sòdic i s'afegeix borohidruir sòdic en quantitat equimolar i es deixa en agitació durant 5 hores a temperatura ambient. Finalitzat aquest temps, s'afegeix aigua i es realitzen extraccions amb clorur de metilè. Es registra l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN però no es detecta el producte desitjat **138**. Es creu que això es degut al caràcter amfipròtic de **138**. En efecte, el caràcter bàsic del borohidruir sòdic és capaç de ionitzar la glutarimida i per tant solubilitzar-la en la fase aquosa i, en canvi, si s'acidula el medi per evitar aquesta ionització el compost segueix solubilitzant-se en aigua degut a la formació de la sal de l'amina. Així doncs, mitjançant aquesta via sintètica no es pot separar el compost de les impureses derivades de la hidròlisi del borohidruir sòdic.

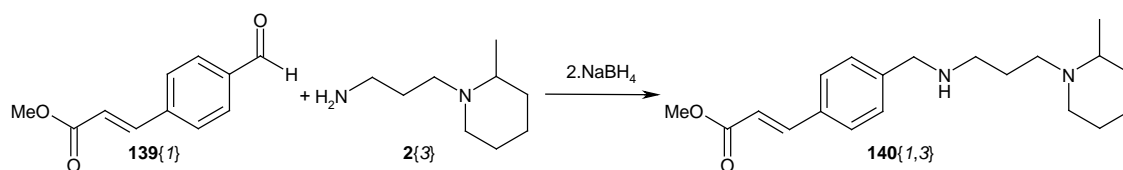
### 2.8.5. Síntesi de 3-(4-formilfenil)acrilat de metil (**139**{1}) i d'etil (**139**{2})



**Figura 2.46:** Reacció d'obtenció de 3-(4-formilfenil)acrilat **139** sent  $R = Me, Et$

Degut a que no es pot obtenir les estructures desitjades **138** mitjançant la via sintètica A, es decideix assajar la via sintètica B (Figura 2.40). La primera etapa de síntesi és l'obtenció de 3-(4-formilfenil)acrilat de metil (**139**{1}) o d'etil (**139**{2}) a partir de 3-(4-(dietiloximetil)fenil)acrilat (**134**{1}) i (**134**{2}) respectivament. Per hidrolitzar l'acetal es procedeix tal i com s'ha comentat anteriorment en l'apartat 1.2.1.1. del Capítol 1. Es fa reaccionar el 3-(4-(dietoximetil)fenil)acrilat (**134**) i una dissolució d'àcid clorhídric 2M en excés durant 7 hores a temperatura ambient. Es realitzen extraccions amb clorur de metilè, s'asseca la fase orgànica sobre sulfat de magnesi anhidre i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda. Finalment s'obté un sòlid de color blanc amb un rendiment quantitatiu tant si s'usa l'èster metilat com etilat. Es confirmen espectroscòpicament les estructures (**139**{1}) i (**139**{2}). En l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN, a banda d'observar-se duplictat de senyals degut a la presència d'isòmers *cis-trans* de la insaturació, s'observa la presència a 10.03 ppm del senyal corresponent a l'aldehid format a més de la desaparició dels senyals a 5.51, 3.58 i 1.24 ppm corresponents al metí i als etils de l'acetal, respectivament. En l'espectre de <sup>13</sup>C-RMN s'observa el mateix fenomen de duplictat de senyals. Es confirma també l'estructura per espectroscòpia d'IR per l'aparició d'un nou senyal a la zona de tensió de carbonils a 1685 cm<sup>-1</sup>, corresponent al carbonil de l'aldehid. Finalment es confirma la puresa del producte obtingut per AEO en el cas de l'èster metilat.

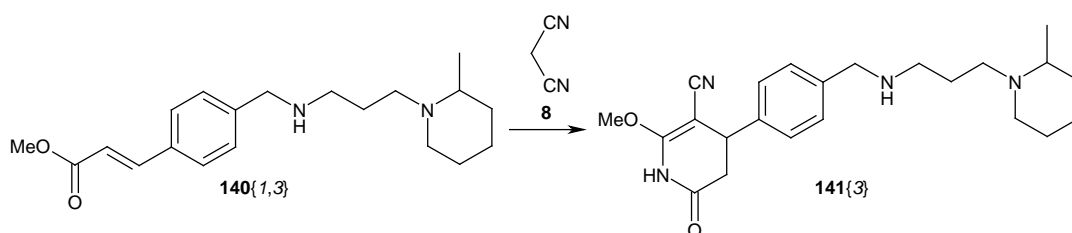
### 2.8.6. Síntesi de 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)acrilat de metil (140{1,3})



**Figura 2.47:** Reacció d'obtenció de 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)acrilat de metil (140{1,3})

Una vegada sintetitzat 3-(4-formilfenil)acrilat de metil (**139{1}**) s'obté el 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)acrilat de metil (**140{1,3}**) mitjançant una amidació reductora -amb les mateixes condicions exposades al llarg del treball (Apartat 1.2.1.1. del Capítol 1) amb un rendiment del 99 %. S'ha escollit la 1-(3-aminopropil)-2-pipecolina (**2{3}**) com amina per ser la que presentava millors valors d'activitat anti-VIH en el treball de S. Pettersson.<sup>[65]</sup> Esmentar que el seguiment de la reacció es pot realitzar tant per cromatografia de capa prima com per <sup>1</sup>H-RMN observant-se la desaparició del senyal corresponent a l'aldehid i l'aparició d'un senyal a 8.29 ppm corresponent al metí de l'intermedi imínic generat abans de la reducció. Una vegada aïllat el compost, es confirma per <sup>1</sup>H-RMN i <sup>13</sup>C-RMN i IR la seva obtenció. La pèrdua de la funcionalitat aldehydica, fruit de l'aminació reductora, és el factor clau que indica que la reacció s'ha produït. Aquest fet és fàcilment observable en l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN, per la desaparició del senyal corresponent al protó de l'aldehid a 10.03 ppm. Aquest fet també és observable en l'espectre de <sup>13</sup>C-RMN per la desaparició d'un senyal corresponent a un carboni quaternari i l'aparició d'un senyal corresponent a un carboni secundari. La no presència de la funcionalitat aldehydica també és perceptible per la desaparició d'una de les bandes en la zona de tensions carboníliques en l'espectre d'IR. Finalment, s'acaba de confirmar l'obtenció de **140{1,3}** tant per espectrometria de masses com per AEO.

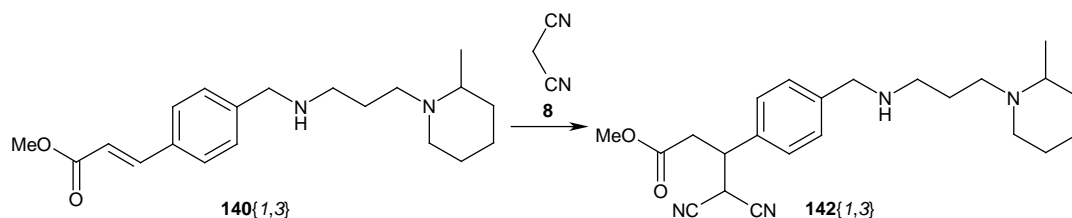
### 2.8.7. Estudi d'obtenció de 4-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)-1,4,5,6-tetrahidro-2-metoxi-6-oxipiridin-3-carbonitril (141{3})



**Figura 2.48:** Reacció d'obtenció de 4-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)-1,4,5,6-tetrahidro-2-metoxi-6-oxipiridin-3-carbonitril (**141{3}**)

Una vegada introduïda l'amina via aminació reductora, es prova de formar l'anell piridònic per reacció amb malononitril (**8**). Es procedeix com en casos anteriors (apartat 2.4.) en que es dissolen 1.1 mmol de malononitril (**8**) en 1.6 mL de MeOH anhidre amb 1.25 mmol de metòxid sòdic. Es deixa refredar la dissolució i s'afegeix a poc a poc l'èster  $\alpha,\beta$ -insaturat **140**{1,3} (1 mmol). Després d'escalfar a reflux durant 5 hores, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda i es dissol el cru en la mínima quantitat d'aigua i es regula el pH a 7 amb una dissolució d'àcid clorhídric 2M. Normalment, en afegir àcid les estructures piridòniques precipiten però en aquest cas concret tot i observar la formació d'un sòlid blanc en el lloc de contacte entre el cru i la dissolució d'àcid, aquest es redissol a l'instant. Això es pot explicar novament pel caràcter amfipròtic del compost **141**{3}, el qual capta primer un protó per neutralitzar l'anió del sistema piridònic però després, degut a la presència de l'amina, forma el clorhidrat d'aquesta solubilitzant el producte. Es produeix doncs la mateixa situació que el cas de **138** a on ha estat impossible aïllar el producte del medi de reacció degut al seu caràcter anfipròtic. Per intentar solucionar aquest problema, s'ha provat de substituir l'àcid clorhídric per un àcid més dèbil, com l'àcid acètic, per així controlar la quantitat d'àcid afegida, però s'obté el mateix resultat negatiu.

### 2.8.8. Síntesi de 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)-4,4-dicianobutanoat de metil (**142**{1,3})

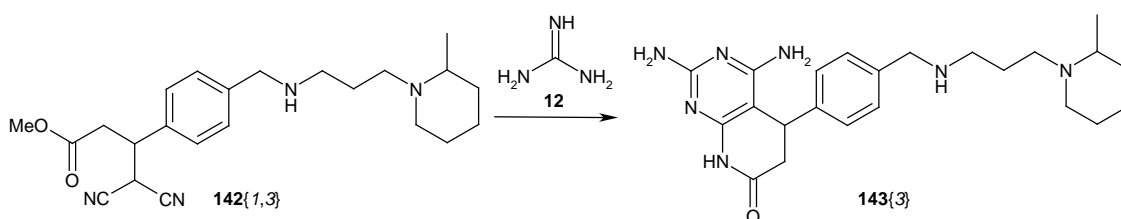


**Figura 2.49:** Reacció d'obtenció de 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)-4,4-dicianobutanoat de metil (**142**{1,3})

Davant del problema d'obtenció d'estructures mixtes amino-piridona **141**, es va pensar en formar directament l'estructura pirido[2,3-*d*]pirimidínica, però per evitar passar per la corresponent estructura piridònica es sintetitza l'intermedi obert **142**, a partir del qual es pot accedir a la corresponent piridopirimidina. Per obtenir l'esmentat intermedi obert s'adapten les metodologies desenvolupades anteriorment en el grup<sup>[53,66]</sup> en que es barregen malononitril (**8**) i metòxid sòdic en THF en proporció 1 a 1. A continuació s'afegeixen a poc a poc 0.2 equivalents de l'èster **140**{1,3} i es deixa en agitació durant 1.5 h a 35-40 °C. Tot seguit es refreda, es neutralitza amb àcid acètic i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda. Posteriorment s'afegeix aigua i es realitzen extraccions amb clorur de metilè. Després d'assecar el dissolvent sobre sulfat magnèsic anhidre i d'eliminar-lo a pressió reduïda es comprova que no s'ha pogut aïllar el

producte desitjat **142**{1,3}, probablement degut a la seva solubilització en medi aquós per formació de la sal amb l'àcid acètic. Per tant, es realitza una modificació del protocol d'aïllament usual en el qual s'afegeix carbonat potàssic sobre la fase aquosa prèviament acidulada i s'extreu amb clorur de metilè. Així s'aïlla **142**{1,3} en forma d'oli marronós amb un rendiment del 60%. Es caracteritza espectroscòpicament per la desaparició en l'espectre de  $^1\text{H}$ -RMN dels doblets (7.69 i 6.42 ppm) corresponents a la insaturació, cosa que indica que s'ha dut a terme l'addició de Michael. En l'espectre d'IR s'observa la presència de dos bandes a 2203 i 2166  $\text{cm}^{-1}$  corresponents a la tensió nitrílica. Finalment es confirma l'obtenció del compost **142**{1,3} per espectrometria de masses d'alta resolució amb ionització FAB en que s'obté un senyal amb un valor de  $m/z = 397.2605$  corresponent a  $[\text{M}+\text{H}]^+$  quan el valor calculat és de 397.2604.

### 2.8.9. Estudi d'obtenció de 5-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)-2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona (**143**{3})



**Figura 2.50:** Reacció d'estudi d'obtenció de 5-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)-2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona (**143**{3})

Per tal d'obtenir la 5-(4-((3-(2-pipecolin-1-il)propilamino)metil)fenil)-2,4-diamino-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona (**143**{3}) s'adapta una de les metodologies de que es disposa en el grup.<sup>[53]</sup> Primer per alliberar la guanidina (**12**), s'escalfa amb microones a 65 °C carbonat de guanidina i metòxid sòdic en metanol anhidre en proporció 1 a 2. Una vegada alliberada la guanidina (**12**) es separa del carbonat sòdic format per filtració i s'afegeix l'adducte **142**{1,3} per posteriorment escalfar a reflux durant 24 hores. Generalment quan es forma la piridopiridina aquesta precipita en el medi sent aïllable per filtració, però en aquest cas no s'observa la formació de cap precipitat. S'elimina el dissolvent a pressió reduïda, es realitza l'espectre d' $^1\text{H}$ -RMN i s'observa un cru molt complex. Tot i això s'aconsegueix precipitar un sòlid afegint una mescla metanol-èter dietílic en proporció 0.5:9.5. Es filtra el sòlid format, s'asseca i es realitza el seu espectre de protó on s'observa els senyals corresponents al protó de l'amida a 10.09 ppm i els dels protons de les amines (6.07 i 5.84 ppm). Tot i observar senyals corresponents al producte **143**{3} també s'observen impureses. S'ha provat de purificar el producte tant emprant sílice com alumina com a fase estacionària i diversitat de mesclades de dissolvents però no ha estat possible aïllar el producte pur.

## 2.9. Avaluació de l'activitat anti-VIH de les estructures bispiridòniques, bisglutarimídiques i bispirido[2,3-d]pirimidíniques

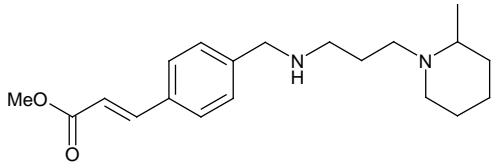
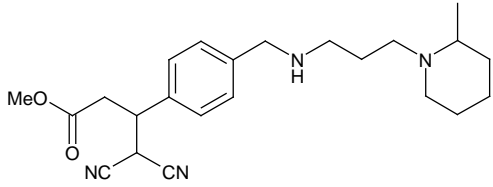
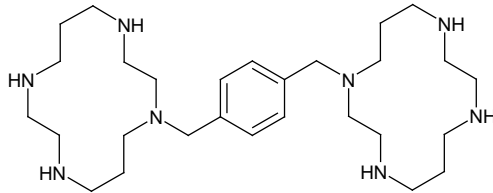
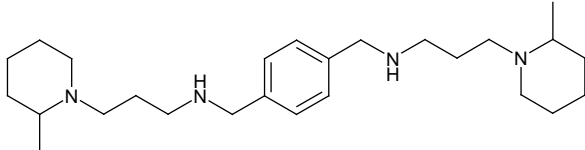
Es determina l'activitat anti-VIH ( $EC_{50}$ ) i la citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) dels compostos bispiridònics, bisglutarimídics i bispirido[2,3-d]pirimidínics en el grup del Dr. Esté del Laboratori de Retrovirologia de la Fundació IrsiCaixa emprant la metodologia detallada en el Capítol 1 (Apartat 1.4.). Es mostren els valors obtinguts en la Taula 2.7.

**Taula 2.7:** Valors d'activitat anti-VIH ( $EC_{50}$ ) i de citotoxicitat ( $CC_{50}$ ) dels compostos bispiridònics, bisglutarimídics, bispirido[2,3-d]pirimidínics, algun intermedi i com a compostos de referència AMD3100 (inhibidor d'unió del VIH a CXCR4) i 3{3} (inhibidor d'unió del VIH a CXCR4 dissenyat per S. Pettersson)<sup>[63,65]</sup>

Estructura	Nom	$EC_{50}$ μg/mL	$CC_{50}$ μg/mL
	<b>68</b>	>125	>125
	<b>69</b>	76	>125
	<b>114</b>	>29.64	30
	<b>73</b>	>59.4	>59.4



Estructura	Nom	EC <sub>50</sub> μg/mL	CC <sub>50</sub> μg/mL
	<b>74</b>	enviat	enviat
	<b>75</b>	insoluble	insoluble
	<b>76</b>	insoluble	Insoluble
	<b>118</b>	insoluble	Insoluble
	<b>124</b>	>125	>125
	<b>125</b>	>6.40	>6

Estructura	Nom	EC <sub>50</sub> µg/mL	CC <sub>50</sub> µg/mL
	<b>140</b> {1,3}	2.34	11
	<b>142</b> {3}	3.7	66
	<b>AMD3100</b>	0.002	>5
	<b>3</b> {3}	0.050	53

Abans d'analitzar els valors d'activitat anti-VIH, s'ha de comentar que no ha estat possible assajar-ne l'activitat de les estructures bispirido[2,3-*d*]pirimidíniques sense metilar **75**, **76** i **118** degut a la baixa solubilitat dels compostos en DMSO que és el dissolvent que s'usa en aquests tests. D'altra banda també cal mencionar que s'està a l'espera del resultat per el compost **74**.

Si es comparen les estructures bispiridòniques **68**, **69** i **114**, s'observa que la tinença d'un espaiador *p*-fenilbismetilènic, com en el cas de **69**, aporta certa activitat al compost (EC<sub>50</sub> = 76 µg/mL) front a la inactivitat, a la concentració màxima assajada (EC<sub>50</sub> > 125 µg/mL), quan l'espaiador és *p*-fenilènic (**68**). Tot i presentar activitat, aquesta és uns 4 ordres de magnitud menys activa que l'AMD3100. També es conclou que les cadenes laterals hexiloxi de l'espaiador provoquen citotoxicitat a una concentració de 30 µg/mL i com que no ha presentat activitat a concentracions inferiors, no ha estat possible determinar el valor d'activitat anti-VIH, tal i com es pot comprovar amb **114**.

Per altra banda, tot i estar a l'espera del resultat de l'activitat de **73**, es pot dir que la transformació de l'estructura piridònica a glutarimídica provoca citotoxicitat a concentració més baixa. Com es pot observar en la Taula 2.7, l'estructura bispiridònica **68** no presenta

citotoxicitat fins com a mínim a la concentració de 125 µg/mL mentre el compost bisglutarimídic **73** és citotòxic a una concentració de 59.4 µg/mL.

Pel que fa les estructures bispirido[2,3-*d*]pirimidíniques, es constata que quan es metilen només les posicions lactàmiques (**124**), la presència d'aquest metil no afecta a la citotoxicitat, ni aporta activitat a una concentració menor de 125 µg/mL. En canvi l'estructura dodecametilada **125** mostra citotoxicitat a menor concentració (6 µg/mL), cosa que no permet l'avaluació de la seva activitat en ser tòxic a una concentració menor que la de la seva activitat.

Per últim, mencionar que ni **140**{1,3} ni **142**{3} amb uns valors d'activitat d' $EC_{50} = 2.34 \mu\text{g/mL}$  i  $EC_{50} = 3.7 \mu\text{g/mL}$  respectivament milloren el valor d'activitat de **91** ( $EC_{50} = 0.050 \mu\text{g/mL}$ ).

## Bibliografia

- [1] C. E. De, N. Yamamoto, R. Pauwels, M. Baba, D. Schols, H. Nakashima, J. Balzarini, Z. Debyser, B. A. Murrer, D. Schwartz, a. et. Potent and selective inhibition of human immunodeficiency virus (HIV)-1 and HIV-2 replication by a class of bicyclams interacting with a viral uncoating event. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1992**, 89 (12), p. 5286-5290.
- [2] S. Hatse, K. Princen, E. De Clercq, M. M. Rosenkilde, T. W. Schwartz, P. E. Hernandez-Abad, R. T. Skerlj, G. J. Bridger, D. Schols. AMD3465, a monomacrocyclic CXCR4 antagonist and potent HIV entry inhibitor. *Biochem. Pharmacol.*, **2005**, 70 (5), p. 752-761.
- [3] P. Victory, J. Diago. Contribution to the synthesis of glutarimides. II. *Afinidad*, **1978**, 35 (354), p. 161-165.
- [4] P. Victory, J. Diago. Contribution to the synthesis of glutarimides. *Afinidad*, **1978**, 35 (354), p. 154-158.
- [5] P. Victory, J. M. Jover, R. Nomen. The 3-cyano-2-methoxy-2,3-dehydropiperidin-6-ones as starting materials in synthesis. Synthesis of heterocycles. I. *Afinidad*, **1981**, 38 (376), p. 497-500.
- [6] L. Ros. Síntesi de sistemes pirido[2,3-*d*]pirimidínics per acoblament dels precursors amb espaiadors *p*-xililènics, com a potencials inhibidors d'entrada del VIH, Treball final de carrera, IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2006**.
- [7] A. B. Reitz, S. O. Nortey, A. D. Jordan Jr., M. S. Mutter, B. E. Maryanoff. Dramatic concentration dependence of stereochemistry in the Wittig reaction. Examination of the lithium salt effect. *J. Org. Chem.*, **1986**, 51 (17), p. 3302-3308.
- [8] E. Vedejs, C. F. Marth. Mechanism of the Wittig reaction: the role of substituents at phosphorus. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110 (12), p. 3948-3958.
- [9] E. Vedejs, C. F. Marth, R. Ruggeri. Substituent effects and the Wittig mechanism: the case of stereospecific oxaphosphetane decomposition. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110 (12), p. 3940-3948.
- [10] B. E. Maryanoff, A. B. Reitz, M. S. Mutter, R. R. Whittle, R. A. Olofson. Stereochemistry and mechanism of the Wittig reaction. Diastereomeric reaction intermediates and analysis of the reaction course. *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108 (24), p. 7664-7678.
- [11] E. Vedejs, C. F. Marth. Oxaphosphetane pseudorotation: rates and mechanistic significance in the Wittig reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111 (4), p. 1519-1520.
- [12] S. Trippett. The Wittig reaction. *Quart. Rev. (London)*, **1963**, 17 (4), p. 406-440.
- [13] G. A. Olah, V. V. Krishnamurthy. Unusual solvent effects in the Wittig reaction of some ketones indicating initial one-electron transfer. *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104 (14), p. 3987-3990.
- [14] W. J. Ward Jr., W. E. McEwen. Metal ion effects in Wittig reactions. A general hypothesis for the mechanism of the Wittig reaction. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55 (2), p. 493-500.

- [15] H. Yamataka, K. Nagareda, T. Hanafusa, S. Nagase. Electron transfer in the reaction of benzaldehyde with a nonstabilized ylide. *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 30 (51), p. 7187-7190.
- [16] E. Vedejs, C. F. Marth. Mechanism of Wittig reaction: evidence against betaine intermediates. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112 (10), p. 3905-3909.
- [17] C. Campà, F. Sanchez-Ferrando, M. Tristan-Polo. Double homologation of terephthalaldehyde by Wittig and Horner-Wittig reactions: synthesis of 1,4-benzenediacetaldehyde. *Nouv. J. Chim.*, **1985**, 9 (7), p. 493-498.
- [18] D. L. J. Clive, J. Wang. Synthesis of ( $\pm$ )-Hamigeran B, (-)-Hamigeran B, and ( $\pm$ )-1-*epi*-Hamigeran B: Use of Bulky Silyl Groups to Protect a Benzylic Carbon-Oxygen Bond from Hydrogenolysis. *J. Org. Chem.*, **2004**, 69 (8), p. 2773-2784.
- [19] R. Pedrosa, C. Andres, J. M. Iglesias. A novel straightforward synthesis of enantiopure tetrahydroisoquinoline alkaloids. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66 (1), p. 243-250.
- [20] T. Nagasaki, F. Watanabe, Y. Katsuyama, Y. Hamada, M. Ohtani, M. Narisada. Synthesis of carbon-14- and tritium-labeled(+)-[1R-[1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ (Z),3 $\beta$ ,4 $\alpha$ ]-7-[3-[(phenylsulfonyl)amino]bicyclo[2.2.1]hept-2-yl]-5-heptenoic acid, [(+)-S-145] and its calcium salt (S-1452). *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **1992**, 31 (1), p. 23-38.
- [21] M. C. de la Fuente, D. Dominguez. Synthesis of 1-phenyl- and 1-pyridyl-3-pyridoazepines by reductive cyclization of diarylacetonitriles. *Tetrahedron*, **2009**, 65 (18), p. 3653-3658.
- [22] S. E. Gibson, N. Guillo, R. J. Middleton, A. Thuilliez, M. J. Tozer. Synthesis of conformationally constrained phenylalanine analogs via 7-, 8- and 9-endo Heck cyclizations. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997** (4), p. 447-455.
- [23] M. Treu, U. Jordis. 4a,5,9,10,11,12-Hexahydro-6H-benzo[a]cyclohepta[hi]benzofuran - synthesis of unnatural galanthamine analogs. *Molecules*, **2002**, 7 (4), p. 374-381.
- [24] A. Rosowsky, C. E. Mota, J. E. Wright, J. H. Freisheim, J. J. Heusner, J. J. McCormack, S. F. Queener. 2,4-Diaminothieno[2,3-d]pyrimidine analogs of trimetrexate and piritrexim as potential inhibitors of *Pneumocystis carinii* and *Toxoplasma gondii* dihydrofolate reductase. *J. Med. Chem.*, **1993**, 36 (21), p. 3103-3112.
- [25] M. Tokunaga, Y. Shirogane, H. Aoyama, Y. Obora, Y. Tsuji. Copper-catalyzed oxidative cleavage of carbon-carbon double bond of enol ethers with molecular oxygen. *J. Organomet. Chem.*, **2005**, 690 (23), p. 5378-5382.
- [26] A. F. Rekasheva. The dependence of the mechanism of the hydrolysis, transesterification, and trans-etherification of  $\alpha,\beta$ -alkenyl ethers and esters on their structure. **1968**, 37 (12), p. 1009-1022.
- [27] W. Kuhn. Method for stabilizing phenylacetaldehyde against polymerization and self condensation using polybasic carboxylic acids. US patent 6624330. (filling date: 23/09/2003).
- [28] A. J. Fatiadi. Active manganese dioxide oxidation in organic chemistry. Part I. *Synthesis*, **1976** (2), p. 65-104.
- [29] A. J. Fatiadi. Active manganese dioxide oxidation in organic chemistry. Part II. *Synthesis*, **1976** (3), p. 133-167.

- [30] I. Galve. Estudio sobre el uso de un test ELISA para la determinación de actividad inhibidora sobre tirosina quinasas, Trabajo final de carrera, IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2008**.
- [31] R. A. Fernandes, P. Kumar. PCC-mediated novel oxidation reactions of homobenzylic and homoallylic alcohols. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44* (6), p. 1275-1278.
- [32] M. M. Khodaie, P. Salehi, M. Goodarzi.  $\gamma$ -Picolinium chlorochromate ( $\gamma$ -PCC): a new and efficient reagent for the oxidation of primary and secondary alcohols. *Synth. Commun.*, **2001**, *31* (8), p. 1253-1256.
- [33] K. B. Sharpless, K. Akashi, K. Oshima. Ruthenium-catalyzed oxidation of alcohols to aldehydes and ketones by amine-N-oxides. *Tetrahedron Lett.*, **1976** (29), p. 2503-2506.
- [34] M. A. Zolfigol, F. Shirini, G. Chehardoli, E. Kolvari. A catalytic and transition metal-free method for the chemoselective oxidation of alcohols to their corresponding carbonyl compounds using periodic acid or iodic acid in the presence of a catalytic amount of KBr. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2007**, *265* (1-2), p. 272-275.
- [35] X. Yu, F. Chen, H. Dai, X. Chen, Y. Kuang, B. Xie. Synthetic studies on coenzyme Q10: Part 1: An efficient and highly stereocontrolled synthesis of coenzyme Q10 via a C5+C45 strategy. *Helv. Chim. Acta*, **2005**, *88* (10), p. 2575-2581.
- [36] M. Bruggemann, C. Holst, D. Hoppe. First enantioselective total synthesis of both (+)- and (-)-metachromin A. *Eur. J. Org. Chem.*, **2001** (4), p. 647-654.
- [37] D. G. Hangauer. Total synthesis of erbstatin. *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27* (48), p. 5799-5802.
- [38] A. J. Mancuso, S. Huang, D. Swern. Oxidation of long-chain and related alcohols to carbonyls by dimethyl sulfoxide "activated" by oxalyl chloride. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43* (12), p. 2480-2482.
- [39] A. Dubey, S. R. V. Kandula, P. Kumar. Dimethyl sulfoxide pivaloyl chloride. A new reagent for oxidation of alcohols to carbonyls. *Synth. Commun.*, **2008**, *38* (5), p. 746-753.
- [40] M. Mammen, S. Dunham, A. Hughes, T. W. Lee, C. Husfeld, E. Stangeland. Preparation of biphenyl derivatives as  $\beta$ 2-adrenergic agonists and muscarinic antagonists for pulmonary disorders. 2004167167. 0826; Patent Application Date: 20040213.; Priority Application Date: 20030501.
- [41] X. Zhang, S. Sarkar, R. C. Larock. Synthesis of Naphthalenes and 2-Naphthols by the Electrophilic Cyclization of Alkynes. *J. Org. Chem.*, **2006**, *71* (1), p. 236-243.
- [42] L. Bouveault. Preparation of Ethylene Hydrocarbons. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1908**, *3*, p. 117-119.
- [43] K. Saigo, A. Morikawa, T. Mukaiyama. A facile method for the oxidation of alcohols. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1976**, *49* (6), p. 1656-1658.
- [44] S. Velusamy, T. Punniyamurthy. Novel Vanadium-Catalyzed Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones under Atmospheric Oxygen. *Org. Lett.*, **2004**, *6* (2), p. 217-219.
- [45] L. De Luca, G. Giacomelli, S. Masala, A. Porcheddu. Trichloroisocyanuric/TEMPO Oxidation of Alcohols under Mild Conditions: A Close Investigation. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68* (12), p. 4999-5001.

- [46] M. A. Zolfigol, F. Shirini, A. G. Choghamarani. Trichloroisocyanuric acid/KBr as a catalytic system for the chemoselective oxidation of benzylic and secondary alcohols. *Synthesis*, **2006** (12), p. 2043-2046.
- [47] N. Ackerley, A. G. Brewster, G. R. Brown, D. S. Clarke, A. J. Foubister, S. J. Griffin, J. A. Hudson, M. J. Smithers, P. R. O. Whittamore. A Novel Approach to Dual-Acting Thromboxane Receptor Antagonist/Synthase Inhibitors Based on the Link of 1,3-Dioxane-Thromboxane Receptor Antagonists and -Thromboxane Synthase Inhibitors. *J. Med. Chem.*, **1995**, *38* (10), p. 1608-1628.
- [48] R. Angelaud, Y. Zhong, P. Maligres, J. Lee, D. Askin. Synthesis of a  $\beta$ -amino acid pharmacophore via a  $\beta$ -lactam intermediate. *J. Org. Chem.*, **2005**, *70* (5), p. 1949-1952.
- [49] J. R. Parikh, W. V. E. Doering. Sulfur trioxide in the oxidation of alcohols by dimethyl sulfoxide. *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89* (21), p. 5505-5507.
- [50] R. W. Carling, P. D. Leeson, K. W. Moore, J. D. Smith, C. R. Moyes, I. M. Mawer, S. Thomas, T. Chan, R. Baker, et al. 3-Nitro-3,4-dihydro-2(1*H*)-quinolones. Excitatory amino acid antagonists acting at glycine-site NMDA and (*RS*)- $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptors. *J. Med. Chem.*, **1993**, *36* (22), p. 3397-3408.
- [51] T. Koizumi, K. Tsutsui, K. Tanaka. Selective formation of inter- and intramolecular A-D-A  $\pi$ - $\pi$  stacking: Solid-state structures of bis(pyridiniopropyl)benzenes. *Eur. J. Org. Chem.*, **2003** (23), p. 4528-4532.
- [52] Z. Zhang, Z. Zha, C. Gan, C. Pan, Y. Zhou, Z. Wang, M. Zhou. Catalysis and Regioselectivity of the Aqueous Heck Reaction by Pd(0) Nanoparticles under Ultrasonic Irradiation. *J. Org. Chem.*, **2006**, *71* (11), p. 4339-4342.
- [53] J. L. Matallana. Síntesi i activitat biològica d'anàlegs 7-oxo substituïts de l'àcid 5,10-dideaza-5,6,7,8-tetrahidrofòlic (DDATHF). Tesi doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **1998**.
- [54] P. Victory, R. Nomen, O. Colomina, M. Garriga, A. Crespo. New synthesis of pyrido[2,3-*d*]pyrimidines. I. Reaction of 6-alkoxy-5-cyano-3,4-dihydro-2-pyridones with guanidine and cyanamide. *Heterocycles*, **1985**, *23* (5), p. 1135-1141.
- [55] B. I. Martínez. Síntesi y actividad biológica de naálogos del ácido 5,10-dideaza-5,6,7,8-tetrahidrofòlico (DDATHF). Tesi doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **1997**.
- [56] À. R. Marsellés. N-alquilació de sistemes pirido[2,3-*d*]pirimidínics: Síntesi d'anàlegs de nucleòtids. Treball final de carrera, IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **1997**.
- [57] E. J. Corey, M. Chaykovsky. Methylsulfinyl carbanion. Formation and application to organic synthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, *87* (6), p. 1345-1353.
- [58] F. G. Bordwell, H. E. Fried. Heterocyclic aromatic anions with  $4n + 2$   $\pi$ -electrons. *J. Org. Chem.*, **1991**, *56* (13), p. 4218-4223.
- [59] W. S. Matthews, J. E. Bares, J. E. Bartmess, F. G. Bordwell, F. J. Cornforth, G. E. Drucker, Z. Margolin, R. J. McCallum, G. J. McCollum, N. R. Vanier. Equilibrium acidities of carbon acids. VI. Establishment of an absolute scale of acidities in dimethyl sulfoxide solution. *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97* (24), p. 7006-7014.

- [60] F. G. Bordwell, D. J. Algrim. Acidities of anilines in dimethyl sulfoxide solution. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110* (9), p. 2964-2968.
- [61] F. G. Bordwell, H. E. Fried. Acidities of the hydrogen-carbon protons in carboxylic esters, amides, and nitriles. *J. Org. Chem.*, **1981**, *46* (22), p. 4327-4331.
- [62] K. Princen, S. Hatse, K. Vermeire, S. Aquaro, E. De Clercq, L. Gerlach, M. Rosenkilde, T. W. Schwartz, R. Skerlj, G. Bridger, D. Schols. Inhibition of human immunodeficiency virus replication by a dual CCR5/CXCR4 antagonist. *J. Virol.*, **2004**, *78* (23), p. 12996-13006.
- [63] S. Pettersson. Diseño, selección y síntesis de nuevos inhibidores de entrada del VIH. Tesis doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2009**
- [64] M. M. Rosenkilde, L. Gerlach, S. Hatse, R. T. Skerlj, D. Schols, G. J. Bridger, T. W. Schwartz. Molecular Mechanism of Action of Monocyclam Versus Bicyclam Non-peptide Antagonists in the CXCR4 Chemokine Receptor. *J. Biol. Chem.*, **2007**, *282* (37), p. 27354-27365.
- [65] S. Pettersson, V. I. Perez-Nueno, L. Ros-Blanco, R. Puig de La Bellacasa, M. O. Rabal, X. Batllori, B. Clotet, I. Clotet-Codina, M. Armand-Ugon, J. Este, J. I. Borrell, J. Teixido. Discovery of novel non-cyclam polynitrogenated CXCR4 coreceptor inhibitors. *ChemMedChem*, **2008**, *3* (10), p. 1549-1557.
- [66] P. Victory, J. M. Jover, J. Sempere. Contribution to the synthesis of the glutarimides. III. *Afinidad*, **1981**, *38* (376), p. 491-495.

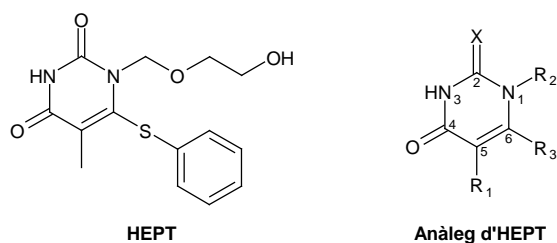


## **Capítol 3: Síntesi d'anàlegs d'HEPT**



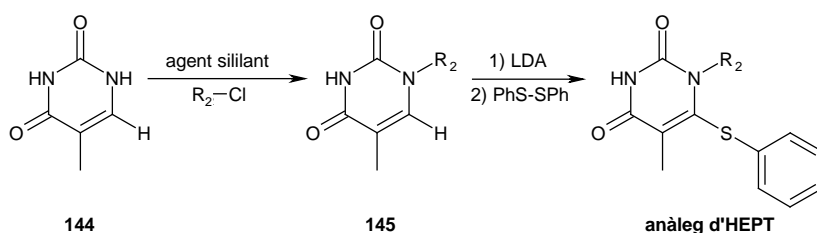
### 3.1. Introducció al disseny de síntesi combinatòria d'anàlegs d'HEPT 26

Des de que l'any 1989 Tanaka i col·laboradors van descobrir que la 1[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)timina (HEPT) presentava activitat anti-VIH,<sup>[1,2]</sup> aquest compost s'ha convertit en un cap de sèrie d'una llarga llista d'anàlegs amb més de 200 derivats descrits (Figura 3.1). Degut a aquest gran nombre de compostos descrits, l'HEPT i el seus anàlegs han estat usats en estudis computacionals de tot tipus. En el nostre grup i mitjançant el programari PRALINS es va dissenyar una quimioteca combinatòria.<sup>[3,4]</sup> El primer pas en aquest disseny va ser trobar una via sintètica que presentés les següents característiques: una síntesi robusta i de condicions poc dràstiques, de rendiments elevats i, a poder ser, automatitzable.



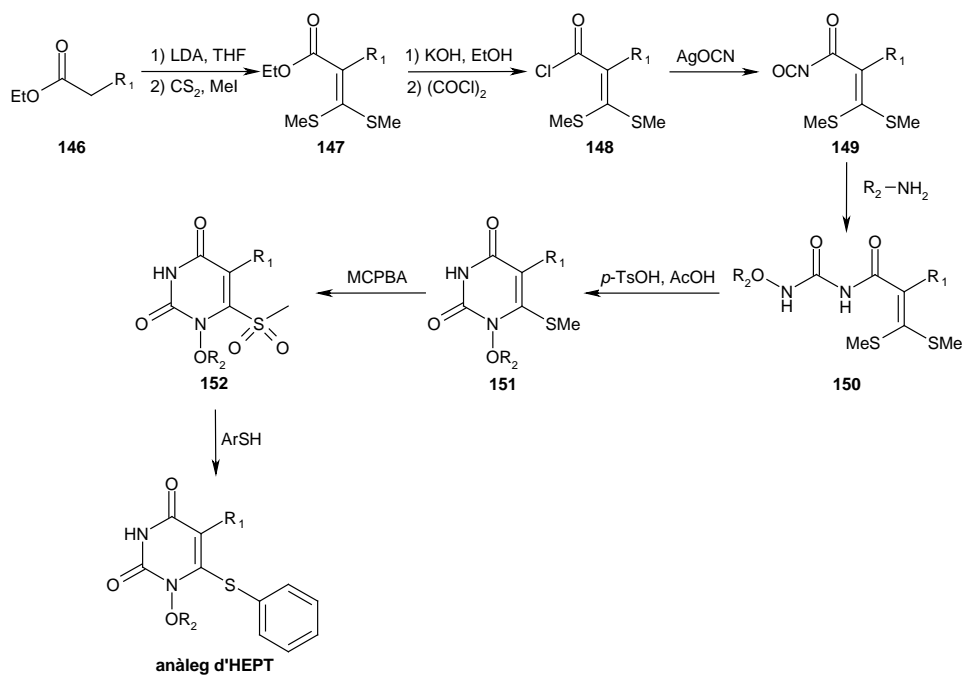
**Figura 3.1:** Estructura química de l'HEPT i dels seus anàlegs

Fins aleshores, la manera més habitual de sintetitzar anàlegs d'HEPT passava per una etapa de litiació amb l'objectiu d'introduir un substituent en la posició C6. L'agent de litiació emprat per aquest fi és diisopropil amidur de liti (LDA) ja que reacciona de manera regioespecífica<sup>[5]</sup> (Figura 3.2). El principal problema és la baixa temperatura a la que s'ha d'arribar per realitzar la reacció (-78 °C), condició que no permet aplicar fàcilment l'automatització de la síntesi.



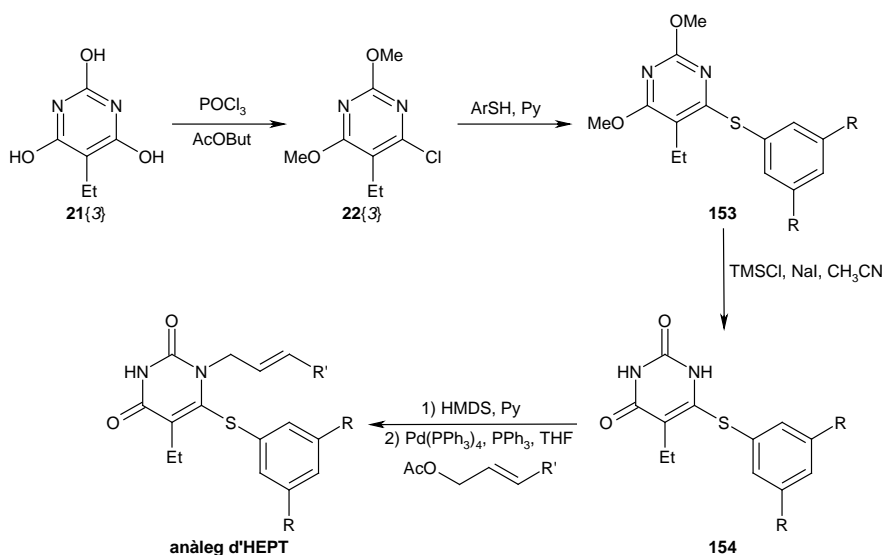
**Figura 3.2:** Reacció regioespecífica de substitució de la posició 6 via litiació proposada per Tanaka et al.<sup>[6]</sup>

S'han descrit dues alternatives sintètiques per tal d'evitar aquesta reacció. La primera proposta és una síntesi de set passos proposada per Kim i col·laboradors<sup>[7]</sup> (Figura 3.3). El problema d'aquesta metodologia estaria en el primer pas, en què s'empra de nou LDA.



**Figura 3.3:** Via sintètica alternativa proposada per Kim i col·laboradors<sup>[7]</sup>

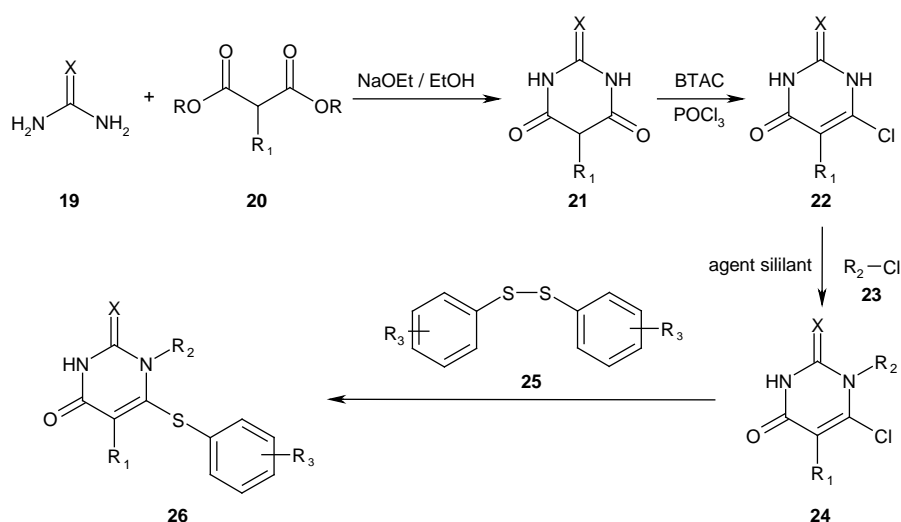
La segona alternativa és la descrita per Pontikis *et al.*,<sup>[8]</sup> una ruta sintètica de quatre passos, però no del tot compatible amb una síntesi automatitzable ja que empra un catalitzador de pal·ladi en el pas d'alquilació del nitrogen N1 (Figura 3.4). Tanaka i col·laboradors empen condicions de reacció molt més suaus, usant un agent siliant<sup>[5]</sup> (Figura 3.2).



**Figura 3.4:** Via sintètica alternativa proposada per Pontikis i col·laboradors<sup>[8]</sup>

En el nostre grup es va proposar una via sintètica alternativa fruit dels treballs de M. Mateu<sup>[3]</sup> i R. Pascual.<sup>[4]</sup> Aquests treballs, a l'hora de proposar una via sintètica van tenir en compte tots els factors sintètics esmentats amb anterioritat i, també, l'estudi de relacions estructura-activitat dut a terme pel nostre grup.<sup>[3,4]</sup> L'itinerari sintètic resultant es mostra en la

Figura 3.5. La síntesi s'inicia amb la formació del cicle principal per condensació d'un malonat **20** amb una urea o tiourea **19** en presència d'etòxid sòdic per formar un derivat barbitúric **21**. Aquesta síntesi de compostos barbitúrics **21** va ser posada a punt al nostre grup per L. Giménez.<sup>[9]</sup> Una vegada obtingut, el compost barbitúric **21** es fa reaccionar amb oxiclorur de fòsfor ( $\text{POCl}_3$ ) en presència de clorur de benziltriethylamoni (BTAC) rendint el 6-clorouracil **22**. L'obtenció selectiva del derivat N1 substituït **24** s'aconsegueix per reacció selectiva amb un clorur **23** prèvia siliació dels grups carbonil amb *N,O*-bis(trimetilsilil)acetamida (BSA). L'última etapa és la substitució del clor per un arilmercaptà per reacció amb el corresponent disulfur fenílic **25** (Figura 3.5).



**Figura 3.5:** Ruta sintètica d'obtenció d'anàlegs d'HEPT (**26**) proposada per M. Mateu, on  $X = \text{O}$ , S i  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3 = \text{qualsevol naturalesa química}$ <sup>[3]</sup>

A continuació es detalla amb més deteniment en la Taula 3.1, la naturalesa química dels diferents substituents seleccionats computacionalment en relació amb la diversitat química i viabilitat sintètica.

**Taula 3.1:** Selecció de reactius per sintetitzar la quimioteca d'anàlegs d'HEPT<sup>[3]</sup>

Fragment X	Reactiu comercial
O	Urea
S	Tiourea

Fragment $R_1$	Reactiu comercial
$\text{NO}_2$	Nitromalonat de dietil
<i>t</i> -But	<i>tert</i> -butilmalonat de dietil
H	Malonat de dietil
<i>n</i> -Pent	Pentilmalonat de dietil
$\text{CH}_3$	Metilmalonat de dietil

Fragment R <sub>2</sub>	Reactiu comercial
Bz_2,5-Me <sub>2</sub>	Clorur de 2,5-dimetilbenzil
CH <sub>2</sub> OPh_4Cl	α,4-dicloroanisole
CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Si(Me) <sub>3</sub>	Clorur de 2-(trimetilsilil)etoximetil
Me	Clorometà
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C(OH)Ph	(s)-(-)-3-cloro-1-fenil-1-propanol
CH <sub>2</sub> Si(Me) <sub>2</sub> Ph	(Clorometil)dimetilfenilsilà
CH <sub>2</sub> COOH	Àcid cloroacètic
CH <sub>2</sub> C(OMe) <sub>3</sub>	2-cloro-1,1,1-trimetoxietà
CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	2-clorometil etil èter
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(OEt) <sub>2</sub>	Dietil acetal de 3-cloropropionaldehid
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OPh	Clorur de 4-fenoxibutil

Fragment R <sub>3</sub>	Reactiu comercial
SPh_4-NO <sub>2</sub>	Disulfur de bis(4-nitrofenil)
SPh_3-NH <sub>2</sub>	3-aminotiofenol
SPh_3-Cl	3-clorotiofenol
SPh_2,6-Cl <sub>2</sub>	2,6-diclorotiofenol
SPh_4-COOH	Àcid 4-mercaptobenzoic
SPh	Tiofenol

La selecció de compostos representada en la Taula 3.1 és fruit d'un estudi que parteix d'una quimioteca combinatòria de 114300 compostos formats a partir de 2 urees, 15 malonats, 127 clorurs i 30 sulfurs diferents. Com que el volum d'aquesta quimioteca és inabordable, es duu a terme un filtratge d'estructures eliminant aquelles que no siguin bones candidates.<sup>[3]</sup> Els filratges portats a terme són:

- Filtratge per característiques: cal que el reactiu de partida sigui compatible amb la síntesi proposada
- Filtratge per propietats *drug-like*
- Filtratge per toxicitat, reactivitat i estabilitat
- Filtratge per viabilitat sintètica
- Filtratge per repetició de fragments

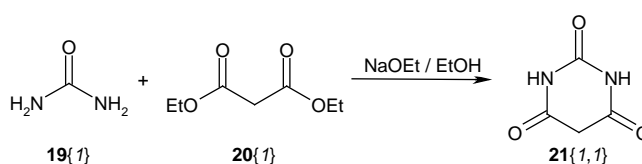
Una vegada finalitzat el filtratge, s'obté una quimioteca de (2x5x11x6) 660 estructures, reduint dràsticament d'aquesta manera el número d'estructures a sintetitzar.

La via sintètica proposada (Figura 3.5) requereix de disulfurs com a reactiu per derivatitzar la posició C6. Degut a la baixa disponibilitat comercial d'aquests compostos, s'han de sintetitzar a partir de tiofenols. Per tant, la ruta sintètica passa a ser convergent en aquest punt.

### 3.2. Síntesi dels derivats barbitúrics 21

Fent ús del disseny de M. Mateu,<sup>[3]</sup> es parteix de 2 urees **19** i 5 malonats (nitromalonat de dietil, *terc*-butilmalonat de dietil, malonat de dietil, *n*-pentilmalonat de dietil i metilmalonat de dietil) **20**. Amb la finalitat de sintetitzar els corresponents àcids barbitúrics (**21**), es consideren totes dues urees mentre que dels 5 malonats **20** es fa una nova selecció. Es descarten el *terc*-butilmalonat de dietil i el *n*-pentilmalonat de dietil degut a que L. Giménez va assajar la formació dels àcids barbitúrics amb els esmentats malonats sense èxit.<sup>[9]</sup> D'altra banda també es descarta l'ús del nitromalonat de dietil per ser incompatible amb l'últim pas de síntesi, ja que com es veurà en l'apartat 3.6 s'usa borohidruir sòdic, un agent reductor que reduiria el grup nitro a amino. De la selecció s'usen doncs malonat de dietil i metilmalonat de dietil. Per introduir major diversitat en la quimioteca es decideix d'incloure en l'estudi l'etilmalonat de dietil i l'isopropilmalonat de dietil, dos malonats presents en la primera quimioteca de 114300 compostos i que permetran una comparativa entre estructures derivatitzades en posició malònica amb grups poc i molt voluminosos.<sup>[3,4]</sup>

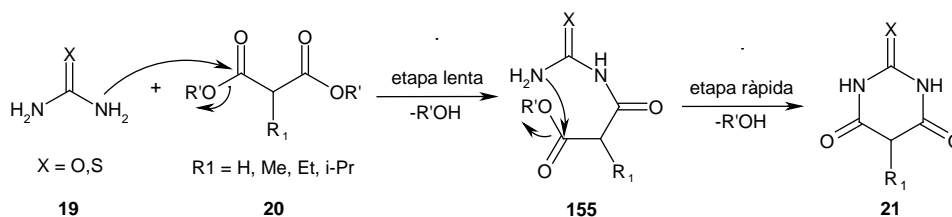
En el present treball, per tal de sintetitzar els àcids barbitúrics **21**, s'empra com a model la metòdica proposada l'any 1938 per J. B. Dickey i A. R. Gray<sup>[10]</sup> pel propi àcid barbitúric (**21**{1,1}) (Figura 3.6).



**Figura 3.6:** Síntesi de l'àcid barbitúric (**21**{1,1})

La variant més important que es realitza respecte a l'esmentada metòdica és la inversió en l'ordre d'addició dels reactius seguint el treball previ de L. Giménez.<sup>[9]</sup> A diferència del treball de Dickey i Gray,<sup>[10]</sup> s'afegeix primer la urea (**19**{1}) sobre la dissolució de NaOEt/EtOH per evitar reaccions en competència com poden ser la ionització en  $\alpha$  de carbonil del malonat **20**{1}. Per aquesta raó s'afegeix lentament en segon terme el malonat **20**{1}. Katritzky i Yousaf en el seu treball publicat l'any 1986 van ser capaços d'elucidar el mecanisme de reacció, mitjançant marcatge isotòpic de carboni 13, arribant a la conclusió que es dona en dues etapes. En la primera etapa, etapa lenta, es produeix la condensació entre un dels carbonils del

malonat i un dels nitrògens de la urea o tiourea produint-se l'eliminació d'una unitat de alcohol. La segona etapa, etapa ràpida es produeix la ciclació amb la pertinent eliminació d'alcohol.<sup>[11]</sup> (Figura 3.7).



**Figura 3.7:** Mecanisme de reacció de formació de derivats barbitúrics **21**<sup>[11]</sup>

Tot i que l'àcid barbitúric (**21**{1,1}) és disponible comercialment, es sintetitza com a referència per l'obtenció dels altres barbitúrics. Els barbitúrics **21** obtinguts, es presenten en la Taula 3.2 amb els seus corresponents rendiments, val a dir que **21**{2,2} i **21**{2,4} no es trobaven descrits en la literatura.

**Taula 3.2:** Taula resum dels barbitúrics **21** sintetitzats

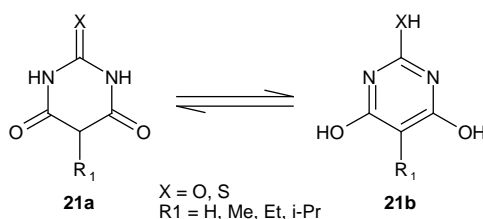
Urea Malonat	 <b>19</b> {1}	 <b>19</b> {2}
 <b>20</b> {1}	 <b>21</b> {1,1}	 <b>21</b> {2,1}
 <b>20</b> {2}	64% (75%) <sup>[10]</sup>	38% (81%) <sup>[12]</sup>
 <b>20</b> {2}	 <b>21</b> {1,2}	 <b>21</b> {2,2}
95%	80%	---
 <b>20</b> {3}	---	 <b>21</b> {2,3}
49%	---	 <b>21</b> {2,4}
 <b>20</b> {4}	---	78%

--- Compostos no sintetitzats

Els valors dels rendiments entre parèntesi són els valors bibliogràfics



En la caracterització dels àcids barbitúrics sintetitzats **21**, s'observa en molt dels casos multiplicitat de senyals tant en els espectres de  $^1\text{H}$ -RMN com en els espectres de  $^{13}\text{C}$ -RMN. Aquesta multiplicitat és deguda a la tautomeria ceto-enòlica que poden patir aquest tipus de molècules (Figura 3.8). Aquest fenomen és molt comú en estructures d'aquest tipus i, tal com es pot comprovar en el present treball, l'equilibri entre estructures és molt sensible al grup  $\text{R}_1$ .<sup>[13]</sup> Mitjançant els espectres de  $^1\text{H}$ -RMN, es pot quantificar la proporció entre ambdues formes (ceto:enol) (Taula 3.3).



**Figura 3.8:** Tautomeria ceto-enòlica

**Taula 3.3:** Proporcions de forma ceto i forma enol extretes dels  $^1\text{H}$ -RMN dels diferents àcids barbitúrics **21** sintetitzats

Estructura	Dissolvent	Forma ceto	Forma enol
<b>21</b> {1,1}	$\text{d}_6$ -DMSO	1	---
<b>21</b> {1,2}	$\text{d}_6$ -DMSO	5	1
<b>21</b> {2,2}	$\text{d}_6$ -DMSO	---	1
<b>21</b> {2,3}	$\text{d}_6$ -DMSO	1	4
<b>21</b> {2,4}	$\text{d}_6$ -acetona	1	---

A mode d'exemple, en la Figura 3.9 es mostra l'espectre de  $^{13}\text{C}$ -RMN de l'àcid 5-etiltiobarbitúric (**21**{2,3}). En aquest cas, s'observa el doble de senyals de l'esperat sent els de més intensitat els de la forma enòlica. S'arriba a la conclusió que els senyals més intensos corresponen a la forma enòlica i els menys intensos a la forma cetònica, perquè el senyal intens que s'observa a 96.6 ppm és d'un carboni quaternari -corroborat pel DEPT-135- i el seu desplaçament només pot correspondre a un carboni sense cap grup funcional associat, és a dir el carboni unit a  $\text{R}_1$ .

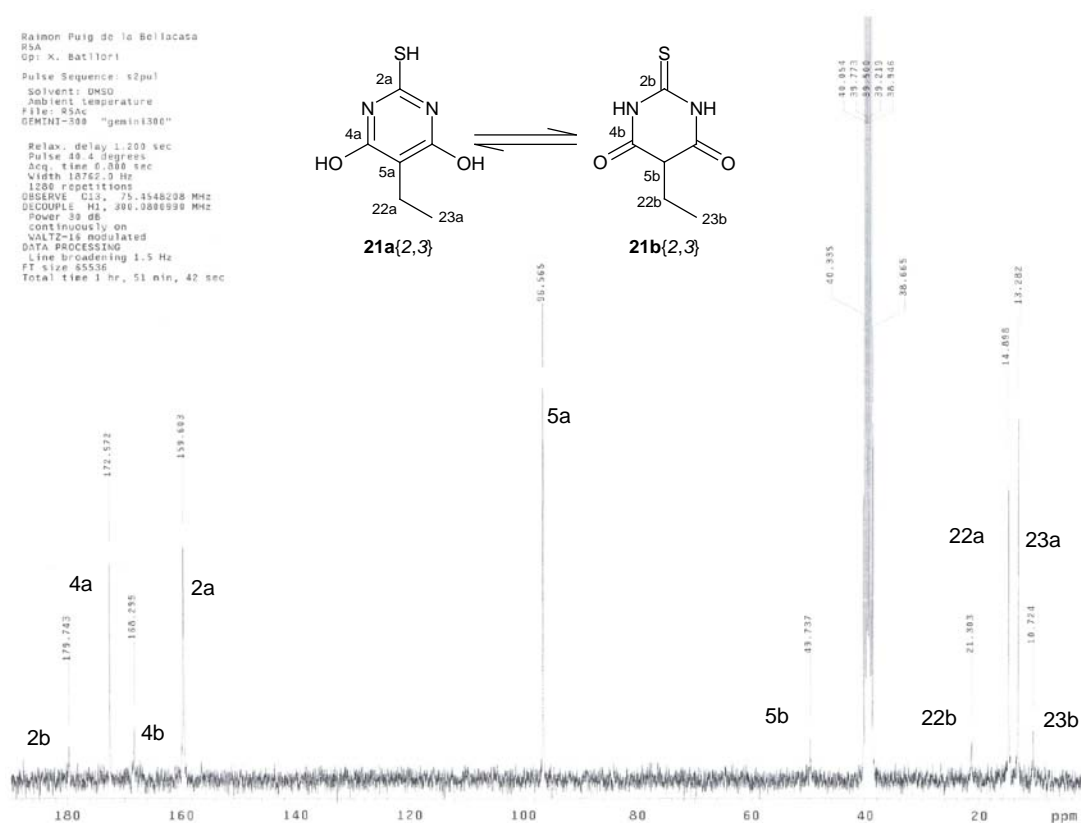


Figura 3.9:  $^{13}\text{C}$ -RMN de l'àcid 5-etiltiobarbitúric ( $21\{2,3\}$ )

Un altre exemple curiós pel que fa RMN és el cas del tiobarbitúric ( $21\{2,1\}$ ). D'una banda, en l'espectre de protó registrat en  $\text{d}_6$ -DMSO s'observen 3 senyals, tots ells deuterables, un d'ells, d'integral 2H, amb desplaçament químic a 12.19 ppm -segurament dels protons units als nitrògens- i els altres dos, d'integral 1H cadascun, apareixen a 4.91 i 3.55 ppm. El fet d'observar tres senyals diferents posa de manifest que algun dels carbonils ha patit tautomeria. En la Figura 3.10 es mostren totes les estructures tautomèriques possibles per  $21\{2,1\}$ . D'aquestes estructures es descarten  $21\text{a}\{2,1\}$ ,  $21\text{c}\{2,1\}$ ,  $21\text{e}\{2,1\}$ ,  $21\text{g}\{2,1\}$ ,  $21\text{i}\{2,1\}$  per presentar els dos protons en C5, característica que no es reflecteix en l'espectre de protó.

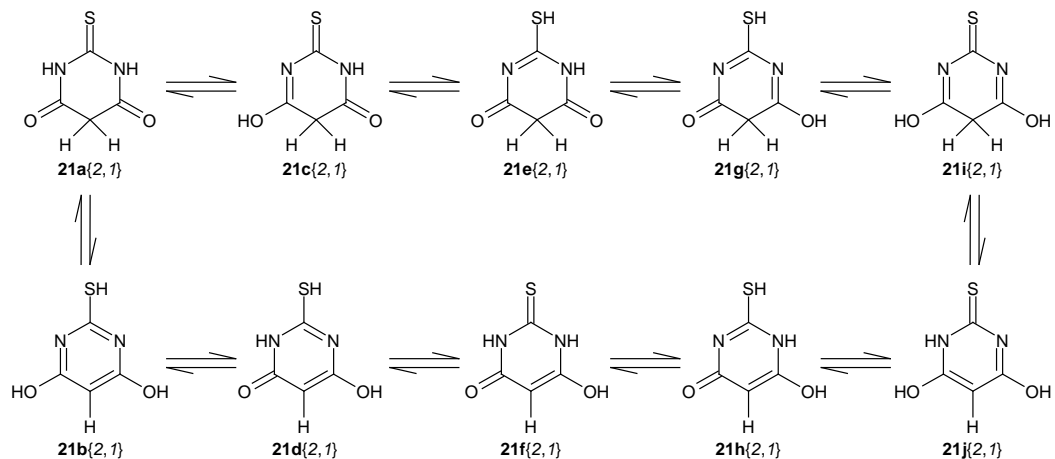
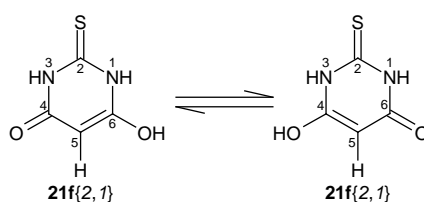


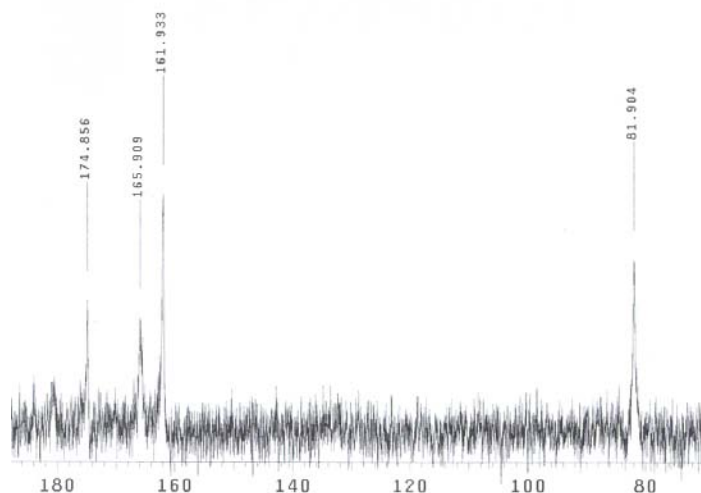
Figura 3.10: Estructures tautomèriques plausibles per  $21\{2,1\}$

A més, el fet de que el producte presenti 4 senyals en l'espectre de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Figura 3.12) indica asimetria en la molècula, raó per la qual es descarta l'estructura (**21b**{2,1}). Es realitza el DEPT per associar senyals a carbonis però s'obté que tots els senyals corresponen a carbonis quaternaris, cosa en principi incongruent amb qualsevol de les estructures proposades. Aquest fet s'explica per la pròpia tècnica del DEPT que consisteix en sotmetre la molècula a camp magnètic, es deixa relaxar i després es llegeix. Si en aquest lapse de temps de relaxació es produeix un equilibri tautomèric, el DEPT ja no el detecta. Es postula doncs la existència d'un equilibri ràpid entre tautòmers. Aquest fet acaba d'explicar la incongruència que existeix entre l'espectre de protó i el de carboni. Per una banda, l'espectre de carboni indueix a pensar en una estructura asimètrica pel fet de registrar-se 4 carbonis diferents, però l'espectre de protó suggereix una estructura simètrica pel fet de registrar-se només tres senyals i un d'ells corresponent a dos protons.

De les estructures de la Figura 3.10 que encara no s'han descartat només **21f**{2,1} explicaria aquesta suposada incongruència. En la Figura 3.11 es representa com l'estructura asimètrica, mitjançant un ràpid equilibri tautomèric pot ser simètrica a ulls de  $^1\text{H}$ -RMN, ja que s'obté sempre la mateixa estructura. Finalment es comparen els desplaçaments obtinguts amb les seves prediccions i es conclou que l'estructura obtinguda és **21f**{2,1}, una estructura mixta entre la forma ceto i la forma enol.



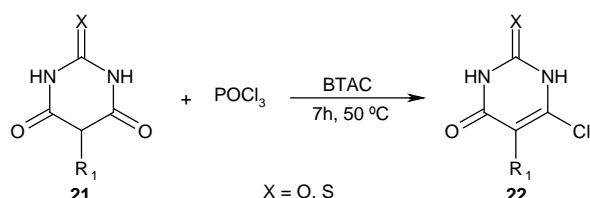
**Figura 3.11:** Moviment tautomèric de l'estructura **21f**{2,1}



**Figura 3.12:**  $^{13}\text{C}$ -RMN del tiobarbitúric (**21**{2,1})

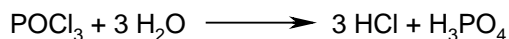
### 3.3. Síntesi dels 6-clorouracils **22**

Una vegada sintetitzats els derivats barbitúrics **21**, el segon pas de síntesi consisteix en clorar només la forma enòlica d'un dels carbonils provinents del malonat per tal d'obtenir els respectius 6-clorouracils **22**. En primer lloc s'empra la metodica de Lee *et al.*<sup>[14]</sup> en la que s'usa clorur de benziltriethylamoní (BTAC) juntament amb POCl<sub>3</sub> com agent de cloració (Figura 3.13).



**Figura 3.13:** Síntesi de 6-clorouracils **22**

La reacció consisteix en barrejar per cada mol de derivat barbitúric sintetitzat (**21**{1,1}, **21**{1,2}, **21**{2,1}, **21**{2,2}, **21**{2,3}, **21**{2,4}), 2 mols de BTAC i 25 mols de POCl<sub>3</sub> i escalfar durant 7 hores a 50°C sota atmosfera de nitrogen. Tot seguit s'elimina l'excés de POCl<sub>3</sub> a pressió reduïda fins a la formació d'un oli, s'addiciona gel i es deixa a la nevera durant un dia. És important eliminar bé tot el POCl<sub>3</sub> perquè sinó a l'afegir l'aigua es produeix la descomposició d'aquest en HCl i H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> de manera molt violenta degut a que el procés és molt exotèrmic (Figura 3.14). Finalment es filtra el precipitat format, es renta amb hexà calent i s'asseca sobre pentòxid de fòsfor al buit.



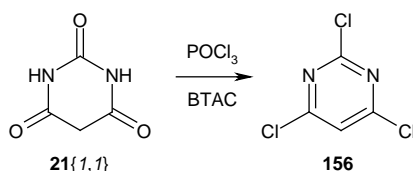
**Figura 3.14:** Reacció de descomposició del POCl<sub>3</sub>

És important mencionar que existeix una variant de l'etapa d'aïllament de la reacció quan es tracta de molècules *N*-alquilades, les quals s'obtenen mitjançant extraccions amb acetat d'etil<sup>[15]</sup> o cloroform<sup>[16]</sup> en comptes de deixar cristal·litzar el producte en la dissolució aquosa. A diferència dels àcids barbitúrics **21** sintetitzats, l'alquilació confereix a aquest tipus de molècules un caràcter menys polar, i per tant una major solubilitat en dissolvents orgànics. Sent els àcids barbitúrics obtinguts poc solubles en aquests dissolvents, es descarta aquest *work up*.

S'assaja la metodologia de Lee i col·laboradors<sup>[14]</sup> amb tots els derivats barbitúrics **21** sintetitzats prèviament i s'obté diversitat de resultats. S'ha de puntualitzar però que en el treball de Lee els àcids barbitúrics usats estan derivatitzats en la posició C5 amb grups més voluminosos que en el present treball, un factor que com es veurà més endavant s'ha de tenir en compte.

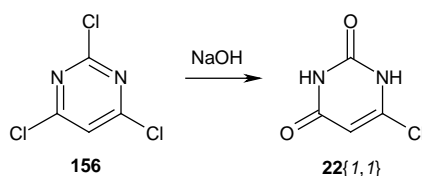
La primera molècula que es tracta de clorar és l'àcid barbitúric (**21**{1,1}), i s'obté un sòlid de color marró que es dissol en hexà calent en l'etapa de rentat quan suposadament aquestes estructures no són solubles en aquest medi. Un altre característica incongruent amb l'estructura proposada és el seu baix punt de fusió ( $T_f = 21-23\text{ }^\circ\text{C}$ ). Així doncs, per d'analitzar aquest producte, una vegada realitzada la reacció, en comptes de rentar-lo amb hexà calent es renta amb aigua freda.

L'espectre d' $^1\text{H}$ -RMN registrat en cloroform deuterat d'aquest producte només presenta un únic senyal a 7.40 ppm. Aquesta dada descarta l'obtenció de la molècula objectiu ja que s'haurien d'observar els protons associats als nitrògens o en el seu defecte els protons associats a oxígens de tenir alguna forma tautomèrica. A més, l'espectre d'IR no mostra cap banda relacionada amb enllaços N-H, C=O ni O-H. La pèrdua de totes aquestes funcionalitats, la presència d'un únic senyal en l'espectre de protó, indiquen que la molècula s'hagi pogut tricolorar. Es compara llavors tota l'espectroscòpia del producte obtingut amb els valors bibliogràfics de la 2,4,6-tricloropirimidina (**156**) i es confirma l'obtenció d'aquesta (Figura 3.15).<sup>[17]</sup>



**Figura 3.15:** Síntesi de 2,4,6-tricloropirimidina (**156**)

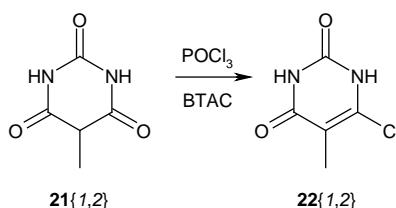
Donat que no s'ha aconseguit monoclorar l'àcid barbitúric (**21**{1,1}), i que en comptes de 6-clorouracil (**22**{1,1}) s'ha obtingut la 2,4,6-tricloropirimidina (**156**), porta a utilitzar la metodologia proposada per Ishikawa i col·laboradors per transformar la 2,4,6-tricloropirimidina (**156**) en el 6-clorouracil (**22**{1,1}) (Figura 3.16).<sup>[18]</sup> S'escalfa a reflux durant una hora la 2,4,6-tricloropirimidina (**156**) amb una dissolució aquosa de NaOH 1 M. Posteriorment, es refreda i s'acidula amb HCl concentrat fins assolir un pH ~ 2-3. Es deixa un dia a la nevera perquè precipiti el producte, es filtra, es renta amb aigua freda i s'asseca sobre pentòxid de fòsfor al buit. El rendiment d'obtenció de 6-clorouracil (**22**{1,1}) mitjançant aquesta metodologia és del 97%. Finalment, es comprova que les dades espectroscòpiques coincideixen amb les descrites en la bibliografia.<sup>[18]</sup>



**Figura 3.16:** Síntesi de 6-clorouracil (**22**{1,1}) a partir de 2,4,6-tricloropirimidina (**156**)

Donat que és un producte comercialment i econòmicament accessible, no cal sintetitzar la 2,4,6-tricloropirimidina (**156**) per generar tot el 6-clorouracil (**22**{1,1}) necessari per afrontar els següents passos de síntesi. El rendiment global de les dues etapes de reacció és del 54%.

Tot i que no s'aconsegueix sintetitzar el 6-clorouracil (**22**{1,1}) mitjançant la metodologia de Lee i col·laboradors,<sup>[14]</sup> aquesta s'assaja amb l'àcid 5-metilbarbitúric (**21**{1,2}) i s'obté 6-cloro-5-metiluracil (**22**{1,2}) pur amb un rendiment del 53% (Figura 3.17). Es confirma l'obtenció del compost desitjat per la desaparició en l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN del senyal corresponent al protó en posició C5, cosa que indica la presència de la insaturació resultant de la introducció de l'àtom de clor.



**Figura 3.17:** Síntesi de 6-cloro-5-metiluracil (**22**{1,2})

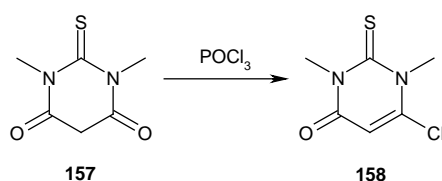
S'empra la metodologia descrita per Lee i col·laboradors<sup>[14]</sup> amb tots els tiobarbitúrics **21**{2,1}, **21**{2,2}, **21**{2,3}, **21**{2,4}, però no s'obtenen els productes desitjats, sinó mesclades de productes poc definits.

Fins ara s'havia usat la metodologia de Lee i col·laboradors<sup>[14]</sup> per ser la més senzilla i la que requeria de condicions més suaus, però davant dels problemes d'obtenció dels 6-clorotiouracils **21**{2,x} es va recórrer a d'altres variants: La primera variant consisteix en afegir una mica d'aigua en el medi de reacció de POCl<sub>3</sub> i escalfar durant 30 minuts a reflux (T ~ 120 °C).<sup>[19-21]</sup> La segona variant es tracta d'afegir una dissolució al 87% d'àcid fosfòric en comptes d'aigua i escalfar la reacció durant dues hores a 80-90 °C.<sup>[22]</sup> S'han assajat ambdues metodologies però sense assolir les molècules objectiu, segurament degut a la descomposició del reactiu de partida, ja que es desprèn olor de sulfur d'hidrogen del medi de reacció. Es decideix abandonar momentàniament aquesta branca de síntesi d'anàlegs de HEPT sulfurats i seguir amb els dos compostos aconseguits en aquest segon pas de síntesi.

Tots els problemes mencionats amb anterioritat en relació amb aquesta cloració es poden explicar a través d'un major coneixement del mecanisme de la reacció. Es fa una cerca més exhaustiva al voltant d'aquesta reacció i es troba d'una part en el treball de Koroniak i col·laboradors<sup>[23]</sup> l'afirmació de que la reacció pot passar per un intermedi tricolorat que no cal aïllar, ja que amb una posterior hidròlisi amb aigua s'obté el producte desitjat monoclorat **22**. En el present treball, s'ha pogut comprovar que la reacció realment passa per aquest intermedi tricolorat aïllant la 2,4,6-tricloropirimidina (**145**) en l'intent d'obtenció de 6-clorouracil (**22**{1,1}) a partir de l'àcid barbitúric (**21**{1,1}). En aquest cas concret, la hidròlisi de la 2,4,6-

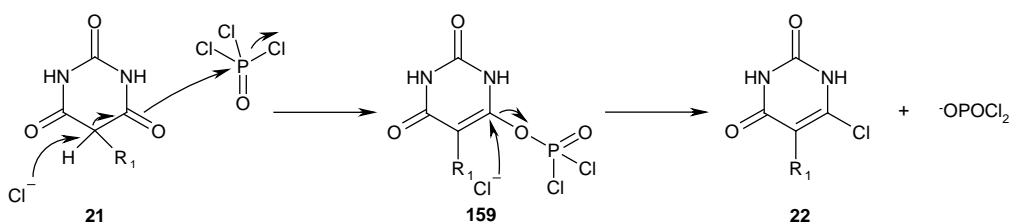
tricloropirimidina (**156**) no es produeix de manera tan senzilla com en el cas de **22**{1,2}, on simplement amb H<sub>2</sub>O es produeix la hidròlisi de l'intermedi triclorat, en canvi per **22**{1,1} es necessita de NaOH, una base més forta que l'H<sub>2</sub>O, per aconseguir-ho. Segurament la presència d'un derivat en la posició metilènica com és el cas de **21**{1,1}, afavoreix la hidròlisi o disminueix l'estabilitat de l'intermedi triclorat.

El fet de passar per un intermedi triclorat explicaria la no obtenció dels compostos monoclorats derivats dels tiobarbitúrics ja que en produir-se la substitució en posició tiocarbonílica per un clorur, el sofre en aquesta posició es perd (en forma d'àcid sulfúric tal i com s'ha comentat amb anterioritat). De fet, l'únic tiobarbitúric descrit en la bibliografia del qual s'obté el compost clorat té els nitrògens alquilats (Figura 3.18).<sup>[21]</sup>



**Figura 3.18:** Únic tiobarbitúric clorat descrit en la bibliografia

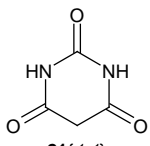
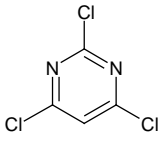
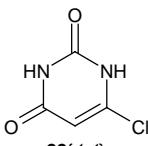
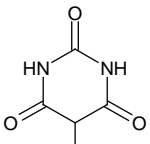
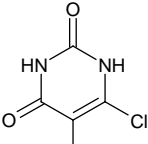
Tal com mostra la Figura 3.19, és necessari un moviment tautomèric per aconseguir la cloració. En canvi la posició 2 de la molècula de la Figura 3.18 no pot patir tautomeria per tenir els dos nitrògens alquilats, característica que anul·la la possibilitat de l'eliminació de l'àtom de sofre. El mecanisme de reacció es troba descrit per M. J. Robins i B. Uznański i comença amb un moviment tautomèric que permet l'atac per part de l'oxigen del carbonil sobre el fòsfor del triclorur de fosforil amb la consegüent pèrdua d'un àtom de clor per part d'aquest últim compost. Una vegada format aquest intermedi amb fòsfor (**159**) intervé el BTAC, que aporta anions clorur externs, que afavoreixen la conversió de l'intermedi cap al compost **22** desitjat i diclorofosfat.<sup>[24]</sup>



**Figura 3.19:** Mecanisme de reacció de la cloració dels barbitúrics **21**

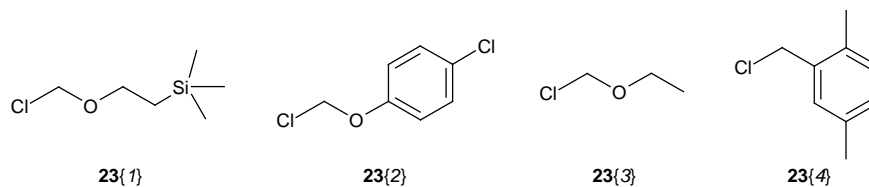
Els 6-clorouracils **22** sintetitzats, es presenten en la Taula 3.4 amb els seus corresponents rendiments.

**Taula 3.4:** Taula resum dels 6-clorouracils **22** sintetitzats. Entre parèntesi hi figuren els rendiments descrits a la bibliografia

Reactiu	Producte intermedi	Producte final
 21{1,1}	 156	 22{1,1}
	56%	97% (82%) <sup>[18]</sup>
 21{1,2}	---	 22{1,2}
		53%

### 3.4. Síntesi dels 6-cloro-N1-alquiluracils **24**

Una vegada més, fent ús del disseny de M. Mateu,<sup>[3]</sup> amb la finalitat d'alquilar la posició N1 de **22** s'escullen 4 clorurs d'alquil **23** dels 11 que es proposen en la seva selecció: clorur de 2-(trimetilsilil)etoximetil (SEM) (**23**{1}),  $\alpha$ ,4-dicloroanisol (**23**{2}), clorometilètilèter (**23**{3}), clorur de 2,5-dimetilbenzil (**23**{4}) ja que es disposa d'ells en el laboratori (Figura 3.20).



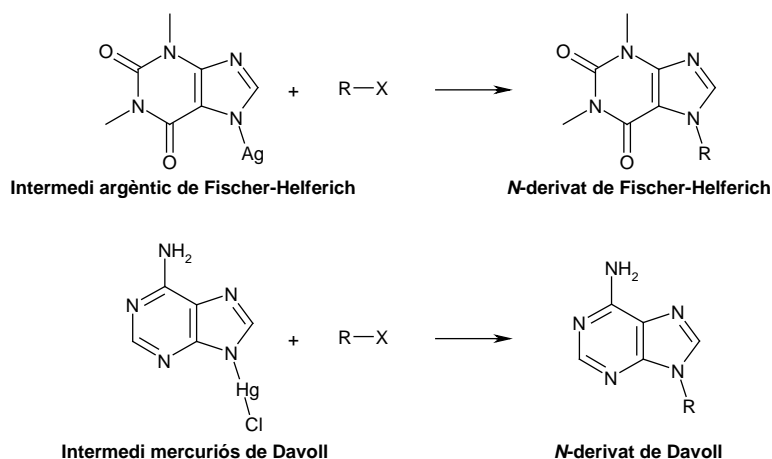
**Figura 3.20:** Clorurs **23** seleccionats

#### 3.4.1. Síntesi via agent sililant

Per tal d'inserir un substituent alquílic sobre un nitrogen d'aquestes característiques existeixen tres vies sintètiques principals.

1) La primera és mitjançant la reacció de Fischer-Helferich, que consisteix en formar la sal argèntica<sup>[25]</sup> o mercuriosa<sup>[26]</sup> (variant introduïda per Davoll i col·laboradors) sobre el nitrogen on es produeix l'alquilació, per posteriorment reaccionar amb un derivat halogenat (Figura 3.21). Els principals problemes d'aquesta síntesi són la poca solubilitat de les sals i la necessitat de protegir altres posicions nucleòfiles.

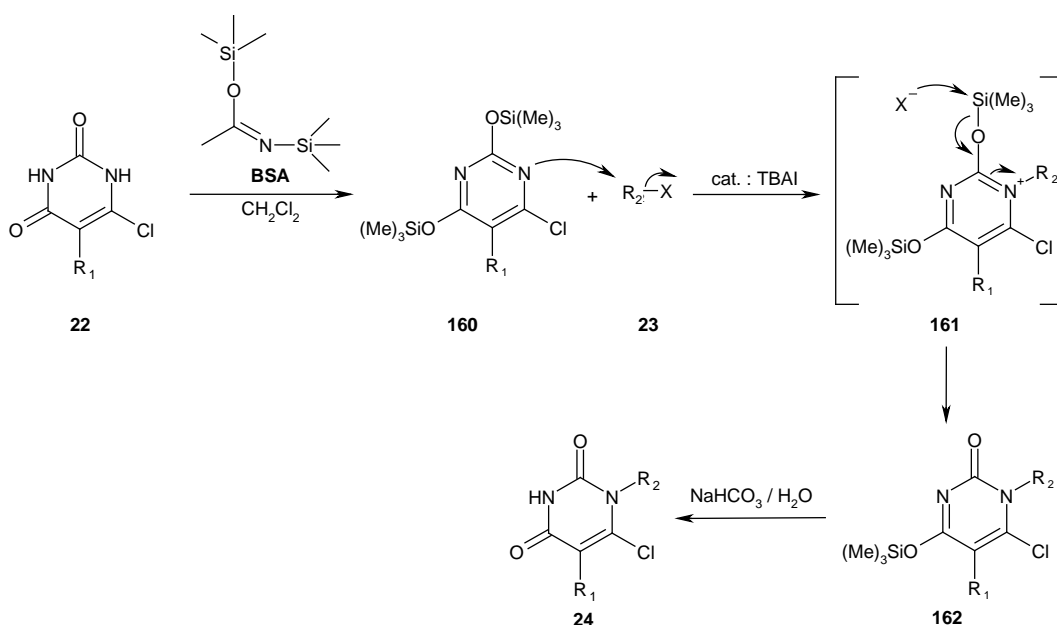




**Figura 3.21:** Exemples d'*N*-alquilacions de sals argèntiques de Fischer-Helferich<sup>[25]</sup> i mercurioses de Davoll<sup>[26]</sup>

2) La segona possibilitat és mitjançant la reacció de Hilbert-Johnson o la seva variant de silil-Hilbert-Johnson. De fet, es tracta d'un tipus de reacció de Friedel-Crafts en la qual convé posar un àcid de Lewis com a catalitzador. Per exemple, l'any 1970, es descriu en el treball de Niedballa i Vorbrüggen l'ús d'una gran varietat de catalitzadors:  $ZnCl_2$ ,  $TiCl_4$ ,  $AlCl_3$ ,  $BF_3 \cdot (C_2H_5)_2O$  i  $SnCl_4$ , obtenint amb aquest últim els millors resultats.<sup>[27]</sup> Per altra banda, la reacció es dona també emprant  $Hg(CN)_2$  o trietilamina tal com es mostra en els treballs de Lee<sup>[28]</sup> i Ogilvie<sup>[29]</sup> respectivament, però com en els anteriors casos amb un baix rendiment. Vorbrüggen *et al.*, en la cerca d'unes condicions on es millorés la regioselectivitat, empen trífats i perclorat de trimetilsilil com a àcids de Lewis, però degut a la seva menor acidesa no permeten que es doni el mecanisme de reacció que porta a l'obtenció de la pirimidina alquilada sobre  $N3$ .<sup>[30]</sup> Finalment, Ogilvie i col·laboradors introdueixen com a catalitzador el TBAI.<sup>[31]</sup> Actualment no es coneix ben bé el mecanisme de reacció emprant TBAI, però el que sí es sap és que la idea va néixer de formar *in situ* un derivat halogenat iodat. De fet, Točík i col·laboradors, arriben a la conclusió en el seu treball que la reacció d'alquilació en pirimidines es dona amb millors rendiments emprant derivats iodats que no pas derivats clorats o bromats.<sup>[32]</sup> Aquesta idea és coherent amb el mecanisme de reacció proposat en la Figura 3.22, ja que iodant s'augmenta l'electrofilia del grup  $R_2$  a inserir i per tant la primera part del mecanisme succeeix amb més facilitat. L'única diferència respecte dels derivats clorats o bromats, és que els derivats iodats, en la seva gran majoria, s'han de generar *in situ* degut a la seva inestabilitat i a la baixa disponibilitat comercial. Més tard, a l'any 1988, en el treball de Kim i col·laboradors es descriu el iodur de cesi com a nou catalitzador per aquest tipus de reacció.<sup>[33]</sup> La limitació d'aquest catalitzador és que només funciona amb derivats del tipus halometilèters, cosa que dona indicis sobre el seu mode d'acció. Tot i que no s'ha comprovat, es pensa que s'activa l'oxigen de l'èter per una interacció amb el catió cesi que provoca un augment de l'electrofilia del carboni adjacent afavorint així la reacció.

Una vegada comentats els aspectes generals de la reacció de silil-Hilbert-Johnson,<sup>[35-37]</sup> també anomenada nucleosidació de Vorbrüggen, es passa a comentar amb més detall el seu funcionament. La reacció consisteix en un primer instant en desplaçar l'equilibri tautomèric del grup lactama cap a la seva forma lactima per després produir-se un atac nucleòfil del nitrogen N1 sobre un derivat halogenat. Originàriament, als anys 30, es desplaçava aquest equilibri capturant la forma enòlica formant un èter, però més endavant Vorbrüggen va substituir la formació d'èters per la sililació dels carbonils (aquesta variant aporta dos avantatges: la major solubilitat de la lactima sililada formada com es veurà més endavant, i un *work up* molt més fàcil i eficaç).<sup>[38]</sup> D'aquesta manera s'obté primer l'intermedi sililat **160**, un intermedi que va quedar contrastat en el treball de White i col·laboradors.<sup>[39]</sup> En un segon terme, es produeix l'atac nucleòfil de l'intermedi sililat **160** sobre el derivat halogenat tal i com es mostra en la Figura 3.22. Aquest atac es produeix des de l'N1 pel fet de tenir un caràcter més bàsic que N3,<sup>[40]</sup> a més de tenir menor impediment estèric.



**Figura 3.22:** Síntesi de 6-cloro-N1-substituiracil **24** mitjançant el mecanisme de reacció de la silil-Hilbert-Johnson<sup>[41]</sup>

Finalment, una vegada obtingut l'intermedi sililat **162**, es tracta amb una dissolució de bicarbonat per eliminar el grup protector sililant i així recuperar la lactama inicial sustentada pel carboni 4.

3) Darrerament s'ha desenvolupat un nou tipus d'alquilació emprant la reacció de Mitsunobu però en aquest cas, el derivat a inserir ha de ser un alcohol en comptes d'un derivat halogenat.<sup>[34]</sup>

Una vegada obtinguts els 6-clorouracils **22**, es segueix el treball de L. Giménez<sup>[9]</sup> per tal d'inserir un grup R<sub>2</sub> sobre N1 i així obtenir compostos 6-cloro-N1-alquiluracils **24**. De fet, la reacció que s'empra és la descrita per N. Lee i col·laboradors<sup>[14]</sup> que transcorre tal i com es pot veure en la Figura 3.22.

De fet en la metodologia emprada, es barregen durant dues hores en clorur de metilè a temperatura ambient i sota atmosfera de nitrogen, 1 equivalent de 6-clorouracil **22** juntament amb 2.2 equivalents de *N,O*-bis-(trimetilsilil)-acetamida (BSA). Tot seguit s'afegeixen iodur de tetrabutilamoní (TBAI), en quantitat catalítica (0.01 equivalents), i 1.2 equivalents de **23**, deixant la nova mescla a 0°C durant unes dues hores més. Finalment, s'aboca la mescla sobre una dissolució saturada de bicarbonat sòdic i de gel i es deixa en agitació durant trenta minuts. Es separa la fase orgànica i es realitzen extraccions amb clorur de metilè. La fase orgànica es renta amb salmorra, s'asseca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidre i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda. En cas necessari el producte desitjat **24** es purifica per cromatografia de columna flash sobre gel de sílice.

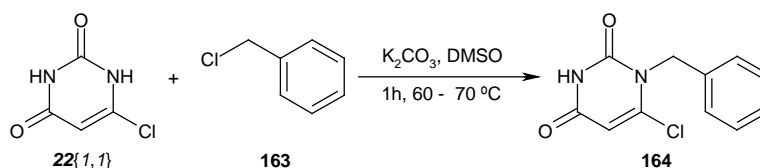
S'utilitza aquesta metodologia emprant els 6-clorouracils **22**{1,1} i **22**{1,2} i tots els derivats halogenats **23** mostrats en la Figura 3.20 però la reacció rendeix satisfactòriament només amb els derivats halogenats **23**{1} i **23**{3}. En canvi, usant **23**{2} i **23**{4}, la reacció no progressa tot i escalfar a reflux en el moment d'afegir el derivat halogenat en lloc de fer servir temperatura ambient (una variant també proposada per Lee i col·laboradors).<sup>[14]</sup>

Una vegada realitzada la reacció d'obtenció de 6-cloro-1-(2-trimetilsilil)etoximetiluracil (**24**{1,1,1}), 6-cloro-1-(2-trimetilsilil)etoximetil-5-metiluracil (**24**{1,2,1}), 6-cloro-1-(etoximetil)uracil (**24**{1,1,3}), es purifica cada producte mitjançant una columna flash de sílice emprant com a eluent acetat d'etil/clorur de metilè (1:9, v/v), acetat d'etil/hexà (1:1, v/v) i acetat d'etil/hexà (2:3, v/v) respectivament i s'obtenen els productes purs amb uns rendiments del 68%, 90% i 37%, respectivament. Només en el cas de 6-cloro-1-(etoximetil)-5-metiluracil (**24**{1,2,3}) s'ha obtingut el producte sense necessitat de purificacions addicionals amb un rendiment del 73% (Taula 3.5). Una vegada nets d'impureses, es caracteritzen per la seva identificació. Tots ells presenten una espectroscòpia compatible pel que fa a el <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN, essent l'espectre de masses, l'IR i l'anàlisi elemental orgànic correctes. Cal destacar que, en alguns casos, s'observa en l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN, un doblet de constant d'acoblament petita (~ 2 Hz) en el senyal del protó de la posició C5, corresponent a un acoblament a quatre enllaços amb el protó de N3. A més, en els casos en què s'ha alquilat amb SEM (**23**{1}), les figures corresponents als metilens, no es poden considerar triplets sinó multiplets, ja que no són senyals de primer ordre degut a la presència de l'àtom de silici. En l'espectre d'IR, es poden identificar la banda corresponent a la tensió asimètrica de l'èter entre 1100-1090 cm<sup>-1</sup>, i cap a 1250 cm<sup>-1</sup> la banda corresponent a la vibració simètrica de deformació de l'enllaç Si-CH<sub>3</sub>. Respecte a l'espectre de masses, els compostos alquilats amb SEM (**23**{1}), perden amb tota claredat el grup [C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup> essent el pic base, tal com també ho és el fragment [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> per les molècules alquilades amb

**23{3}**. Els productes obtinguts es presenten més endavant a la Taula 3.5 amb els seus pertinents rendiments.

### 3.4.2. Síntesi sense emprar agent siliant

Degut a què emprant la metodologia d'alquilació pels derivats halogenats **23{2}** i **23{4}** només es recupera el reactiu de partida, es decideix d'assajar la metodologia descrita per Ishikawa i col·laboradors<sup>[18]</sup> (Figura 3.23), per la semblança estructural del clorur de benzil usat amb **23{2}** i **23{4}**.



**Figura 3.23:** Síntesi alternativa d'obtenció de 6-cloro-N1-alkiluracil

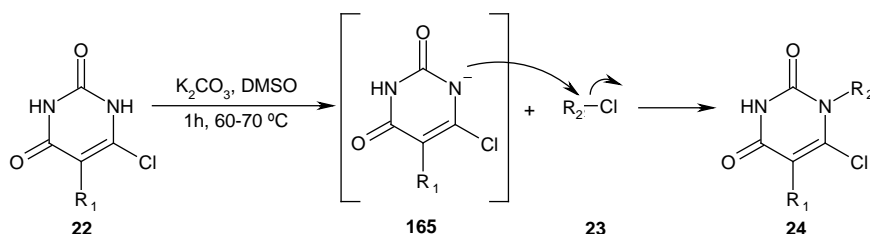
En l'esmentada metodologia, es barregen 2 equivalents de 6-clorouracil **22** amb 3 equivalents de derivat halogenat **23** i 1 equivalent de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en DMSO durant una hora a ~ 60-70 °C. Passat aquest temps, mantenint l'agitació, s'afegeix en calent una dissolució de NaOH al 4%. Es realitzen rentats amb benzè i s'ajusta el pH de la fase aquosa a ~ 2-3 amb HCl concentrat. Es deixa la mescla a la nevera una nit i es filtra, es renta amb aigua i s'asseca al buit sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> el sòlid format. Una vegada sec es purifica mitjançant una recristal·lització de metanol.

Com a principal variant introduïda en la metodologia original, a fi d'evitar de treballar amb benzè, s'ha usat toluè en els rentats, un dissolvent molt menys tòxic.

Quan Ishikawa i col·laboradors l'any 1990 van publicar els seus resultats, afirmaven que, segons el seu coneixement, ningú abans que ells havia aconseguit una alquilació regioselectiva sobre N1 d'un uracil 6-substituint de manera directa.<sup>[18]</sup> En efectuar una cerca bibliogràfica al voltant d'aquest tema, es troba un treball de Baker *et al.* on es descriu un estudi d'alquilacions sobre N1 i/o N3 d'un uracil i l'efecte de la presència d'un substituent en la posició 6.<sup>[42]</sup> Del seu treball es conclou que s'aconsegueix una major proporció d'alquilació sobre N1 en els casos en què el substituent en la posició 6 és un acceptor d'electrons i quan l'impediment estèric que pugui provocar aquest grup sigui menor.

Aquesta informació ve complementada en el cas de l'alquilació del 6-clorouracil (**22{1,1}**) per un treball de Maruyama i col·laboradors,<sup>[43]</sup> els quals afirmen que la presència de l'àtom de clor -amb la seva capacitat de ser acceptor d'electrons- facilita la dissociació de l'enllaç N1-H per generar un intermedi aniónic sobre N1. Aquesta dada confirma que el

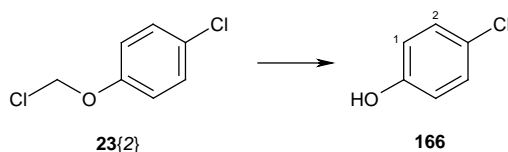
mecanisme de reacció passa per un atac nucleòfil de l'aníó uracil sobre el derivat clorat (Figura 3.24).



**Figura 3.24:** Mecanisme de reacció de l'alkilació dels 6-clorouracils **22**

Tornant a l'alkilació de 6-clorouracils, una vegada realitzada la reacció, el 6-cloro-1-(2,5-dimetilbenzil)uracil (**24**{1,1,4}) i el 6-cloro-1-(2,5-dimetilbenzil)-5-metiluracil (**24**{1,2,4}) es recristal·litzen de metanol per tal de purificar-los, obtenint-ne uns rendiments del 47% i 32% respectivament.

En canvi, el 6-cloro-1-((4-clorofenoxi)metil)-5-metiluracil (**24**{1,2,2}) es purifica per cromatografia de capa prima preparativa de sílice, emprant com a eluent la mescla acetat d'etil i hexà (1:1, v/v) (Taula 3.5) per rendir **24**{1,2,2} pur amb un 6% de rendiment. Aquest fet és degut a la formació d'un subproducte majoritari que també s'aïlla i identifica com a *p*-clorofenol (**166**) gràcies al seu  $^1H$ -RMN (Figura 3.25) ( $^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  (ppm): 7.19 (d, 2H,  $^3J = 9.0$  Hz, C2-H), 6.77 (d, 2H,  $^3J = 9.0$  Hz, C1-H), 5.07 (br s, 1H, O-H)). L'estructura proposada es confirma comparant la seva descripció espectroscòpica amb la bibliogràfica.<sup>[17]</sup> Degut a la descomposició del reactiu **23**{2} de partida en el medi de reacció, es decideix no usar més aquest reactiu, la qual cosa explicaria que no s'hagi assajat l'obtenció de **24**{1,1,2}.



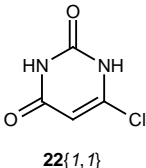
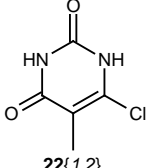
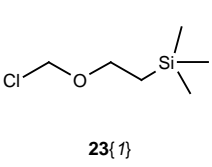
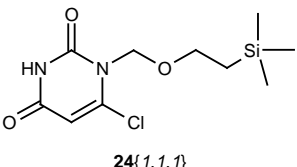
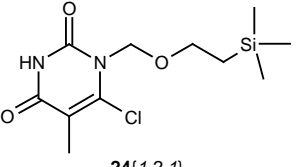
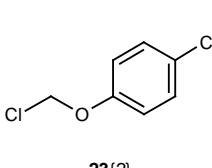
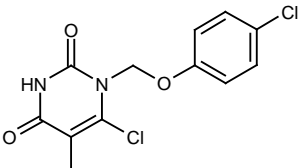
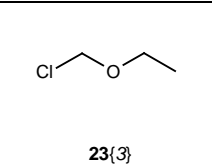
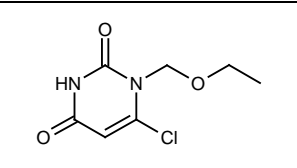
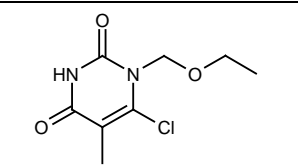
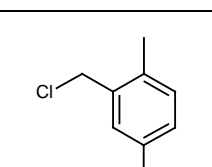
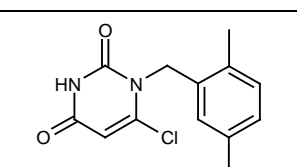
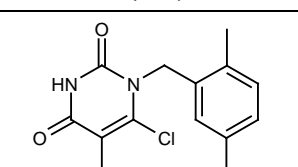
**Figura 3.25:** Impureza derivada de  $\alpha,4$ -dicloroanisol (**23**{2})

Els derivats **24**{1,1,4}, **24**{1,2,4} i **24**{1,2,2}, una vegada purificats, es caracteritzen espectroscòpicament per  $^1H$ -RMN,  $^{13}C$ -RMN, espectrometria de masses i IR. Tal com s'ha comentat amb anterioritat en la descripció dels productes obtinguts amb l'altra metodologia, **24**{1,1,4} presenta un doblet de constant d'acoblament petita (~ 2 Hz) en el senyal del protó de la posició C5 corresponent a un acoblament a quatre enllaços amb el protó de N3. En l'espectre d'IR de **24**{1,2,2}, es poden identificar com a trets més característics les bandes corresponents a la tensió de l'enllaç èter C-O-Ar entre 1239 i 1216  $cm^{-1}$  i cap a 1013  $cm^{-1}$  la

banda corresponent a la tensió de l'enllaç C-Cl. Pel que fa a l'espectre de masses, en els compostos alquilats amb **23**{4}, s'observa la pèrdua d'un fragment corresponent al grup  $[C_9H_{11}]^+$ , és a dir el reste acabat d'introduir en la molècula.

Finalment, s'acaba de confirmar l'obtenció de **24**{1,2,4} per AEO i **24**{1,1,4}, **24**{1,2,2} a través d'un espectre de masses d'alta resolució. Els productes obtinguts es presenten en la Taula 3.5 amb els seus respectius rendiments, sent 5 de les 7 molècules sintetitzades descrites per primera vegada.

**Taula 3.5:** Taula resum dels 6-cloro-N1-alkiluracil **24** sintetitzats

Derivat Halogenat	6-clorouracil					
	 <b>22</b> {1,1}	 <b>22</b> {1,2}				
 <b>23</b> {1}	 <b>24</b> {1,1,1}	A	68%	 <b>24</b> {1,2,1}	A	90%
 <b>23</b> {2}	---			 <b>24</b> {1,2,2}	B	6%
 <b>23</b> {3}	 <b>24</b> {1,1,3}	A	37%	 <b>24</b> {1,2,3}	A	73% (87%) <sup>[44]</sup>
 <b>23</b> {4}	 <b>24</b> {1,1,4}	B	47%	 <b>24</b> {1,2,4}	B	32%

A: metodologia en la que primer el silila la pirimidina i després s'empra TBAI com a catalitzador

B: metodologia en la que s'empra  $K_2CO_3$  en DMSO

Entre parèntesi els rendiments descrits en cas de que la molècula no fos nova

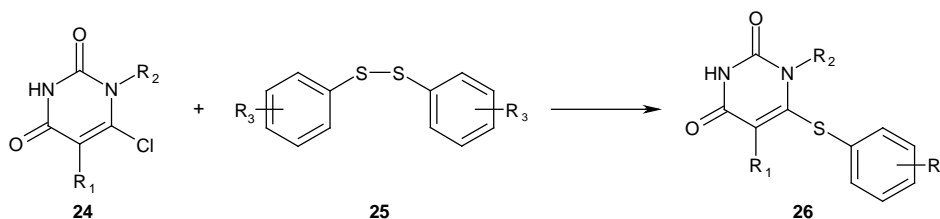
--- Compost no sintetitzat

Les molècules noves són **24**{1,2,1}, **24**{1,2,2}, **24**{1,1,3}, **24**{1,1,4} i **24**{1,2,4}. Pel que fa les ja descrites, **24**{1,2,3} s'obté amb un rendiment sensiblement inferior, però el fet que crida més l'atenció és que el punt de fusió -única dada que es dona en el treball de Sun *et al.*<sup>[44]</sup> divergeix d'uns 20 °C, obtenint 132-133 °C front als 152-155 °C descrits, tot i aconseguir puresa

analítica. D'altra banda, **24**{1,1,1} va ser sintetitzat per Kimura i col·laboradors però no en descriuen cap dada espectroscòpica que permeti realitzar una comparació.<sup>[45]</sup>

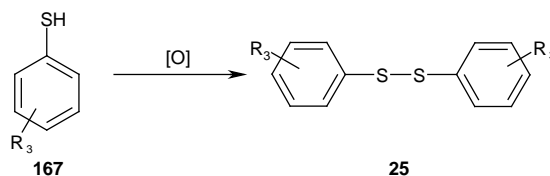
### 3.5. Síntesi de disulfurs 25

Tal com s'ha explicat en la introducció, s'obtenen en l'últim pas de síntesi els anàlegs d'HEPT **26**, a partir de la reacció entre un 6-cloro-N1-alkiluracil **24** i un disulfur **25** (Figura 3.26).



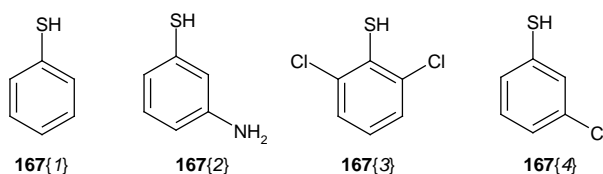
**Figura 3.26:** Últim pas de síntesi de la ruta proposada per la obtenció d'anàlegs d'HEPT **26**

Degut a la manca de disulfurs comercials o al seu elevat preu, es decideix sintetitzar-los a partir del tiofenol corresponent **167** mitjançant una reacció redox (Figura 3.27). En el cas del present treball es busca una metodologia el més general possible ja que s'han de fer servir tiofenols derivatitzats **167** de característiques molt diferents.



**Figura 3.27:** Oxidació d'un tiofenol **167**

D'entre els 6 tiofenols **167** seleccionats en el treball de la M. Mateu,<sup>[3]</sup> se n'escullen 4 per tal de completar aquest últim pas de síntesi. Es descarten el 4-nitrotiofenol, degut a que el grup nitro es reduiria en l'última etapa de reacció ja que s'usa borohidruir sòdic, i l'àcid 4-mercaptobenzoic, per possibles problemes d'aïllament del disulfur en ser necessari acidular el medi bàsic resultant de la reacció amb el perill d'una possible hidròlisi de l'enllaç C-S acabat de formar (Veure apartat 3.6). Els tiofenols seleccionats (tiofenol (**167**{1}), 3-amiotiofenol (**167**{2}), 2,6-diclorotiofenol (**167**{3}), 3-clorotiofenol (**167**{4})) es presenten en la Figura 3.28.



**Figura 3.28:** Tiofenols **167** seleccionats

### 3.5.1. Síntesi de disulfurs 25 emprant clorocromat de $\gamma$ -picolina ( $\gamma$ -PCC) (171) com a agent oxidant

#### 3.5.1.1. Síntesi de clorocromat de $\gamma$ -picolina ( $\gamma$ -PCC) (171)

El primer oxidant que es va voler usar és el clorocromat de  $\gamma$ -picolina ( $\gamma$ -PCC) (171), segons el treball de Khodaei i col·laboradors,<sup>[46,47]</sup> un derivat menys tòxic i més eficient que el clorocromat de piridina (PCC) (168) (Figura 3.29).

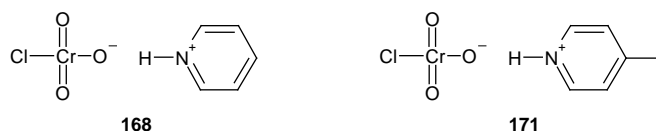


Figura 3.29: Compostos clorocromats

Davant la falta de disponibilitat comercial de  $\gamma$ -PCC (169) i es decideix sintetitzar-lo a partir de l'òxid de crom (VI) (169) i  $\gamma$ -picolina (170) en dissolució aquosa d'àcid clorhídric tal com es mostra en la Figura 3.30. Mitjançant la metodologia de Khodaei *et al.* s'obté el producte amb un rendiment quantitatiu front al rendiment descrit del 90%.<sup>[47]</sup>

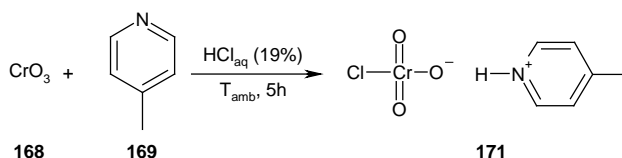


Figura 3.30: Síntesi del  $\gamma$ -PCC (171)

#### 3.5.1.2. Síntesi de disulfurs 25 emprant $\gamma$ -PCC (171)

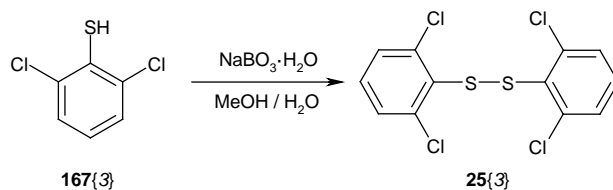
Una vegada sintetitzat el  $\gamma$ -PCC (171), s'assaja la reacció d'oxidació amb els diversos tiofenols 167 (Figura 3.28). La reacció de Khodaei i col·laboradors<sup>[46]</sup> consisteix en barrejar tiofenol 167 i  $\gamma$ -PCC (171) de forma equimolar durant 5 hores a temperatura ambient en clorur de metilè. Davant dels problemes per seguir amb claredat la reacció per cromatografia de capa prima amb la mescla metanol/àcid acètic 5:1 que es proposa en l'article original, s'ha usat com a eluent la mescla acetat d'etil/hexà en proporcions 1:1. Una vegada finalitzada la reacció, es filtra, es realitzen rentats amb èter dietílic i s'elimina el dissolvent del filtrat a pressió reduïda. Finalment es recristal·litza de metanol per tal d'eliminar impureses que aporten coloració al producte final; aquesta impuresa pot ser o bé de color marró (color del  $\gamma$ -PCC (171)) o bé de color verd degut a la reducció del crom a Cr (III).



Emprant l'esmentada metodologia, s'han obtingut tres dels quatre disulfurs: **25{1}** (Rdt. = 66%), **25{3}** (Rdt. = 68%), i **25{4}** (Rdt. = 51%). En canvi no s'ha pogut obtenir el compost **25{2}**, degut a la dificultat de separar el producte d'impureses derivades del reactiu cromat, obtenint un oli marró en comptes d'un sòlid groc. Els inconvenients d'emprar la metodologia de Khodaei<sup>[46]</sup> són que s'ha de sintetitzar l'espècie oxidant, que no és robusta i que s'ha de purificar amb una recristal·lització el producte desitjat.

### 3.5.2. Síntesi de disulfurs 25 emprant NaBO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O com a agent oxidant

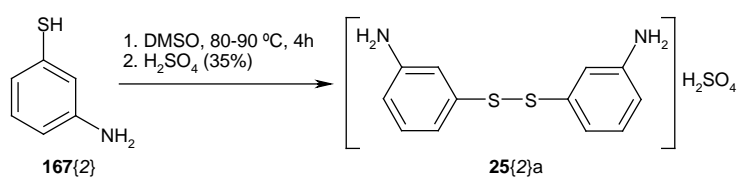
Degut a que la metodologia de Khodaei<sup>[46]</sup> no és prou robusta, s'opta per seguir el treball de McKillop i Koyunçu,<sup>[48]</sup> ja que es troben descrites les oxidacions de dos dels tiofenols seleccionats **167{3}** i **167{4}**. En aquest cas l'agent oxidant és el perborat sòdic monohidratat (NaBO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) que es posa en dissolució d'aigua/metanol en proporció 2:5 a temperatura ambient durant dues hores en proporció 2:1 respecte del tiofenol **167** (Figura 3.31). L'esmentada reacció s'assaja amb **167{3}** obtenint un rendiment del 15% quan a l'article original es descriu amb un rendiment del 98%. Degut a aquest baix rendiment obtingut es descarta l'ús de perborat sòdic com a agent oxidant. Cal esmentar que el rendiment trobat a la bibliografia és sense aïllar el producte pur.



**Figura 3.31:** Síntesi emprant perborat sòdic com a oxidant

### 3.5.3. Síntesi de disulfurs 25 emprant DMSO com a agent oxidant

Sense perdre de vista que el compost **25{2}** és l'únic que no s'ha aconseguit mitjançant la reacció de Khodaei,<sup>[46]</sup> s'opta per la metòdica proposada per Zhang i col·laboradors<sup>[49]</sup> (Figura 3.32), en la qual es barregen en quantitats equimolars 3-aminotiofenol **167{2}** i dimetilsulfòxid i s'escalfa a 80-90 °C durant 4 hores. Passat aquest temps, s'afegeix una dissolució al 35% d'àcid sulfúric i s'obté un precipitat de sulfat del disulfur **167{2}**<sub>a</sub>. La reacció es dona amb bon rendiment, un 91% front al rendiment quantitatiu descrit.

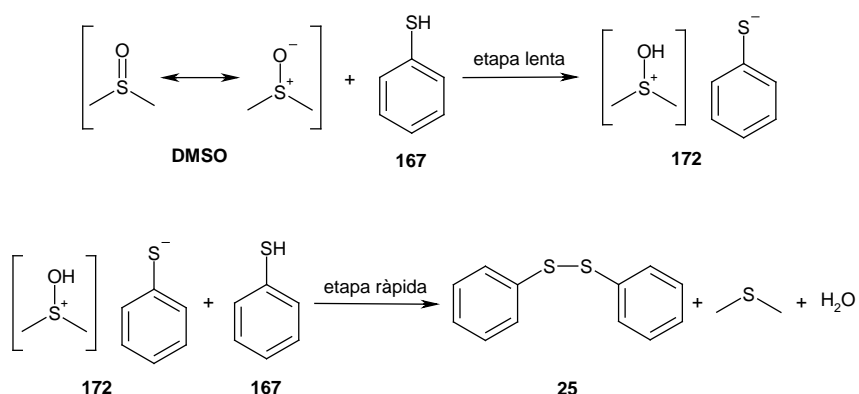


**Figura 3.32:** Síntesi del sulfat del disulfur de 3-aminotiofenol (**25{2}**<sub>a</sub>)

Com que el producte que s'obté **25**{2}<sub>a</sub> és la sal sulfatada del disulfur, es decideix modificar la metodologia per tal d'aconseguir l'amina lliure. Es procedeix tal i com s'ha descrit amb anterioritat però en comptes d'afegir la dissolució d'àcid sulfúric, es realitzen extraccions amb èter i es renta la fase orgànica amb aigua per tal d'eliminar el DMSO que no hagués reaccionat. La fase etèria s'asseca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda. D'aquesta manera s'obté **25**{2} amb un rendiment del 92%.

S'aplica aquesta mateixa metodologia a la síntesi dels disulfurs i s'obtenen els productes desitjats **25**{1}, **25**{2} i **25**{4} amb molt bons rendiments (92-97%). Les principals característiques d'aquesta metodologia són: robustesa, facilitat en la manipulació, *work up* senzill, sense purificacions addicionals, no cal sintetitzar l'espècie oxidant i que presenta molt bons rendiments.

Wallace i Mahon descriuen en el seu treball les etapes de reacció que es succeeixen quan el DMSO actua com a agent oxidant.<sup>[50-52]</sup> Tal i com es mostra en la Figura 3.33, la reacció consta de dues etapes; en la primera, anomenada etapa lenta, es forma l'intermedi **172** a partir d'una unitat de DMSO i de tiofenol **167**. La segona etapa, succeeix de manera més ràpida i és quan intervé una segona unitat de tiofenol **167** per reaccionar amb l'intermedi **172** per acabar rendint el disulfur **25** desitjat més aigua i dimetilmercaptà com a subproductes.

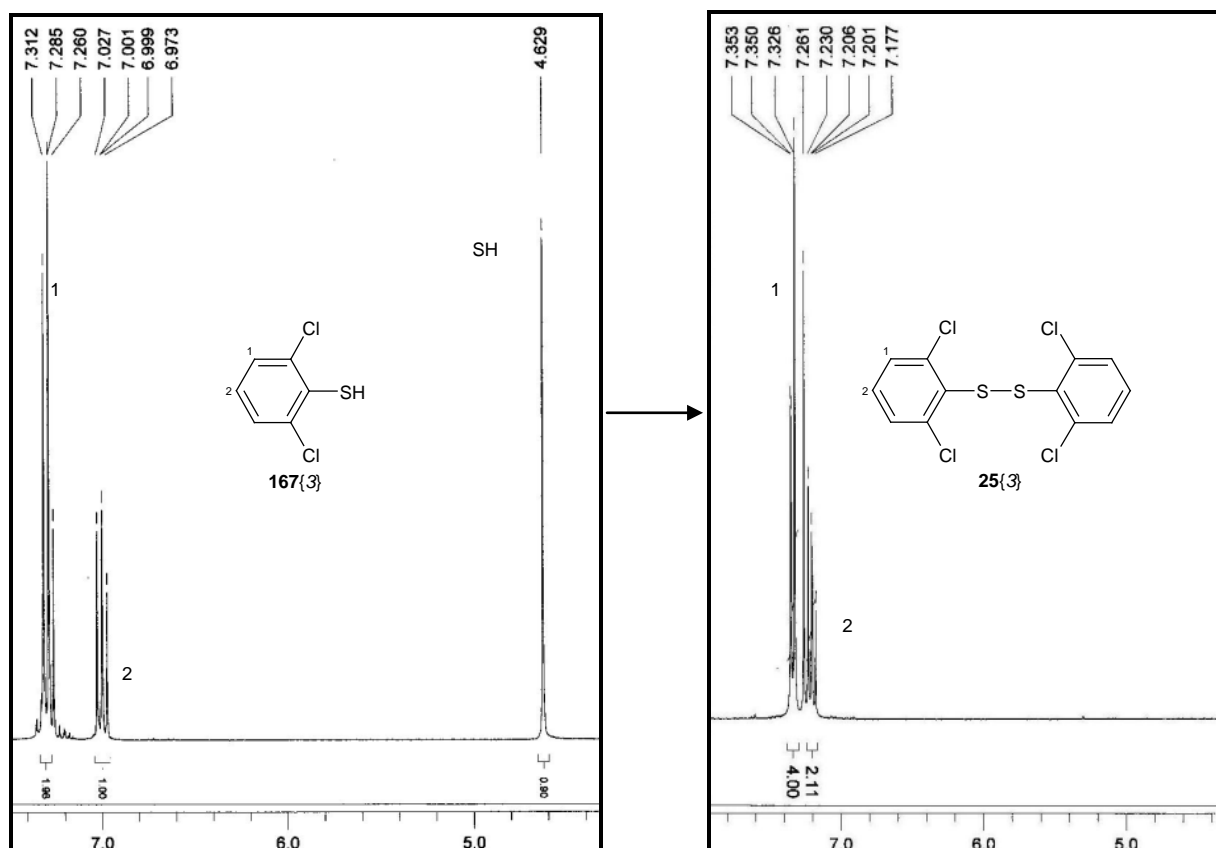


**Figura 3.33:** Etapes de reacció de formació de disulfurs **25** usant DMSO com a agent oxidant

### 3.5.4. Caracterització dels disulfurs **25** obtinguts

Per caracteritzar els productes obtinguts, és important que en l'IR no s'observi en la zona dels 2600-2540 cm<sup>-1</sup> cap banda corresponent a la tensió S-H i que en l'<sup>1</sup>H-RMN tampoc s'observi el senyal deuterable al voltant de 2-5 ppm corresponent al protó del tiol. Aquests dos fets seran de gran importància per la confirmació de que el producte obtingut sigui realment el disulfur **25** i no pas el tiofenol **167** de partida. A mode d'exemple, es mostra en la Figura 3.34 l'espectre de protó tant del reactiu **167**{3} com del producte **25**{3}. La primera diferència que

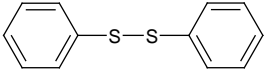
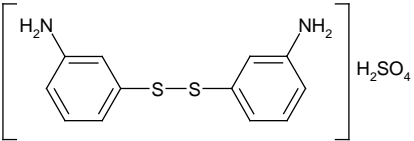
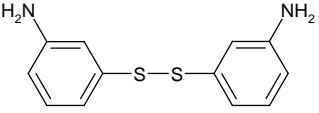
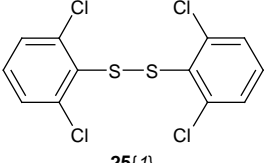
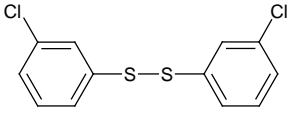
s'observa en els dos espectres és la presència d'un senyal addicional en el cas de **167{3}** corresponent al protó del tiol. La segona diferència és el desplaçament dels senyals corresponents a l'anell aromàtic, comparativament a camp més baix en el cas del disulfur **25{3}**. Aquestes diferències són extensibles als altres compostos tractats. D'altra banda també pot ajudar el canvi d'estat del producte obtingut respecte del reactiu, per exemple el tiofenol **167{1}**, el 3-aminotiofenol **167{2}** són líquids mentre que els seus disulfurs **25{1}** i **25{2}** són sòlids.



**Figura 3.34:** Espectres de protó de **167{3}** i **25{3}**

Finalment, a mode de resum, es mostra en la Taula 3.6 els compostos obtinguts amb les diverses metodologies emprades. En l'esmentada taula es pot observar clarament com emprant DMSO com a agent d'oxidació s'obtenen els millors rendiments.

**Taula 3.6:** Resum dels resultats obtinguts en la síntesi de disulfurs **25**

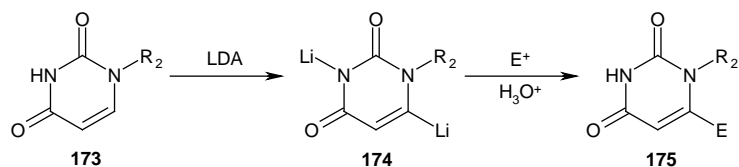
Disulfurs	Oxidant				Aspecte
	$\gamma$ -PCC	$\text{NaBO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	DMSO + $\text{H}_2\text{SO}_4$	DMSO	
 <b>25{1}</b>	66%	---	---	97%	Sòlid blanc
 <b>25{2}_a</b>	---	---	91%	---	Sòlid blanc
 <b>25{2}</b>	0%	---	---	92%	Sòlid groc
 <b>25{1}</b>	68%	15%	---	---	Sòlid blanc
 <b>25{4}</b>	51%	---	---	92%	Líquid groc

--- No assajat

### 3.6. Síntesi dels anàlegs de 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)-timina (HEPT) (**26**)

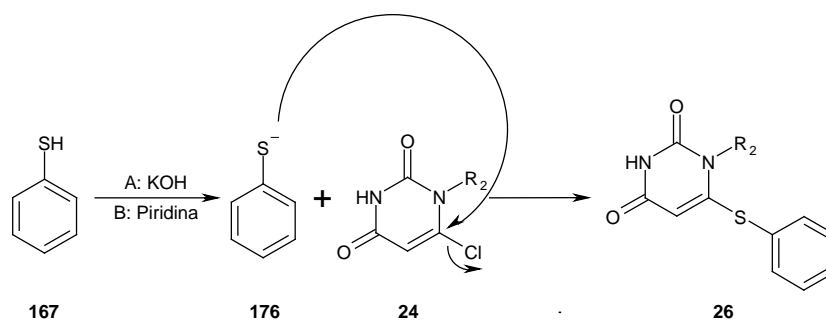
Una vegada sintetitzats els 6-clorouracils **24** (es descarta l'ús de **24{1,2,2}** per la següent etapa de reacció degut al seu baix rendiment d'obtenció (6%)) es procedeix a la seva conversió en els derivats anàlegs d'HEPT **26**. Pel que fa la metodologia de substitució de l'àtom de clor de la posició 6 de l'uracil pel grup tiofenol se'n troben diverses a la literatura.

La molècula d'HEPT va ser sintetitzada per primera vegada l'any 1989.<sup>[1,2,53]</sup> Com s'ha comentat anteriorment en l'Apartat 3.1., la síntesi original consisteix en la litiació de la posició C6 de l'uracil (**173**) no clorat amb diisopropil amidur de liti (LDA) per posteriorment substituir el liti introduït en aquesta posició per un electròfil (disulfur o iode) (Figura 3.35).<sup>[54,55]</sup> De fet, s'empren LDA i no pas un altre agent litiant perquè absteu el protó de la posició C6 de manera regioselectiva per ser el més àcid no unit a heteroàtom tal com ho van demostrar Rabi i Fox.<sup>[56]</sup>



**Figura 3.35:** Obtenció d'un uracil 6-substituit **175** via litiació

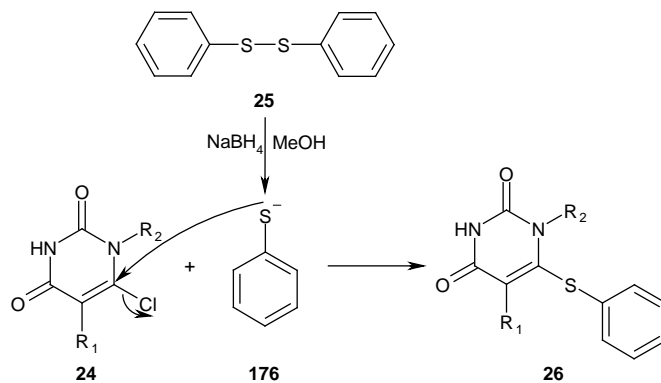
Mitjançant aquesta metodologia, s'han obtingut gran quantitat d'anàlegs d'HEPT tal com es mostra en alguns treballs de Tanaka i col·laboradors<sup>[5,6,57]</sup> entre d'altres. L'esmentada metodologia mostra dos principals inconvenients, els seus baixos rendiments segons el grup alquil present en C5 (rendiments molt baixos en presència d'isopropil) o la presència d'un grup fenil sobre N1. En el marc del desenvolupament per química combinatòria, aquesta metodologia s'ha anat abandonant en favor d'altres que cobrissin un ventall més ampli de reactius. Uns anys més tard, es van adoptar unes condicions de reacció més suaus i molt més senzilles basant-se en una substitució nucleòfila en comptes d'electòfila (Figura 3.36), cosa que comporta que en la posició 6 hi hagi d'haver un grup sortint (Cl). En el treball de Yoneda i col·laboradors es realitza aquest atac nucleòfil amb dues metodologies diferents.<sup>[58]</sup> Ambdues reaccions es produeixen a reflux però una en presència d'hidròxid potàssic etanòlic i l'altra en medi piridina.<sup>[59,60]</sup>



**Figura 3.36:** Obtenció d'un 6-tiofenoluracil via substitució nucleòfila

Més recentment, es continua efectuant una substitució nucleòfila, però amb condicions molt més suaus (temperatura ambient en comptes de reflux) emprant com a base borohidruir sòdic ( $\text{NaBH}_4$ ). L'esmentada metodologia, desenvolupada per Sun i col·laboradors,<sup>[61]</sup> usa borohidruir com a reductor i base alhora, ja que el reactiu usat és un disulfur **25** en comptes d'un tiofenol **67**. De fet es tracta d'un procés *one-pot* de reducció-substitució (Figura 3.37). L'únic inconvenient d'aquesta metodologia és la incompatibilitat amb disulfurs derivatitzats amb grups funcionals sensibles de reduir-se amb el borohidruir sòdic. La metodologia mencionada consisteix en afegir en bany de gel i sota atmosfera de nitrogen, 2.0 mmol de borohidruir sòdic ( $\text{NaBH}_4$ ) a una dissolució de 2.0 mmol de 6-cloro-N1-alkiluracil **24** i 1.1 mmol de disulfur **25** en 5 mL de MeOH. Es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 12 hores. Passat aquest temps, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda obtenint un sòlid al que se li afegeixen 5 mL

d'aigua i s'ajusta el pH a 6-7 amb una dissolució de HCl (1M). Es realitzen extraccions amb clorur de metilè, es combinen les fases orgàniques, es renten amb salmorra, s'assequen sobre MgSO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda obtenint un sòlid. Per últim, es renta amb hexà i es recristal·litza d'acetat d'etil/hexà.



**Figura 3.37:** Reacció one-pot d'obtenció d'un anàleg de HEPT **26** a partir d'un disulfur **25**

Quan s'assaja la reacció amb les condicions proposades per Sun i col·laboradors, no s'aconsegueix que la conversió de **24** a **26** sigui completa. Aquest fet no només afecta al rendiment, sinó també a la seva purificació, ja que tant reactiu com producte tenen pràcticament el mateix factor de retenció (Rf), cosa que dificulta la seva separació. Per aquesta raó, el seguiment de reacció no es pot realitzar per cromatografia de capa prima sinó que s'ha de recórrer a l'<sup>1</sup>H-RMN.

Per tal de millorar la conversió s'han modificat alguns paràmetres de la reacció. En primer lloc s'ha augmentat en un 50% la quantitat de NaBH<sub>4</sub> per tal d'assegurar-ne la formació de l'anió tiolat, però l'esmentada modificació no permet arribar al resultat esperat. En segon lloc, s'ha augmentat el temps de reacció fins a una setmana, obtenint el mateix resultat negatiu. En tercer lloc, s'ha modificat el paràmetre temperatura (reflux), aconseguint la mateixa conversió, però es generen més impureses. En quart lloc, s'ha augmentat en un 50% la quantitat de disulfur **25** i en un 100% la de NaBH<sub>4</sub>, però una vegada més no s'arriba a l'objectiu desitjat. Finalment, s'ha afegit un excés de disulfur **25**, 10 vegades més que en la metodologia original, amb la quantitat de borohidruir sòdic corresponent, aconseguint aquesta vegada sí la conversió completa. El fet de posar disulfur **25** en molt d'excés, no suposa un problema ja que és recuperable, en gran part, en la posterior purificació. Així doncs s'empra aquesta variant per tots els casos excepte per **24**{1,1,4} i **24**{1,2,4} quan s'usa **25**{3} degut a la existència d'un major impediment estèric. En aquests casos cal realitzar la reacció a reflux, assolint d'aquesta manera la conversió completa.

Una vegada finalitzada la reacció, de manera general, per purificar les molècules obtingudes a partir de **25**{1} i **25**{4}, s'afegeix pentà sobre l'oli obtingut com a cru de reacció,

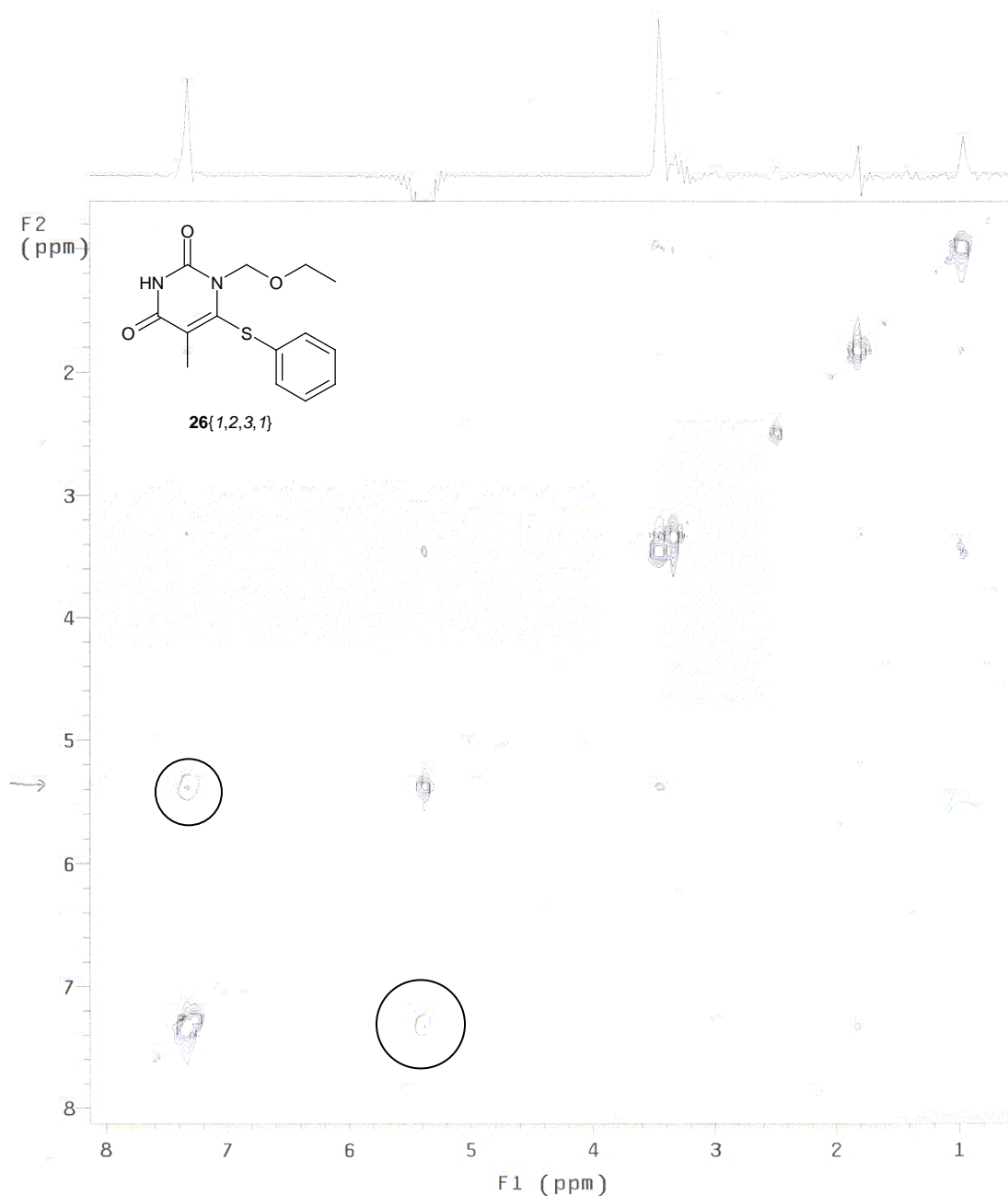
provocant la cristallització del producte desitjat i quedant en dissolució el disulfur **25** i/o tiofenol **167**. En canvi, els anàlegs obtinguts a partir de **25**{2} i **25**{3} es purifiquen en la seva majoria mitjançant cromatografia de columna flash de gel de sílice emprant com a eluent acetonitril/clorur de metilè i acetat d'etil/cloroform respectivament.

Una vegada purificats els compostos, es comprova la compatibilitat de les dades espectroscòpiques amb les estructures proposades. A més, la incorporació d'un grup tiofenol en la posició C6, permet confirmar mitjançant un espectre de NOESY que l'alquilació de l'etapa sintètica anterior s'hagi produït sobre N1.

Pel que fa l'espectre de  $^1\text{H}$ -RMN, permet comprovar la puresa del producte obtingut ja que si quedés alguna impuresa de tiofenol **167** s'observaria amb relativa facilitat a través de la presència d'un senyal addicional deuterable de desplaçament químic ~ 3-4 ppm. La possible presència de tiofenol **167**, es pot observar també en l'espectre d'IR, amb la presència d'una banda corresponent a la tensió S-H (~ 2600  $\text{cm}^{-1}$ ). En relació amb els espectres de les estructures **24**, la presència del grup tiofenol en substitució del clor, a més d'incorporar els senyals corresponents als protons aromàtics, provoca que el senyal corresponent al protó unit a C5 es desplaci gairebé una ppm cap a camp baix, mentre que el desplaçament dels protons sustentats pel carboni unit a N1 disminueix sensiblement. De manera visual, comparant els espectres de **24** i de **26**, aquests canvis de desplaçaments es tradueixen en una inversió en l'ordre d'aparició dels senyals, és a dir, si en l'espectre de **24** el senyal corresponent al protó de C5 s'enregistra a camp més baix que el senyal dels protons del carboni unit a N1, en l'espectre de **26**, succeeix a l'inrevés.

Respecte als espectres de  $^{13}\text{C}$ -RMN, en tots els casos el número de senyals es correspon al número de carbonis químicament diferents. A més, com a característica front al seu precursor, la presència del grup tiofenol en substitució del clor de la posició 6, a més d'incorporar uns quants senyals de carbonis aromàtics, provoca que el senyal corresponent a C6 es desplaci cap a camp més baix que el senyal corresponent a C2.

Com ja s'ha comentat amb anterioritat, la incorporació del grup tiofenol **167** en substitució de l'àtom de clor de la posició C6, permet comprovar la posició de l'alquilació de l'anterior etapa de síntesi mitjançant un NOESY sense la necessitat de recórrer a l'anàlisi per raigs X. Per confirmar l'alquilació sobre N1, es realitza un espectre NOESY amb un exemple de cadascuna de les dues metodologies d'alquilació emprades. Com exemple de la metodologia en la que s'empra TBAI com a catalitzador, es realitza l'espectre NOESY de **26**{1,2,3,1} (Figura 3.38), en el qual es veu clarament l'acoblament entre els protons aromàtics del tiofenol **167**{1} (7.30 ppm) i els protons del carboni units al nitrogen (5.52 ppm) quedant demostrada d'aquesta manera l'alquilació sobre N1. De la mateixa manera, es verifica mitjançant l'espectre de NOESY de **26**{1,2,4,1} que l'alquilació usant el medi  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{DMSO}$  s'ha produït sobre N1.

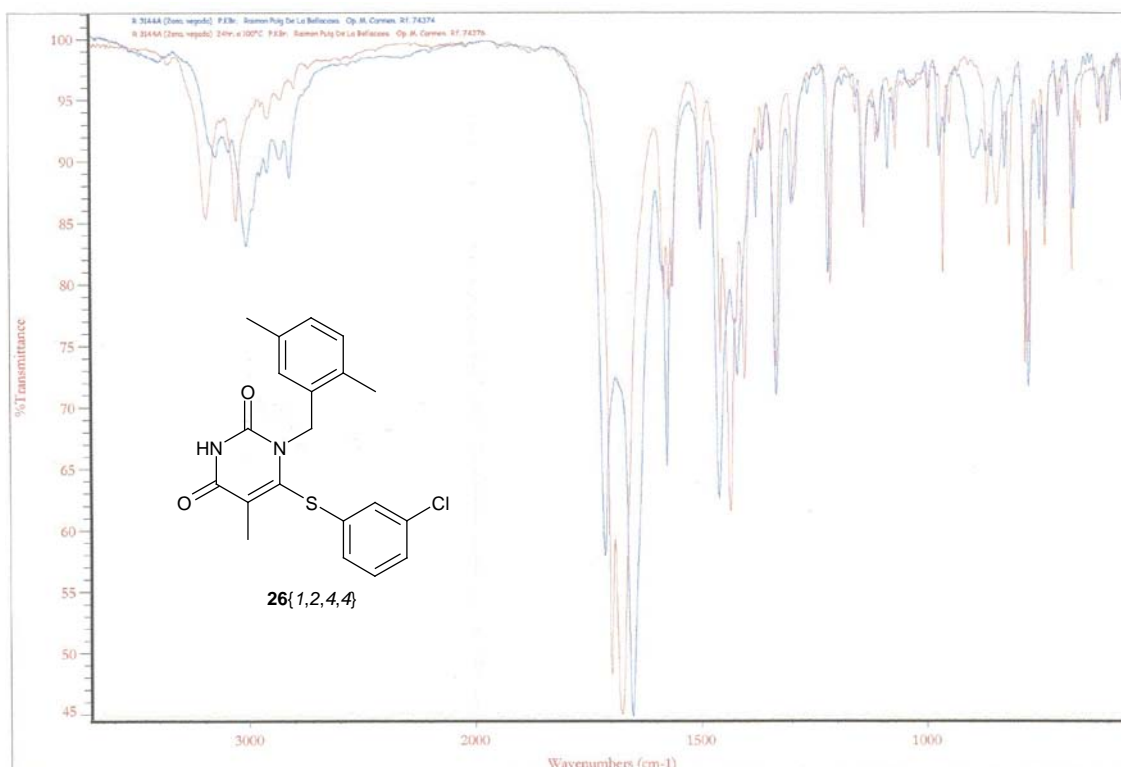


**Figura 3.38:** NOESY de **26**{1,2,3,1} en que s'aprecia l'acoblament entre els protons de l'anell tiofènolic i els protons metilènics sustentats pel carboni situat entre els àtoms de nitrogen i oxigen

Com a curiositat, en el cas de **26**{1,2,4,4} a l'hora d'analitzar l'espectre d'IR, realitzat en pastilla de KBr, s'ha observat el doble de bandes de les esperades en la zona de tensions de carbonil ( $1713$ ,  $1699$ ,  $1678$  i  $1653$   $\text{cm}^{-1}$ ), cosa incongruent tenint en compte que la resta de l'espectroscòpia correspon a la molècula objectiu. Davant d'aquest fet desconcertant, es va tornar a registrar l'espectre amb la mateixa mostra en pastilla de KBr però deixant-la prèviament a l'estufa durant un dia a  $100$   $^{\circ}\text{C}$ . Sorprenentment desapareixen dues de les bandes quedant només les de  $1699$  i  $1678$   $\text{cm}^{-1}$ . Es va registrar llavors un nou espectre amb mostra nova en una segona pastilla de KBr i, sorprenentment de nou, només es van observar dues



bandes però aquesta vegada les dues que havien desaparegut en el cas anterior (1713 i 1653  $\text{cm}^{-1}$ ). Tot seguit, es va posar aquesta pastilla de KBr a l'estufa durant 24 hores a 100 °C i en va resultar la desaparició d'aquestes bandes i l'aparició de les dues trobades en la prova anterior (1699 i 1678  $\text{cm}^{-1}$ ). Degut a que el factor responsable d'aquests canvis sembla ser la temperatura, es formula la hipòtesi d'estar davant d'un cas de polimorfisme cristal·lí. La diversitat d'espectres obtinguts es poden explicar per la diferència de temps d'irradiació sota la làmpada d'infraroig, ja que com aquesta transmet calor, a més temps, més escalfor i per tant més energia per poder canviar d'estructura cristal·lina. En la Figura 3.39 es mostra la superposició dels espectres d'IR de les diferents estructures cristal·lines. Com es pot observar la zona de les bandes de tensió de carbonil no són les úniques que es veuen afectades per aquest fenomen. Per últim, es registra un nou espectre en dissolució de cloroform, on s'observa la presència de només dues bandes de tensió de carbonil (1703 i 1684  $\text{cm}^{-1}$ ), quedant d'aquesta manera confirmada la hipòtesi del polimorfisme cristal·lí com a causa d'aquests canvis en els espectres d'infraroig.



**Figura 3.39:** Espectre d'IR de **26**(1,2,4,4) on es pot observar els dos perfils obtinguts

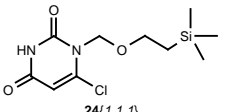
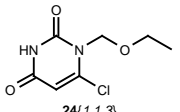
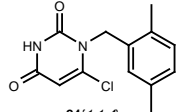
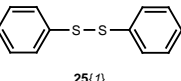
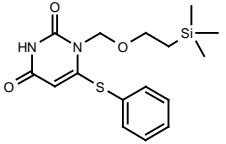
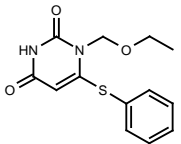
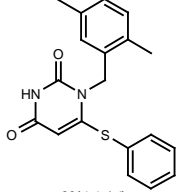
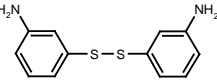
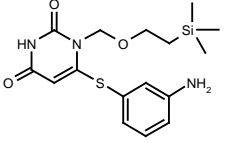
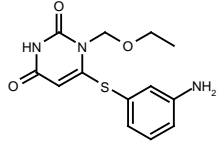
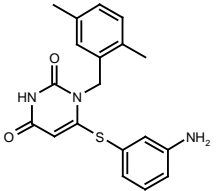
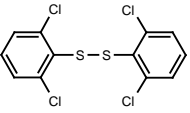
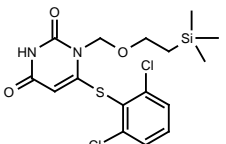
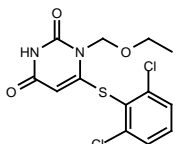
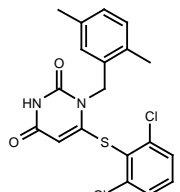
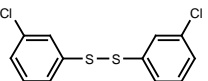
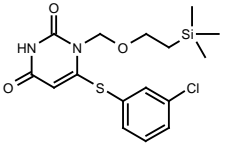
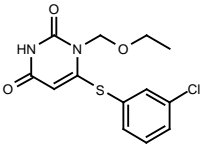
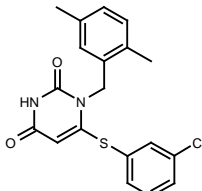
Tot i tenir en la majoria de casos uns espectres d'IR molt similars als seus precursors, en els anàlegs d'HEPT **26** s'observa un canvi en la zona de les tensions C=C  $\text{sp}^2$  degut a la presència de l'anell de tiofenol.

En la majoria de casos, els valors obtinguts en l'AEO comparats amb els calculats es troben entre els marges d'acceptació i en alguns casos es realitza un espectre de masses d'alta resolució per acabar de confirmar l'estructura.

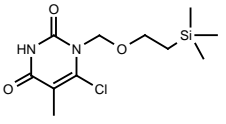
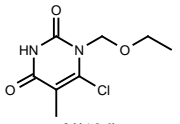
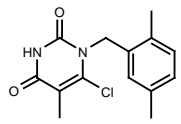
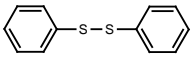
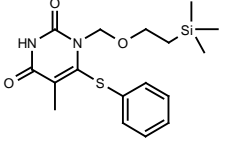
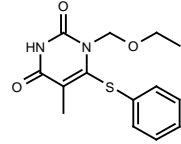
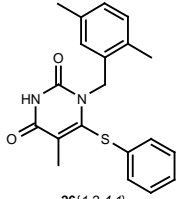
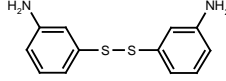
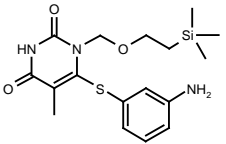
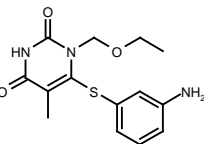
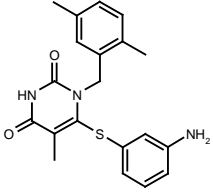
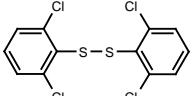
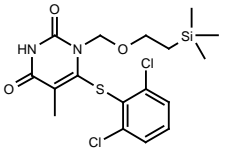
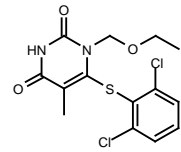
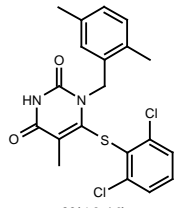
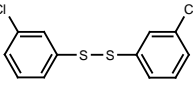
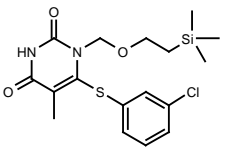
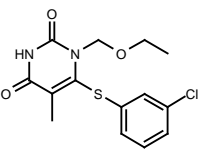
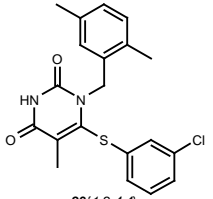
Respecte els espectres de masses, a més de fragmentar-se en els trossos ja mencionats pels respectius precursors, s'observa principalment la pèrdua del grup tiofenol. Sigui mitjançant AEO o un espectre de masses d'alta resolució, tots els anàlegs sintetitzats excepte un, **26**{1,1,1,2}, han assolit valors dins els marges d'acceptació. Tot i així, l'estructura de **26**{1,1,1,2} queda confirmada per la resta de l'espectroscòpia.

Dels 23 anàlegs d'HEPT **26** sintetitzats mitjançant aquesta metodologia (Taula 3.7), 22 són molècules noves i una **26**{1,2,3,1} es trobava descrita per Tanaka i col·laboradors però per síntesi via litiació.<sup>[5]</sup> Les activitats anti-VIH mesurades per aquest compost serveix per comparar amb els descrits.<sup>[5]</sup>

**Taula 3.7: Estructura i rendiments dels anàlegs d'HEPT 26 sintetitzats a partir de disulfur 25**

N-alkil-6-cloro-uracil 24 Disulfur 25	 24(1,1,1)		 24(1,1,3)		 24(1,1,4)	
 25(1)	 26(1,1,1,1)	84%  (20%)	 26(1,1,3,1)	84%  (11%)	 26(1,1,4,1)	91%  (15%)
 25(2)	 26(1,1,1,2)	90%  (21%)	 26(1,1,3,2)	84%  (11%)	 26(1,1,4,2)	37%  (6%)
 25(3)	 26(1,1,1,3)	70%  (17%)	 26(1,1,3,3)	51%  (7%)	 26(1,1,4,3)	68%  (11%)
 25(4)	 26(1,1,1,4)	77%  (18%)	 26(1,1,3,4)	82%  (11%)	 26(1,1,4,4)	62%  (10%)

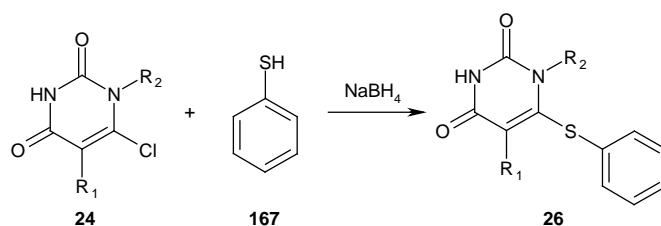
Els rendiments entre parèntesi corresponen als rendiments globals de la ruta sintètica a partir de la urea (19)

<b>N-alkil-6-cloro-uracil 24</b>  <b>Disulfur 25</b>	 <b>24(1,2,1)</b>		 <b>24(1,2,3)</b>		 <b>24(1,2,4)</b>	
 <b>25(1)</b>	 <b>26(1,2,1,1)</b>	---	 <b>26(1,2,3,1)</b>	<b>76%</b>  <b>(19%)</b>	 <b>26(1,2,4,1)</b>	<b>80%</b>  <b>(9%)</b>
 <b>25(2)</b>	 <b>26(1,2,1,2)</b>	<b>81%</b>  <b>(25%)</b>	 <b>26(1,2,3,2)</b>	<b>38%</b>  <b>(10%)</b>	 <b>26(1,2,4,2)</b>	<b>78%</b>  <b>(9%)</b>
 <b>25(3)</b>	 <b>26(1,2,1,3)</b>	<b>40%</b>  <b>(13%)</b>	 <b>26(1,2,3,3)</b>	<b>70%</b>  <b>(18%)</b>	 <b>26(1,2,4,3)</b>	<b>93%</b>  <b>(10%)</b>
 <b>25(4)</b>	 <b>26(1,2,1,4)</b>	<b>99%</b>  <b>(31%)</b>	 <b>26(1,2,3,4)</b>	<b>86%</b>  <b>(22%)</b>	 <b>26(1,2,4,4)</b>	<b>88%</b>  <b>(10%)</b>

Els rendiments entre parèntesi corresponen als rendiments globals de la ruta sintètica a partir de la urea (19)

--- No assajat

Com es pot observar en la Taula 3.7, no hi figura el compost **26**{1,2,1,1} ja que s'ha obtingut mitjançant un altre itinerari sintètic. Una vegada sintetitzats tots aquests 23 anàlegs d'HEPT (**13**), es va pensar en la possibilitat de què les característiques bàsiques del borohidruir sòdic fossin suficients per ionitzar el tiofenol **167** i així poder formar els derivats d'HEPT sense haver d'usar el corresponent disulfur **25** (Figura 3.40). Així, el tractament de **24**{1,2,1}, **24**{1,1,1} i **24**{1,2,3}, amb el corresponent el tiofenol (**11**) en presència de borohidruir sòdic ha permès l'obtenció de **26**{1,2,1,1}, **26**{1,1,1,1} i **26**{1,2,3,1} amb rendiments equivalents o millors a usar disulfur **25** com a reactiu (Taula 3.8). D'aquesta manera queda demostrat que la propietat bàsica del borohidruir és suficient per ionitzar el tiofenol (**167**{1}), cosa que permet evitar la síntesi del disulfur **25**{1}.



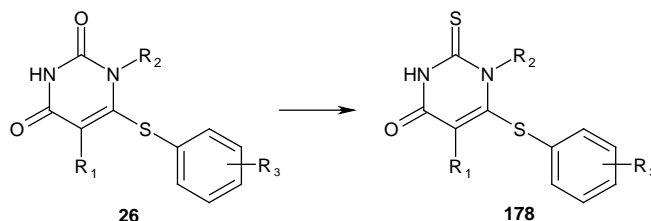
**Figura 3.40:** Reacció d'obtenció d'anàlegs d'HEPT **26** a partir de tiofenol **167**

**Taula 3.8:** Anàlegs d'HEPT **26** sintetitzats a partir de tiofenol (**11**{1}) amb els seus respectius rendiments. Els rendiments entre parèntesi corresponen als rendiments globals de la ruta sintètica a partir de la urea (**1**)

Anàleg HEPT <b>26</b>	Rendiment
 <b>26</b> {1,1,1,1}	83% (20%)
 <b>26</b> {1,2,3,1}	88% (22%)
 <b>26</b> {1,2,1,1}	79% (25%)

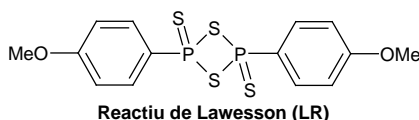
### 3.7. Síntesi dels anàlegs de 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)timina (HEPT) sulfurats 177

Una vegada sintetitzats els anàlegs d'HEPT (**26**) es recupera la idea inicial d'incorporar un àtom de sofre en comptes d'oxigen en la posició C2. En lloc d'emprar tiourea (**19{2}**) s'ha optat per introduir el sofre sobre els compostos finals **26** sintetitzats tal com es mostra en la Figura 3.41.



**Figura 3.41:** Sulfuració del carbonil en C2

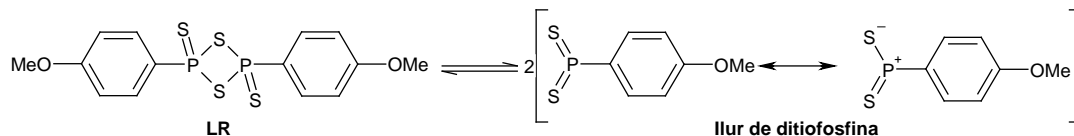
Per a transformar un grup carbonil en el seu corresponent grup tiocarbonil s'han usat clàssicament l'àcid sulfhídric ( $\text{H}_2\text{S}$ )<sup>[62]</sup> o el "pentasulfur de difòsfor" (decasulfur de tetrafòsfor  $\text{P}_4\text{S}_{10}$ ). En aquest treball, degut als grans excessos de reactiu necessaris en aquestes reaccions, a la llarga durada d'aquestes i als baixos rendiments, s'ha decidit buscar alternatives més viables.<sup>[63]</sup> De fet, el pentasulfur de difòsfor s'ha usat des de 1869, que és la data, segons Cava i col·laboradors quan es va descriure per primera vegada el seu ús per Henry i Wislicenus.<sup>[64]</sup> En la bibliografia s'han trobat descrites diverses patents dels anys 40 en les que es fan reaccionar olefines amb pentasulfur de difòsfor.<sup>[65-68]</sup> Posteriorment, als anys 50, es va estudiar amb més deteniment aquest tipus de reacció,<sup>[68]</sup> fins que el 1956, Lecher i col·laboradors,<sup>[69]</sup> entre els diversos sulfurs de tionofosfina de fenil sintetitzats, van obtenir el 2,4-bis(*p*-metoxifenil)-1,3-ditiadi-fosfetà-2,4-disulfur (conegut com a reactiu de Lawesson (LR)) (Figura 3.42).



**Figura 3.42:** Reactiu de Lawesson

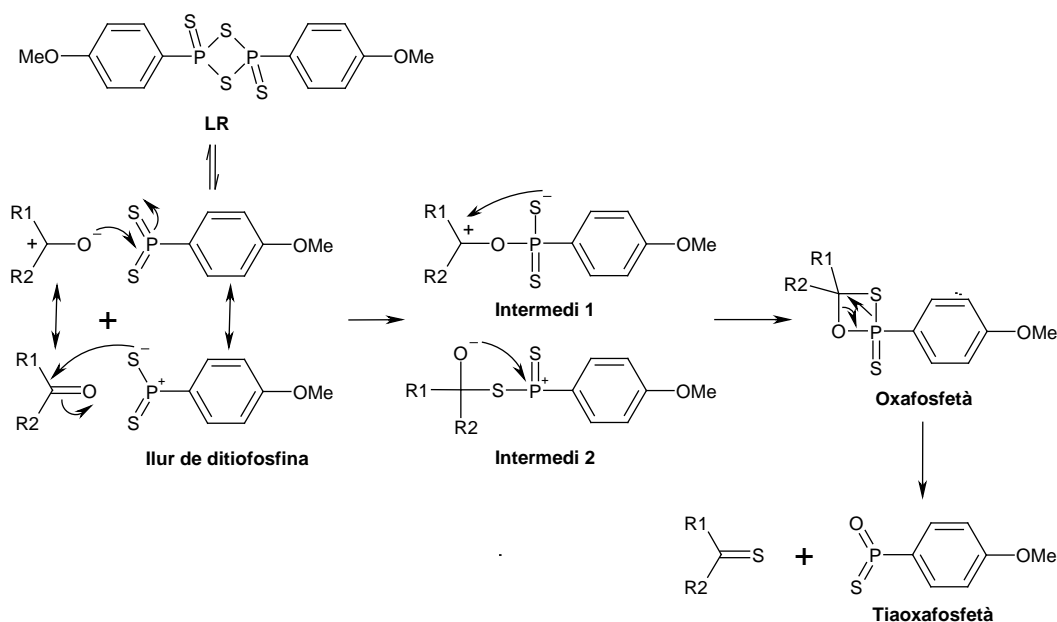
No és fins l'any 1967, que Hoffman i Schumacher varen aconseguir, mitjançant el reactiu de Lawesson, la transformació de la benzofenona en tiobenzofenona.<sup>[70]</sup> Posteriorment, a principis de l'any 1978, Lawesson i col·laboradors van publicar un estudi sistemàtic de l'ús del reactiu abans descrit.<sup>[71]</sup> Va ser llavors que el reactiu va passar a anomenar-se reactiu de Lawesson i que pràcticament es van abandonar les altres tècniques de sulfuració.

Pel que fa el mecanisme de reacció, existeixen dos tipus de mecanisme plausibles. En ambdós casos tot comença a través d'una de les dues estructures canòniques resonants de l'**ilur de ditiofosfina**,<sup>[72,73]</sup> una espècie molt més reactiva. Val a dir que l'**ilur de ditiofosfina** és la forma monomèrica del reactiu de Lawesson (**LR**) (Figura 3.43).



**Figura 3.43:** Equilibri entre el Reactiu de Lawesson i l'ilur de ditiofosfina

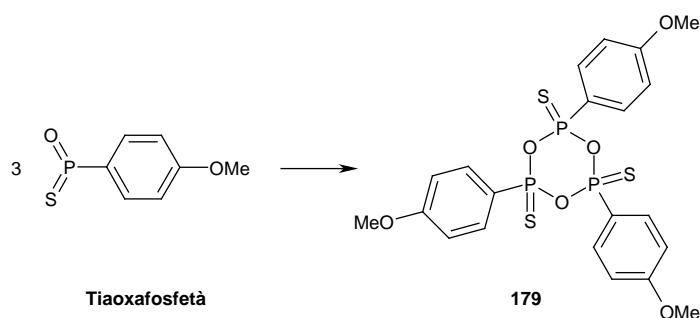
Una vegada generat l'ilur, pot produir-se l'atac sobre el carbonil a sulfurar (**intermedi 2**) o bé a partir de l'estructura canònica resonant, sigui l'oxigen del carbonil qui produeixi l'atac sobre el fòsfor (**intermedi 1**) per rendir el **tiaoxafosfetà** (Figura 3.44).



**Figura 3.44:** Possibles mecanismes de reacció de la sulfuració emprant el reactiu de Lawesson

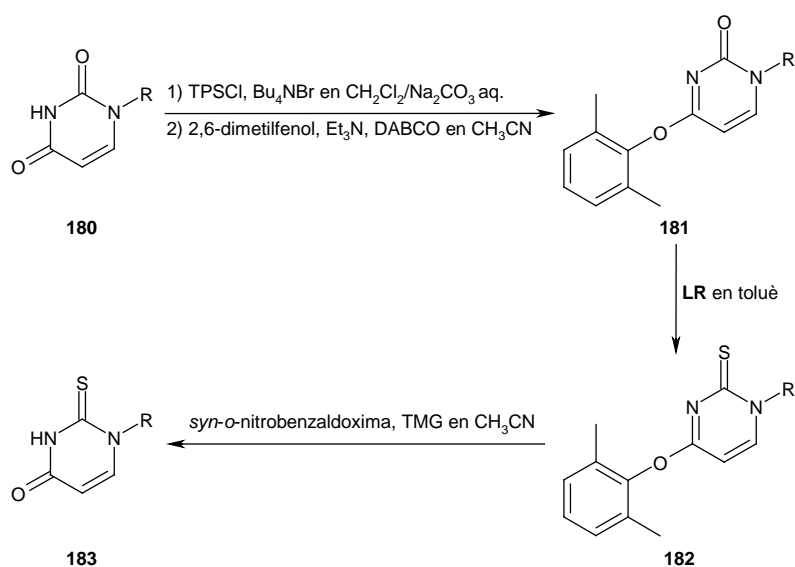
Després dels estudis de diversos grups sobre l'obtenció de tiocetones com per exemple, Navech *et al.*,<sup>[73]</sup> Rauchfuss i Zank,<sup>[72]</sup> i Yoshifuji *et al.*,<sup>[74]</sup> es va arribar a la conclusió de que la reacció evoluciona passant per l'**intermedi 1**. Un exemple molt representatiu d'això és el presentat per Baxter i Bradshaw<sup>[75]</sup> en què es van adonar, comparant diversos benzoats de metil, que la reacció de sulfuració rendeix molt millor en molècules que tenen un grup cessor (*p*-metoxibenzoat de metil) conjugat amb el carbonil a sulfurar que un grup acceptor (*p*-nitrobenzoat de metil). En resum, sembla doncs que la reacció comença per un atac nucleòfil de l'oxigen del carbonil sobre el fòsfor de l'agent sulfurant. Un factor important a tenir en compte per entendre aquesta reacció es la gran estabilitat termodinàmica del subproducte

obtingut i que l'enllaç P-O és molt més fort que no pas l'enllaç P-S.<sup>[63]</sup> D'altra banda, cal esmentar que el subproducte generat en la reacció, pot evolucionar formant el trímer tal com es mostra en la Figura 3.45.



**Figura 3.45:** Formació de *p*-metoxifenilmetatiosfosfonat (179)

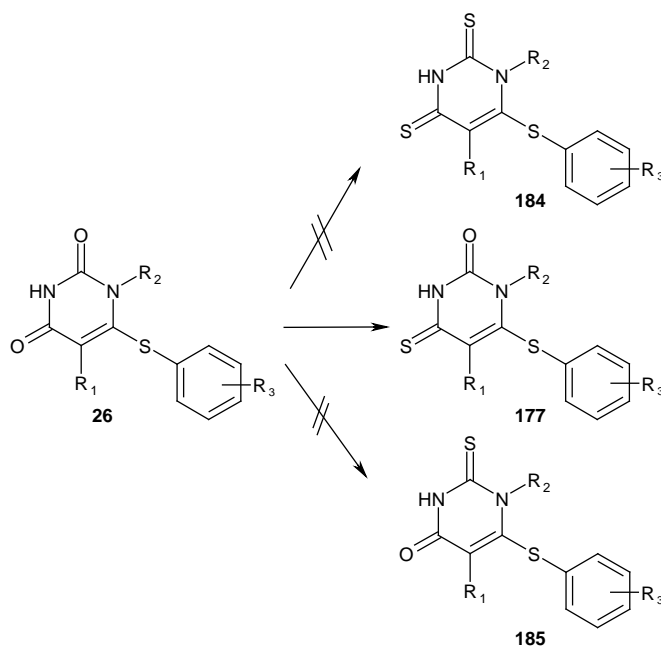
De la reacció de sulfuració emprant el reactiu de Lawesson, existeixen en la bibliografia algunes variants metodològiques. Sobretot hi ha diversitat pel que fa dissolvents (toluè,<sup>[76]</sup> xilè,<sup>[77]</sup> piridina,<sup>[78]</sup> dioxà,<sup>[78]</sup> sense dissolvent<sup>[79]</sup>), temps de reacció (2-25 h)<sup>[80]</sup> i quantitat de reactiu de Lawesson (0.5-3.0 equivalents),<sup>[80]</sup> Finalment, de totes les opcions trobades, s'ha optat per seguir la metodologia proposada per Okamoto *et al.*,<sup>[76]</sup> ja que es sulfuren uracils com és objectiu del present treball. Okamoto explica que, en general, la reacció és regioselectiva sobre C4 degut a una major reactivitat del carbonil en C4 que la del carbonil en C2. La raó de la major reactivitat de l'oxigen en C4 és conseqüència d'un major moviment tautomèric que el carbonil de la posició C2.<sup>[81]</sup> Com que segons els treballs de Hannongbua,<sup>[82]</sup> Hopkins<sup>[83]</sup> i Rizzo,<sup>[84]</sup> la posició C4 és la menys influent de tota la molècula pel que fa a l'activitat, es pot marcar com a nou objectiu sulfurar tots dos carbonils per evitar així la protecció del grup en C4, sulfuració en C2 i posterior desprotecció en C4 (Figura 3.46).



**Figura 3.46:** Estratègia de sulfuració de la posició 2 amb intermedi de protecció de la posició 4



Alternativament, es planteja obtenir el producte disulfurat **184** (Figura 3.47) i assajar l'activitat anti-VIH d'aquest. Per això s'escalfa **26** a reflux durant dues hores amb 3 equivalents (1.5 equivalents per cada grup carbonil) de reactiu de Lawesson (**LR**) en toluè anhidre i sota atmosfera de nitrogen. Passat aquest temps, es refreda a temperatura ambient, i es separa per filtració un sòlid generat del filtrat. Es comprova per  $^1\text{H-RMN}$  que el sòlid no és el producte desitjat i es recupera el filtrat. S'elimina el dissolvent a pressió reduïda i s'obté un sòlid groc que es dissol en cloroform per posteriorment realitzar dos rentats amb una dissolució saturada de bicarbonat sòdic. S'asseca la fase orgànica sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidre, es filtra i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda. Per últim, es realitza una separació cromatogràfica emprant sílice com a fase estacionària i una mescla d'acetat d'etil/hexà com a fase mòbil, obtenint-se, d'acord amb el descrit prèviament a la literatura, el terme de sulfuració en C4 **177** en forma de sòlid groc que en alguns casos envermelleix amb el temps. S'aplica aquesta metodologia als productes sobre **26**{1,2,3,1} i **26**{1,2,3,4} i s'obtenen els corresponents termes de sulfuració del carbonil en C4 **177**{1,2,3,1} i **177**{1,2,3,4} (Figura 3.47).



**Figura 3.47:** Sulfuració dels anàlegs d'HEPT **26**

Per intentar sulfurar també el carbonil en C2, en realitzen una sèrie de modificacions d'aquesta metodologia, com per exemple, allargar el temps de reacció fins a 24 hores, posar un excés de 5 equivalents per cada carbonil de reactiu de Lawesson i diverses proves irradiant amb microones.

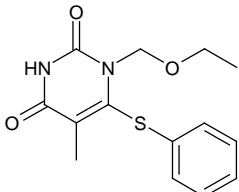
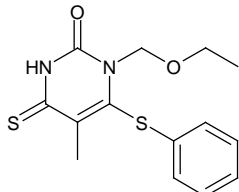
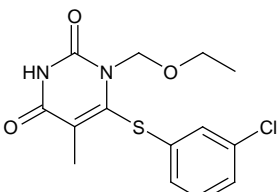
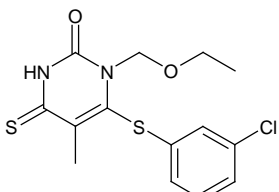
A diferència de la química convencional, l'ús de microones com a font de calor, a més de disminuir considerablement els temps de reacció, de millorar la selectivitat i la conversió, va en favor també de l'anomenada química verda, ja que permet realitzar reaccions sense dissolvent.<sup>[85]</sup>

En les proves efectuades en microones s'han modificat els següents paràmetres: temps (3-60 min.), temperatura (110-250 °C) i amb/sense dissolvent. Finalment, s'han optimitzat les condicions a una rampa d'escalfament de dos minuts fins a 110 °C i mantenir aquesta temperatura durant tres minuts emprant toluè com a dissolvent i 3 equivalents de reactiu de Lawesson (**LR**) obtenint els productes **177** anteriors com sòlids de color groc. Tot i això, no s'ha aconseguit sulfurar la posició C2.

Mitjançant aquesta metodologia, s'han sintetitzat dos nous anàlegs d'HEPT sulfurats **177** amb només un àtom de sofre en posició C4, **177**{1,2,3,1} i **177**{1,2,3,4}, cap d'ells descrit amb anterioritat. En l'espectre d'<sup>1</sup>H-RMN d'aquests, la diferència més notable respecte als seus antecessors **26** és el desplaçament cap a camp baix del protó en N3, 10.3 en comptes de 8.6 ppm, tal com ja descriuen en el seu treball Okamoto *et al.*<sup>[76]</sup> Els espectres de <sup>13</sup>C-RMN presenten, com a principal variació front als dels seus precursors **26**, l'aparició del senyal del carboni C4 més cap a camp baix degut a la substitució de l'àtom d'oxigen pel de sofre, repercutint de manera directa en la posició del senyal de C2 també més cap a camp baix. En l'espectre d'IR, tal com era d'esperar, desapareix una banda en la zona de tensió de carbonil (~1710 cm<sup>-1</sup>) en benefici d'una banda C=S (~1115 cm<sup>-1</sup>). S'han registrat també els espectres de masses d'alta i baixa resolució que confirmen l'obtenció de les molècules desitjades.

Finalment es presenta en la Taula 3.9 els dos nous anàlegs d'HEPT sulfurats **177** sintetitzats amb els seus corresponents rendiments.

**Taula 3.9:** Resum dels productes **177** sintetitzats

Reactiu	Producte	Mètode	Rendiment
 <b>26</b> {1,2,3,1}	 <b>177</b> {1,2,3,1}	A	71% (14%)
 <b>26</b> {1,2,3,4}	 <b>177</b> {1,2,3,4}	B	55% (12%)

A: metodologia en que l'escalfament s'efectua per microones

B: metodologia en que l'escalfament s'efectua mitjançant placa calefactors

Els rendiments entre parèntesi corresponen als rendiment globals de la ruta sintètica a partir de la urea (1)

Finalment, a mode de resum es presenta en la Figura 3.48 la ruta sintètica emprada per a l'obtenció dels diferents anàlegs d'HEPT descrits en el present treball.

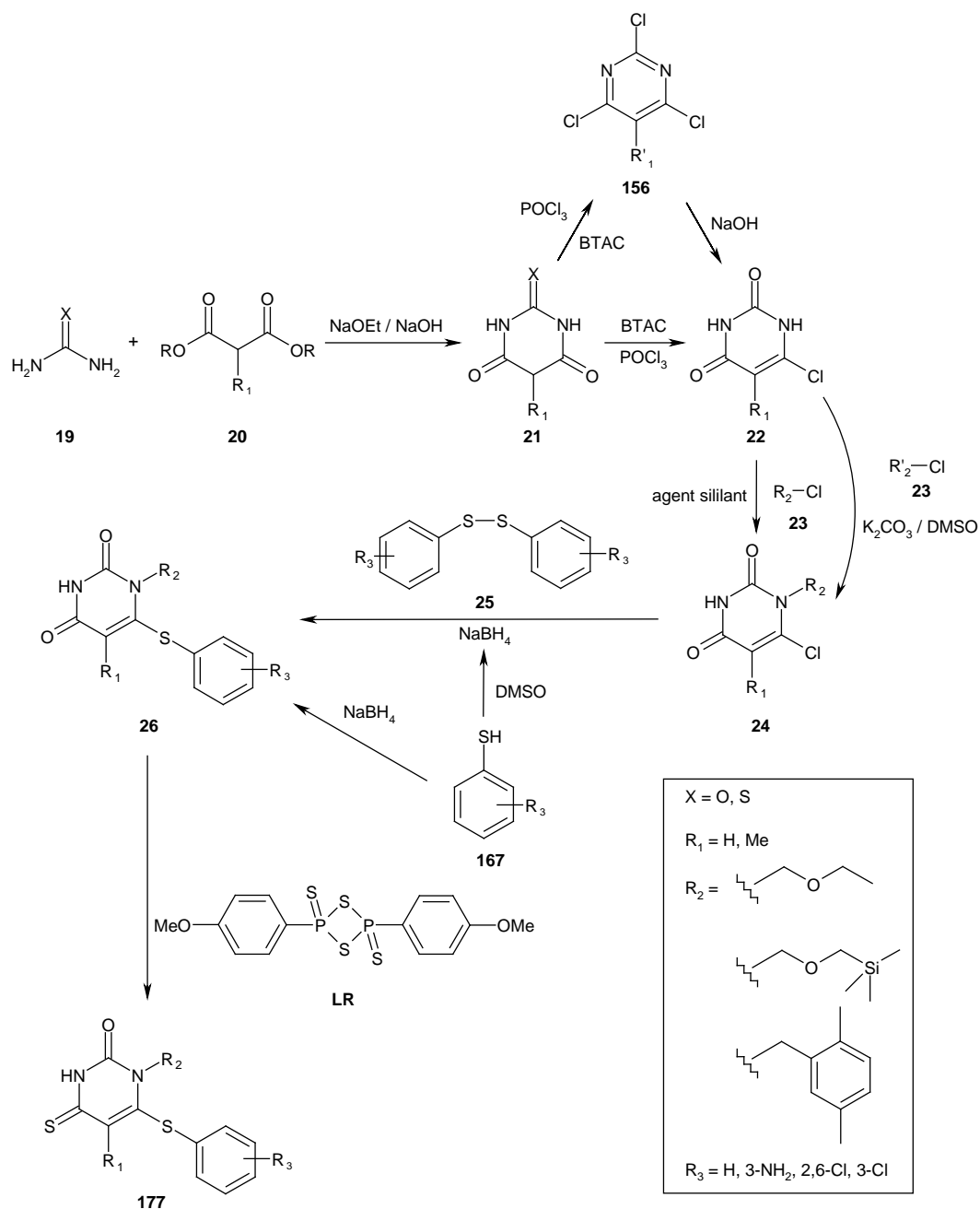


Figura 3.48: Ruta sintètica resum d'obtenció d'anàlegs d'HEPT

### 3.8. Valors d'activitat dels anàlegs de 1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)-timina (HEPT) **26** i **177**

Es determina l'activitat anti-VIH (EC<sub>50</sub>) i la citotoxicitat (CC<sub>50</sub>) de tots els anàlegs d'HEPT (**26**) i (**177**) sintetitzats en el grup del Dr. Esté del Laboratori de Retrovirologia de la Fundació IrsiCaixa usant la metodologia detallada en el Capítol 1 (Apartat 1.4).

Es mostra en la Taula 3.10 els valors d'activitat anti-VIH i citotoxicitat assajats.

**Taula 3.10:** Activitat anti-VIH i citotoxicitat dels compostos sintetitzats **25** i **26** i els compostos de referència AMD3100 (inhibidor de la unió del virus a CXCR4), AZT (Azidotimidina, inhibidor de la transcriptasa inversa), DS (Dextran Sulfat, inhibidor de la unió del virus a la cèl·lula) i RTV (Ritonavir, inhibidor de la proteasa). \* Significa el percentatge d'inhibició a una concentració de 25 µg/mL

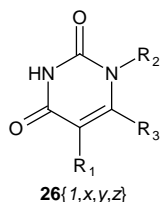
Compost	Conc. Màx. (µg/mL)	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	CC <sub>50</sub> (µg/mL)
<b>AMD3100</b>	5	0.001	>5
<b>AZT</b>	1	0.0008	>1
<b>DS</b>	125	0.30	>125
<b>RTV</b>	1	0.02	>1
<b>26</b> {1,1,1,1}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,1,1,2}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,1,1,3}	25	>10.58	10.6
<b>26</b> {1,1,1,4}	25	>11.55	11.6
<b>26</b> {1,1,3,1}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,1,3,2}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,1,3,3}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,1,3,4}	25	48%*	>25
<b>26</b> {1,1,4,1}	25	34%*	>25
<b>26</b> {1,1,4,2}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,1,4,3}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,1,4,4}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,2,1,1}	25	>9.94	9.9
<b>26</b> {1,2,1,2}	25	0.436	>25
<b>26</b> {1,2,1,3}	25	>9.24	9.2
<b>26</b> {1,2,1,4}	25	>9.94	9.9
<b>26</b> {1,2,3,1}	25	0.025	>25
<b>26</b> {1,2,3,2}	25	0.4	>25
<b>26</b> {1,2,3,3}	25	1.7	>25
<b>26</b> {1,2,3,4}	25	0.015	>25
<b>26</b> {1,2,4,1}	25	1.26	>25
<b>26</b> {1,2,4,2}	25	1.9	>25
<b>26</b> {1,2,4,3}	25	>25	>25
<b>26</b> {1,2,4,4}	25	0.336	13.6
<b>177</b> {1,2,3,4}	25	>1.70	1.7
<b>177</b> {1,2,3,1}	25	0.6	2.38

Com es pot observar en la Taula 3.10, es coneixen dades d'activitat i de toxicitat de tots els compostos sintetitzats a una concentració màxima de 25 µg/mL.

La Taula 3.11 permet visualitzar amb més facilitat els valors obtinguts. Es representen de color verd els valors d'activitat dels compostos que no presenten toxicitat i de color vermell els valors que si presenten una certa toxicitat. Dels compostos tòxics cal tenir en compte que

tots, excepte **26**{1,2,4,4} i **177**{1,2,3,1}, són tòxics a una concentració menor que la d'activitat, factor que impedeix avaluar-ne la EC<sub>50</sub>.

**Taula 3.11:** Activitat anti-VIH dels compostos sintetitzats en µg/mL (els valors en verd signifiquen que els compostos no són tòxics a la concentració màxima assajada, en canvi en vermell pels que si presenten toxicitat i en negre els que es pot avaluar la seva activitat tot i ser citotòxics a una concentració menor a la màxima assajada)



		<b>R<sub>2</sub></b>		
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>H (x = 1)</b>			
	<b>Me (x = 2)</b>			
<b>R<sub>3</sub></b>		>25 >9.94	>25 0.025	>25 1.26
		>25 0.44	>25 0.4	>25 1.9
		>10.58 >9.24	>25 1.7	>25 >25
		>11.55 >9.94	>25 0.015	>25 0.336

Analitzant els valors d'activitat obtinguts és evident que quan R<sub>1</sub> = Me, les activitats són força millors que quan R<sub>1</sub> = H. De fet, de la quimioteca sintetitzada, no hi ha cap compost que amb R<sub>1</sub> = H sigui actiu i no tòxic alhora. En el present treball, es confirma l'observació realitzada per Tanaka i col·laboradors,<sup>[57]</sup> de que la presència d'un grup voluminós en R<sub>1</sub> afavoreix l'activitat anti-VIH.

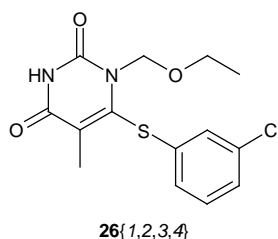
Pel que fa el substituent R<sub>2</sub>, s'observa que quan és el derivat provinent del SEM-Cl (**23**{1}), la majoria de molècules presenten citotoxicitat i les que no, són inactives a una

concentració de 25 µg/mL a excepció de **26**{1,2,1,2}. En canvi quan R<sub>2</sub> és el radical derivat de clorometilètilèter (**23**{3}) o clorur de 2,5-dimetilbenzil (**23**{4}) només **26**{1,2,4,4} presenta toxicitat a una concentració menor que 25 µg/mL. Si es comparen els dos tipus de radicals, s'observa que el provinent de **23**{4}, tot i mostrar certa activitat, en la majoria dels casos aquesta és dos ordres superior a la de les molècules derivatitzades amb el radical de **23**{3}. Per tant, dels tres compostos emprats per alquilar la posició N1, la millor opció és amb el clorometilètilèter (**23**{3}).

Finalment, sobre la influència d'R<sub>3</sub> sobre l'activitat anti-VIH, s'observa que substituents sobre l'anell tiofenílic en les posicions 2 i 6 són desfavorables front a l'anell sense substituents, mentre que un substituent en posició 3 pot afavorir o empitjorar l'activitat en funció de la seva naturalesa. Com es pot comprovar en la Taula 3.11, el cas en que el substituent és una amina primària l'activitat disminueix sensiblement, mentre que aquesta augmenta en ser un àtom de clor.

D'altra banda també s'ha avaluat l'activitat dels anàlegs tioderivats d'HEPT **177**. Tots dos anàlegs sintetitzats, **177**{1,2,3,4} i **177**{1,2,3,1}, han resultat ésser tòxics, encara que per **177**{1,2,3,1}, tot i ser tòxic, va ser possible avaluar-ne la seva activitat en ser el seu valor inferior al de toxicitat. Tot i això, comparant **177**{1,2,3,1} amb el seu anàleg no sulfurat **177**{1,2,3,1}, resulta ser menys actiu en un ordre de magnitud. Per tant, es conclou, tot i no tenir més dades, que la substitució d'un àtom d'oxigen per un de sofre en posició C4 comporta un augment de la toxicitat i una disminució de l'activitat.

De tots els anàlegs d'HEPT **26** sintetitzats, el compost més actiu és el **26**{1,2,3,4} (Figura 3.49). Per aquest compost i la resta d'anàlegs sintetitzats no ha estat possible comparar els valors d'activitat amb els d'altres anàlegs descrits en la literatura ni amb l'HEPT degut a que la soca de virus emprada en l'assaig és diferent. Ara bé, si es compara el valor d'activitat del compost **26**{1,2,3,4} amb els dels compostos que ja es comercialitzen (Taula 3.10), es pot observar que es troben en el mateix ordre de magnitud que el Ritonavir (RTV). Tot i això, estan encara un ordre de magnitud per sobre de l'AMD3100 i l'AZT.



**Figura 3.49:** Estructura de l'anàleg d'HEPT (**26** {1,2,3,4}) sintetitzat amb més activitat anti-VIH

## Bibliografia

- [1] M. Baba, H. Tanaka, E. De Clercq, R. Pauwels, J. Balzarini, D. Schols, H. Nakashima, C. F. Perno, R. T. Walker, T. Miyasaka. Highly specific inhibition of human immunodeficiency virus type 1 by a novel 6-substituted acycloauridine derivative. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1989**, 165 (3), p. 1375-1381.
- [2] T. Miyasaka, H. Tanaka, M. Baba, H. Hayakawa, R. T. Walker, J. Balzarini, E. De Clercq. A novel lead for specific anti-HIV-1 agents: 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32 (12), p. 2507-2509.
- [3] M. Mateu. Disseny computacional de biblioteques combinatòries d'anàlegs d'HEPT amb potencial activitat anti-VIH. Treball final de carrera. IQS (Universitat Ramon Llull). Barcelona, **2002**.
- [4] R. Pascual. Estudios sobre la metodología computacional para el diseño de bibliotecas combinatorias: Desarrollo del programa PRALINS y aplicaciones en el campo del VIH. Tesis doctoral. IQS (Universitat Ramon Llull), Barcelona, **2003**.
- [5] H. Tanaka, H. Takashima, M. Ubasawa, K. Sekiya, I. Nitta, M. Baba, S. Shigeta, R. T. Walker, C. E. De, T. Miyasaka. Synthesis and antiviral activity of deoxy analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) as potent and selective anti-HIV-1 agents. *J Med Chem*, **1992**, 35 (25), p. 4713-4719.
- [6] H. Tanaka, H. Takashima, M. Ubasawa, K. Sekiya, I. Nitta, M. Baba, S. Shigeta, R. T. Walker, E. De Clercq, T. Miyasaka. Structure-activity relationships of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine analogs: effect of substitutions at the C-6 phenyl ring and at the C-5 position on anti-HIV-1 activity. *J. Med. Chem.*, **1992**, 35 (2), p. 337-345.
- [7] D. Kim, J. Gam, Y. Kim, J. Lim, H. Kim, K. H. Kim. Synthesis and Anti-HIV-1 Activity of a Series of 1-Alkoxy-5-alkyl-6-(arythio)uracils. *J. Med. Chem.*, **1997**, 40 (15), p. 2363-2373.
- [8] R. Pontikis, R. Benhida, A. Aubertin, D. S. Grierson, C. Monneret. Synthesis and Anti-HIV Activity of Novel N-1 Side Chain-Modified Analogs of 1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT). *J. Med. Chem.*, **1997**, 40 (12), p. 1845-1854.
- [9] L. Giménez. Disseny d'una ruta sintètica per obtenir anàlegs d'HEPT (part 1). Treball final de carrera. IQS(Universitat Ramon Llull) Barcelona, **2005**.
- [10] J. B. Dickey, A. R. Gray. Barbituric acid. *Org. Synth.*, **1938**, 18, p. 8-9.
- [11] A. R. Katritzky, T. I. Yousaf. A carbon-13 nuclear magnetic resonance study of the pyrimidine synthesis by the reactions of 1,3-dicarbonyl compounds with amidines and ureas. *Can. J. Chem.*, **1986**, 64 (10), p. 2087-2093.
- [12] N. Yu, L. Lu. The improved process of preparation for 4,6-disubstituted-2-mercaptopyrimidines. *Zhongguo Kangshengsu Zazhi*, **1991**, 16 (2), p. 145-146.
- [13] S. Millefiori, A. Millefiori. Tautomerism in barbituric and thiobarbituric acids. *J. Heterocycl. Chem.*, **1989**, 26 (3), p. 639-644.

- [14] N. Lee, Y. Kim, K. H. Kim, D. Kim. A new route to the improved synthesis of 1-(alkoxymethyl)-5-alkyl-6-(arylselenenyl)uracils. *J. Heterocycl. Chem.*, **1997**, *34* (2), p. 659-663.
- [15] P. M. J. Tarantino, C. Zhi, J. J. Gambino, G. E. Wright, N. C. Brown. 6-Anilinouracil-Based Inhibitors of *Bacillus subtilis* DNA Polymerase III: Antipolymerase and Antimicrobial Structure-Activity Relationships Based on Substitution at Uracil N3. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42* (11), p. 2035-2040.
- [16] C. Zhi, Z. Long, J. Gambino, W. Xu, N. C. Brown, M. Barnes, M. Butler, W. LaMarr, G. E. Wright. Synthesis of Substituted 6-Anilinouracils and Their Inhibition of DNA Polymerase III and Gram-Positive Bacterial Growth. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46* (13), p. 2731-2739.
- [17] Database for Organic Compounds SDBS., **2010**. (04/10).
- [18] I. Ishikawa, T. Itoh, R. G. Melik-Ohanjanian, H. Takayanagi, Y. Mizuno, H. Ogura, N. Kawahara. Synthesis and x-ray analysis of 1-benzyl-6-chlorouracil. *Heterocycles*, **1990**, *31* (9), p. 1641-1646.
- [19] Z. Kazimierczuk, W. Pfeleiderer. Pteridines. LXVII. Synthesis and properties of mono-, di-, and trithio derivatives of 7-hydroxy-1,3-dimethylumazine. *Chem. Ber.*, **1979**, *112* (5), p. 1499-1513.
- [20] G. Nübel, W. Pfeleiderer. Pteridines. XXI. The synthesis and structure of 8-substituted 2,4,7-trioxohexahydropteridine-6-carboxylic acids. *Chem. Ber.*, **1962**, *95*, p. 1605-1614.
- [21] K. Senga, M. Ichiba, S. Nishigaki. Synthesis and properties of [1,2,3]thiadiazolo-[4,5-*d*]pyrimidine derivatives including their mesoionic compounds. A new class of heterocycles. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43* (9), p. 1677-1683.
- [22] T. L. Su, K. A. Watanabe, R. F. Schinazi, J. J. Fox. Nucleosides. 136. Synthesis and antiviral effects of several 1-(2-deoxy-2-fluoro-beta-D-arabinofuranosyl)-5-alkyluracils. Some structure-activity relationships. *J Med Chem*, **1986**, *29* (1), p. 151-154.
- [23] H. Koroniak, A. Jankowski, M. Krasnowski. Facile large scale synthesis of 5-alkyluracils. *Org. Prep. Proced. Int.*, **1993**, *25* (5), p. 563-568.
- [24] M. J. Robins, B. Uznanski. Nucleic acid related compounds. 33. Conversions of adenosine and guanosine to 2,6-dichloro, 2-amino-6-chloro, and derived purine nucleosides. *Can. J. Chem.*, **1981**, *59* (17), p. 2601-2607.
- [25] E. Fischer, B. Helferich. Synthetic glucosides of the purines. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1914**, *47*, p. 210-233.
- [26] J. Davoll, B. A. Lowy. A new synthesis of purine nucleosides. The synthesis of adenosine, guanosine, and 2,6-diamino-9- $\beta$ -D-ribofuranosylpurine. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, *73*, p. 1650-1655.
- [27] U. Niedballa, H. Vorbrueggen. Synthesis of nucleosides. 3. General synthesis of pyrimidine nucleosides. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1970**, *9* (6), p. 461-462.
- [28] W. W. Lee, A. P. Martinez, L. Goodman, D. W. Henry. Guanine, thioguanine, and related nucleosides by the mercuric cyanide-silyl method. Improved synthesis of  $\alpha$ -2'-deoxythioguanosine. *J. Org. Chem.*, **1972**, *37* (19), p. 2923-2927.



- [29] K. K. Ogilvie, M. F. Gillen. Ring open analogs of deoxynucleotides. *Tetrahedron Lett.*, **1980**, 21 (4), p. 327-330.
- [30] H. Vorbrüggen, K. Krolkiewicz, B. Bennua. Nucleoside syntheses. XXII. Nucleoside synthesis with trimethylsilyl triflate and perchlorate as catalysts. *Chem. Ber.*, **1981**, 114 (4), p. 1234-1255.
- [31] K. K. Ogilvie, U. O. Cheriyan, B. K. Radatus, K. O. Smith, K. S. Galloway, W. L. Kennell. Biologically active acyclonucleoside analogs. II. The synthesis of 9-[[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethoxy]methyl]guanine (BIOLF-62). *Can. J. Chem.*, **1982**, 60 (24), p. 3005-3010.
- [32] Z. Tocik, R. A. Earl, J. Beranek. The use of iodotrimethylsilane in nucleosidation procedure. *Nucleic Acids Res*, **1980**, 8 (20), p. 4755-4761.
- [33] Y. H. Kim, J. Y. Kim, C. H. Lee. Efficient synthesis of acyclic nucleosides by N-alkylation of pyrimidine and purine-bases using a new coupling agent of cesium iodide. *Chem. Lett.*, **1988** (6), p. 1045-1048.
- [34] O. R. Ludek, T. Kraemer, J. Balzarini, C. Meier. Divergent synthesis and biological evaluation of carbocyclic  $\alpha$ , iso- and 3'-epi-nucleosides and their lipophilic nucleotide prodrugs. *Synthesis*, **2006** (8), p. 1313-1324.
- [35] T. Ueda, H. Nishino. On the Hilbert-Johnson procedure for pyrimidine nucleoside synthesis. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1968**, 90 (6), p. 1678-1679.
- [36] G. E. Hilbert, T. B. Johnson. Pyrimidines. CXVII. Method for the synthesis of nucleosides. *J. Am. Chem. Soc.*, **1930**, 52, p. 4489-4494.
- [37] G. E. Hilbert, T. B. Johnson. Pyrimidines. CXV. Alkylation on nitrogen of the pyrimidine cycle by application of a new technic involving molecular rearrangements. *J. Am. Chem. Soc.*, **1930**, 52, p. 2001-2007.
- [38] H. Vorbrüggen, B. Bennua. Nucleoside syntheses. XXV. A new simplified nucleoside synthesis. *Chem. Ber.*, **1981**, 114 (4), p. 1279-1286.
- [39] E. V. White, P. M. Krueger, J. A. McCloskey. Mass spectra of trimethylsilyl derivatives of pyrimidine and purine bases. *J. Org. Chem.*, **1972**, 37 (3), p. 430-438.
- [40] H. Vorbrüggen, G. Hoefle. Nucleoside syntheses. XXIII. On the mechanism of nucleoside synthesis. *Chem. Ber.*, **1981**, 114 (4), p. 1256-1268.
- [41] H. Vorbrüggen, C. Ruh-Pohlenz. Handbook of nucleoside synthesis. **2001**, p. 646.
- [42] B. R. Baker, M. Kawazu, D. V. Santi, T. J. Schwan. Irreversible enzyme inhibitors. LXXVII. Inhibitors of thymidine phosphorylase. 3. Hydrophobic bonding by 1-substituted uracils containing additional substituents at the 5 and 6 positions. *J. Med. Chem.*, **1967**, 10 (2), p. 304-311.
- [43] T. Maruyama, S. Kozai, Y. Demizu, M. Witvrouw, C. Pannecouque, J. Balzarini, R. Snoecks, G. Andrei, E. De Clercq. Synthesis and anti-HIV-1 and anti-HCMV activity of 1-substituted 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil derivatives. *Chem. Pharm. Bull.*, **2006**, 54 (3), p. 325-333.

- [44] G. Sun, X. Chen, F. Chen, Y. Wang, E. De Clercq, J. Balzarini, C. Pannecouque. Nonnucleoside HIV-1 reverse-transcriptase inhibitors, Part 5. Synthesis and anti-HIV-1 activity of novel 6-naphthylthio HEPT analogues. *Chem. Pharm. Bull.*, **2005**, *53* (8), p. 886-892.
- [45] T. Kimura, S. Miyazaki, K. Ueda, K. Tanzawa, S. Ushiyama, W. Takasaki. Preparation of phenylsulfonamide derivatives as proteinase and aggrecanase inhibitors. Patent 9951572. (filing date: 02/04/1998).
- [46] M. M. Khodaei, P. Salehi, M. Goodarzi, A. Yazdanipour.  $\gamma$ -PCC and  $\gamma$ -PCC-SiO<sub>2</sub> as efficient reagents for oxidation of thiols to disulfides. *Synth. Commun.*, **2004**, *34* (20), p. 3661-3666.
- [47] M. M. Khodaie, P. Salehi, M. Goodarzi.  $\gamma$ -Picolinium chlorochromate ( $\gamma$ -PCC): a new and efficient reagent for the oxidation of primary and secondary alcohols. *Synth. Commun.*, **2001**, *31* (8), p. 1253-1256.
- [48] A. McKillop, D. Koyunçu, A. Krief, W. Dumont, P. Renier, M. Trabelsi. Efficient, high yield oxidation of thiols and selenols to disulfides and diselenides. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31* (35), p. 5007-5010.
- [49] M. Zhang, D. Ryckman, G. Chen, E. MacMillan, J. Duquette. Practical and scaleable syntheses of 3-hydroxythiophenol. *Synthesis*, **2003** (1), p. 112-116.
- [50] T. J. Wallace. Reactions of thiols with sulfoxides. I. Scope of the reaction and synthetic applications. *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, *86* (10), p. 2018-2021.
- [51] T. J. Wallace, J. J. Mahon. Reactions of thiols with sulfoxides. III. Catalysis by acids and bases. *J. Org. Chem.*, **1965**, *30* (5), p. 1502-1506.
- [52] T. J. Wallace, J. J. Mahon. Reactions of thiols with sulfoxides. II. Kinetics and mechanistic implications. *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, *86* (19), p. 4099-4103.
- [53] T. Miyasaka, H. Tanaka, E. D. A. De Clercq, M. Baba, R. T. Walker, M. Ubasawa. 6-substituted acyclic pyrimidine nucleoside derivatives and antiviral agents containing same as active ingredients. WO Patent 8909213. (filing date: 31/03/1988).
- [54] H. Tanaka, H. Hayakawa, T. Miyasaka. Umpolung of reactivity at the C-6 position of uridine: a simple and general method for 6-substituted uridines. *Tetrahedron*, **1982**, *38* (17), p. 2635-2642.
- [55] H. Tanaka, H. Hayakawa, S. Iijima, K. Haraguchi, T. Miyasaka. Lithiation of 3',5'-O-(tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)-2'-deoxyuridine: synthesis of 6-substituted 2'-deoxyuridines. *Tetrahedron*, **1985**, *41* (5), p. 861-866.
- [56] J. A. Rabi, J. J. Fox. Nucleosides. LXXIX. Facile base-catalyzed hydrogen isotope labeling at position 6 of pyrimidine nucleosides. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1973**, *95* (5), p. 1628-1632.
- [57] H. Tanaka, M. Baba, H. Hayakawa, T. Sakamaki, T. Miyasaka, M. Ubasawa, H. Takashima, K. Sekiya, I. Nitta, et al. A new class of HIV-1 specific 6-substituted acyclouridine derivatives: synthesis and anti-HIV-1 activity of 5- or 6-substituted analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT). *J. Med. Chem.*, **1991**, *34* (1), p. 349-357.

- [58] F. Yoneda, K. Tsukuda, M. Kawazoe, A. Sone, A. Koshiro. Synthesis and properties of 1-benzothiopyrano[2,3-d]-pyrimidine-2,4-(3H)diones (10-thia-5-deazaflavins). *J. Heterocycl. Chem.*, **1981**, 18 (7), p. 1329-1334.
- [59] H. Maruenda, F. Johnson. Design and Synthesis of Novel Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38 (12), p. 2145-2151.
- [60] A. A. El-Emam, M. A. M. Massoud, E. R. El-Bendary, M. A. El-Sayed. Synthesis of certain 6-(aryltio)uracils and related derivatives as potential antiviral agents. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2004**, 25 (7), p. 991-996.
- [61] G. Sun, Y. Kuang, S. Wang, F. Chen. A simple and convenient synthesis of HEPT analogues via a one-pot reduction-sulfenylation reaction. *Synth. Commun.*, **2004**, 34 (12), p. 2229-2235.
- [62] E. Campaigne. Thiones and thials. *Chem. Rev.*, **1946**, 39, p. 1-77.
- [63] M. Jesberger, T. P. Davis, L. Barner. Applications of Lawesson's reagent in organic and organometallic syntheses. *Synthesis*, **2003** (13), p. 1929-1958.
- [64] M. P. Cava, M. I. Levinson. Thionation reactions of Lawesson's reagents. *Tetrahedron*, **1985**, 41 (22), p. 5061-5087.
- [65] H. S. Angel, E. W. Fuller, H. G. Berger. Addition agents for mineral oil. U.S. Patent 2381377. (filing date: 7/08/1945).
- [66] C. M. Hull. Mercaptans. U.S. Patent 2351763. (filing date: 20/06/1944).
- [67] C. M. Loane, J. W. Gaynor. Lubricants suitable for use in automobile or Diesel engines. U.S. Patent 2316078. (filing date: 06/04/1943).
- [68] P. Fay, H. P. Lankelma. The reaction of cyclohexene with phosphorus pentasulfide. *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 74, p. 4933-4935.
- [69] H. Z. Lecher, R. A. Greenwood, K. C. Whitehouse, T. H. Chao. The phosphonation of aromatic compounds with phosphorus pentasulfide. *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, 78, p. 5018-5022.
- [70] H. Hoffmann, G. Schumacher. Reactions with p-methoxyphenyldithiophosphonic acid anhydride. *Tetrahedron Lett.*, **1967** (31), p. 2963-2966.
- [71] B. S. Pedersen, S. Scheibye, N. H. Nilsson, S. O. Lawesson. Studies on organophosphorus compounds. XX. Syntheses of thioketones. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **1978**, 87 (3), p. 223-228.
- [72] T. B. Rauchfuss, G. A. Zank. Mechanistic studies on the thiation of carbonyls by Lawesson's reagent: the role of a 3-coordinate phosphorus(V) species. *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27 (30), p. 3445-3448.
- [73] J. Navech, J. P. Majoral, R. Kraemer. Synthesis of the first stable metadithiophosphonate. *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24 (52), p. 5885-5886.
- [74] M. Yoshifuji, D. An, K. Toyota, M. Yasunami. 2,4-Di-t-butyl-6-methoxyphenyldithioxophosphorane as a probe for the mechanistic studies of Lawesson's reagent. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35 (25), p. 4379-4382.

- [75] S. L. Baxter, J. S. Bradshaw. A new conversion of esters to ethers and its application to the preparation of furano-18-crown-6. *J. Org. Chem.*, **1981**, *46* (4), p. 831-832.
- [76] I. Okamoto, K. Shohda, K. Seio, M. Sekine. A New Route to 2'-O-Alkyl-2-thiouridine Derivatives via 4-O-Protection of the Uracil Base and Hybridization Properties of Oligonucleotides Incorporating These Modified Nucleoside Derivatives. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68* (26), p. 9971-9982.
- [77] A. Zylewska, W. Tejchman, M. J. Korohoda, M. Zylewski. Synthesis of 1,4,6-trisubstituted 2[1H]-pyrimidineselenones. *Heterocycles*, **2003**, *60* (12), p. 2749-2760.
- [78] F. Peyrane, P. Clivio.  $\beta$ -Selective synthesis of 2'-deoxy-5,6-dihydro-4-thiouridine, a precursor of the unstable nucleoside product of ionizing radiation damage 2'-deoxy-5,6-dihydrocytidine. *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3* (9), p. 1685-1689.
- [79] R. S. Varma. Solvent-free accelerated organic syntheses using microwaves. *Pure Appl. Chem.*, **2001**, *73* (1), p. 193-198.
- [80] R. S. Varma, D. Kumar. Microwave-Accelerated Solvent-Free Synthesis of Thioketones, Thiolactones, Thioamides, Thionoesters, and Thioflavonoids. *Org. Lett.*, **1999**, *1* (5), p. 697-700.
- [81] G. B. Elion, G. H. Hitchings. Direct thiation of uracils. *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, *69*, p. 2138-2139.
- [82] S. Hannongbua, K. Nivesanond, L. Lawtrakul, P. Pungpo, P. Wolschann. 3D-Quantitative Structure-Activity Relationships of HEPT Derivatives as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors, Based on Ab Initio Calculations. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2001**, *41* (3), p. 848-855.
- [83] A. L. Hopkins, J. Ren, R. M. Esnouf, B. E. Willcox, E. Y. Jones, C. Ross, T. Miyasaka, R. T. Walker, H. Tanaka, et al. Complexes of HIV-1 Reverse Transcriptase with Inhibitors of the HEPT Series Reveal Conformational Changes Relevant to the Design of Potent Non-Nucleoside Inhibitors. *J. Med. Chem.*, **1996**, *39* (8), p. 1589-1600.
- [84] R. C. Rizzo, J. Tirado-Rives, W. L. Jorgensen. Estimation of binding affinities for HEPT and nevirapine analogues with HIV-1 reverse transcriptase via Monte Carlo simulations. *J. Med. Chem.*, **2001**, *44* (2), p. 145-154.
- [85] R. S. Varma. Solvent-free organic syntheses using supported reagents and microwave irradiation. *Green Chem.*, **1999**, *1* (1), p. 43-55

**Part experimental**



## 4.0. Instrumentation

**Infrared Spectra (IR)** were recorded in a Nicolet Magna 560 FTIR spectrophotometer of the Organic Chemistry department at IQS, by Mrs. M<sup>a</sup> Carmen Meca and Mrs. Núria Ruiz, under the leadership of Dr. Xavier Batllori. Values are reported in wave numbers (cm<sup>-1</sup>). The notation used is: KBr (potassium bromide plates), film (evaporated film from chloroform), t (tension),  $\delta$  (deformation vibration),  $\gamma$  (skeletal vibration), ip (in plan), oop (out of plan), sim (symmetrical), as (antisymmetrical).

**Nuclear Magnetic Resonance spectra (<sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR)** were recorded on either a Varian Gemini 300HC apparatus (<sup>1</sup>H-NMR at 300 MHz and <sup>13</sup>C-NMR at 75.5 MHz) or a Varian 400-MR spectrometer (<sup>1</sup>H-NMR at 400 MHz and <sup>13</sup>C-NMR at 100.6 MHz) by Mrs. N. Ruiz, Dr. X. Batllori or by myself in the Organic Chemistry department at IQS under the leadership of Dr. X. Batllori. Chemical shifts are reported in part per million (ppm) on the  $\delta$  scale, and are referenced to tetramethylsilane (TMS) or 3-(trimethylsilyl)propionic acid-d<sub>4</sub> sodium salt (TSPNa) in <sup>1</sup>H-NMR spectra and to residual signal of the solvent CDCl<sub>3</sub> (77.0), DMSO-d<sub>6</sub> (39.5), TFA-d (116.6), methanol-d<sub>4</sub> (49.0), acetone-d<sub>6</sub> (29.8) in <sup>13</sup>C-RMN spectra. Coupling constants are reported in Hertz (Hz). Spectral splitting patterns are designated as a: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), dd (doublet of doublets), ddd (doublet of doublet of doublets), m (complex multiplet), br s (broad signal), \* signal assignment exchangeable (CH), \*\* signal assignment exchangeable (C).

**Mass Spectrometry (MS)** was conducted on a Hewlett-Packard-5988-A mass spectrometer operating in electron ionisation (EI) mode at 70 eV and at 4kV accelerating potential or on a VG AutoSpec (Micromass Instruments) TrioSector EBE spectrometer operating in Fast Atom Bombardment (FAB) mode or on a Biotoff II (Bruker) in Electrospray ionization (ESI) mode with a Time Of Flight (TOF) detector at Unidade de Espectrometria de Masas (Universidad de Santiago de Compostela) under the leadership of Dr. Esteban Gutiérrez and on an Agilent Technologies 5975 spectrometer at Organic Chemistry department at IQS under the leadership of Dr. Xavier Batllori by Mrs M<sup>a</sup> Carmen Meca and Mrs. Núria Ruiz.

**High Resolution Mass Spectrometry (HRMS)** was conducted on a VG AutoSpec (Micromass Instruments) TrioSector EBE of high resolution spectrometer operating in FAB or EI mode and on Biotoff II (Bruker) apparatus in ESI-TOF mode at Servicio de Espectroscopía de Masas (Universidade de Santiago de Compostela) under the leadership of Dr. Esteban Gutiérrez.

**Elemental microanalyses** were obtained in a Carlo-Erba CHNS-O/EA 1180 at Organic Chemistry department at IQS by Mrs. N. Ruiz under the leadership of Dr. X. Batllori

The **boiling point (bp)** and **decomposition point (dp)** were determined with a Büchi-Tottoli 530 capillary apparatus and are uncorrected.

**Thank them for all their work.**

Some **microwave irradiation** experiments were carried out in a dedicated Discover<sup>®</sup> (CEM Corporation) microwave apparatus, operating at a frequency of 2.45 GHz with continuous irradiation power from 0 to 300 W. Reactions were carried out in 10 mL glass tubes, sealed with aluminium/Teflon crimp tops, which can be exposed up to 250 °C and 20 bar internal pressure. Temperature was measured with an IR sensor on the outer surface of the process vial. After the irradiation period, the reaction vessel was cooled rapidly to 50 °C by air jet cooling.

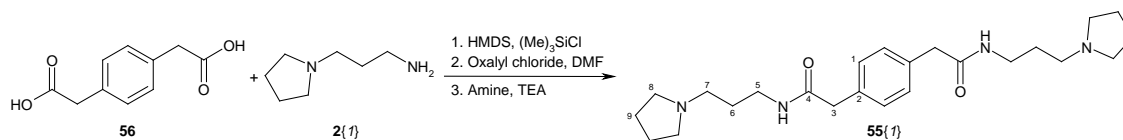
Another **microwave irradiation** experiments were carried out in a Initiator<sup>™</sup> (Biotage) microwave apparatus, operating at a frequency of 2.45 GHz with continuous irradiation power from 0 to 400 W. Reactions were carried out in 0.5, 2.5, 5, 20 mL glass tubes, sealed with aluminium/Teflon crimp tops, which can be exposed up to 250 °C and 20 bar internal pressure. Temperature was measured with an IR sensor on the outer surface of the process vial. After the irradiation period, the reaction vessel was cooled rapidly to 50 °C by air jet cooling.

Automatic flash chromatography was done in an Isco Combiflash medium pressure liquid chromatograph with RediSep<sup>®</sup> silica gel columns (35-70 µm) or basic alumina columns (50-200 µm).



## 4.1. Synthesis of amides

### 4.1.1. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(pyrrolidin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{1}**)



A mixture of 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexamethyldisilazane (HMDS) (2.86 mL, 20.60 mmol) and trimethylchlorosilane (12 drops) in dry 1,2-dichloroethane (60 mL) was refluxed overnight under  $N_2$ . The solution was evaporated at reduced pressure. The residual material was bis(trimethylsilyl) 1,4-benzenediacetate (**59**). This product thus obtained was dissolved in anhydrous  $CH_2Cl_2$  (20 mL) and anhydrous DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol) added dropwise to the solution at 0 °C, the solution stirred for 1 h at this temperature under  $N_2$  and for 1 h at room temperature before the solvent was removed at reduced pressure. The residual material was 1,4-benzenediacetyl dichloride (**58**). Anhydrous  $CH_2Cl_2$  (28 mL) was added to the flask and cooled to 0 °C. 1-(3-aminopropyl)pyrrolidine (**2{1}**) (2.68 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol) were added. The solution was stirred overnight at room temperature under  $N_2$ . A  $K_2CO_3$  solution (25%) (40 mL) was added and the aqueous layer was separated and extracted with  $CH_2Cl_2$  (3 x 40 mL). The combined organic extracts were washed with water (2 x 40 mL), brine (40 mL) and were dried under  $MgSO_4$  and concentrated. Purification of the residue by flash chromatography (silica, 75:25:2,  $CH_2Cl_2/MeOH/NH_3$ ) provided 2.43 g (5.84 mmol, 57%) of *N,N'*-bis(3-pyrrolidin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{1}**) as a white solid, mp 160-161 °C.

#### Spectroscopic data:

**$^1H$ -RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 7.23 (s, 4H, C1-H), 6.92 (br s, 2H, N-H), 3.49 (s, 4H, C3-H), 3.31 (q,  $^3J = 5.6$  Hz, 4H, C5-H), 2.49 (t,  $^3J = 6.5$  Hz, 4H, C7-H), 2.43 (m, 8H, C8-H), 1.71 (m, 8H, C9-H), 1.64 (quintuplet,  $^3J = 6.5$  Hz, 4H, C6-H).

**$^{13}C$ -RMN (100.6 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 170.8 (C4), 134.1 (C2), 129.7 (C1), 54.9 (C7), 54.0 (C8), 43.6 (C3), 39.4 (C5), 27.1 (C6), 23.4 (C9).

**IR (KBr):**  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ): 3264 (*t* N-H), 3080 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2962, 2874, 2791 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1642 (*t* C=O), 1562 ( $\delta$  NH).

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 414.2 (16)  $[M]^+$ , 330.1 (32)  $[M-C_5H_{10}N]^+$ , 274.0 (10)  $[M-C_8H_{16}N_2]^+$ , 260.0 (43)  $[M-C_9H_{18}N_2]^+$ , 97.9 (31)  $[C_6H_{12}N]^+$ , 83.9 (100)  $[C_5H_{10}N]^+$ , 69.9 (29)  $[C_4H_8N]^+$

**HRMS (70 eV, EI):**  $m/z$  calculated for  $C_{24}H_{38}N_4O_2$ : 414.2995,  $[M]^+$ ; Found: 414.2992.

#### 4.1.2. Synthesis of *N,N'*-bis(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{2}**)



The procedure was the same as that stated above for **55{1}**, but was carried out by using 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexametildisilazane (HMDS) (2.86 mL, 20.60 mmol), trimethylchlorosilane (12 drops), DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol), 1-(2-aminoethyl)pyrrolidine (**2{2}**) (2.65 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (silica, 75:25:2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>3</sub>) to afford 3.06 g (7.82 mmol, 76%) of *N,N'*-bis(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{2}**) as a white solid, mp 194-196 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.24 (s, 4H, C1-H), 6.16 (br s, 2H, N-H), 3.53 (s, 4H, C3-H), 3.32 (q, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 4H, C5-H), 2.54 (t, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 4H, C6-H), 2.45 (m, 8H, C7-H), 1.72 (m, 8H, C8-H).

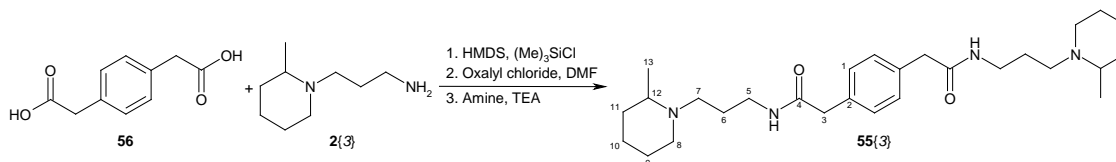
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 170.8 (C4), 134.0 (C2), 129.6 (C1), 54.3 (C6), 53.7 (C7), 43.3 (C3), 38.2 (C5), 23.4 (C8).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3288 (t N-H), 3083 (t Csp<sup>2</sup>-H), 2964, 2939, 2872, 2800 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1648 (t C=O), 1549 (δ NH).

**Anal.:** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: C: 68.36%, H: 8.87%, N: 14.49%, O: 8.28%; Found: C: 68.11%, H: 8.75%, N: 14.69%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 386.3 (2) [M]<sup>+</sup>, 246.2 (2) [M-C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 84.1 (100) [C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N]<sup>+</sup>, 70.1 (2) [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N]<sup>+</sup>.

### 4.1.3. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(2-pipecolin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{3}**)



The procedure was the same as that stated above for **55{1}**, but was carried out by using 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexametildisilazane (HMDS) (2.86 mL, 20.60 mmol), trimethylchlorosilane (12 drops), DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol), 1-(3-aminopropyl)-2-pipecoline (**2{3}**) (3.77 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (silica, 75:25:2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>3</sub>) to afford 3.46 g (7.35 mmol, 71%) of *N,N'*-bis(3-(2-pipecolin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{3}**) as a off-white solid, mp 119-120 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.24 (s, 4H, C1-H), 7.09 (br s, 2H, N-H), 3.50 (s, 4H, C3-H), 3.37 (m, 2H, C5-H), 3.21 (m, 2H, C5-H), 2.83 (m, 2H, C8-H), 2.75 (m, 2H, C7-H), 2.24 (m, 4H, C7-H, C12-H), 2.03 (m, 2H, C8-H), 1.61 (m, 10H, C6-H, C9-H, C10-H, C11-H), 1.42 (m, 2H, C9-H), 1.26 (m, 2H, C10-H, C11-H), 1.00 (d, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 6H, C13-H).

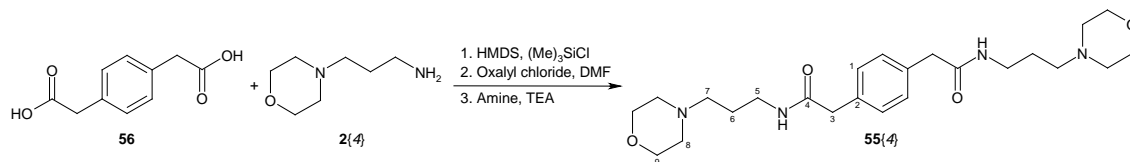
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 170.5 (C4), 134.1 (C2), 129.7 (C1), 56.3 (C12), 52.6 (C7), 51.7 (C8), 43.6 (C3), 39.7 (C5), 34.5 (C11), 26.0 (C9), 24.9 (C6), 23.5 (C10), 18.6 (C13).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3292 (*t* N-H), 3074 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2926, 2858, 2787, 2729 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1648 (*t* C=O), 1546 (*δ* NH).

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 470.4 (6) [M]<sup>+</sup>, 455.4 (20) [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 358.3 (8) [M-C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N]<sup>+</sup>, 112.1 (100) [C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** *m/z* calculated for C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 470.3621, [M]<sup>+</sup>; Found: 470.3615.

#### 4.1.4. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(morpholin-4-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{4}**)



The procedure was the same as that stated above for **55{1}**, but was carried out by using 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexametildisilazane (HMDS) (2.86 mL, 20.60 mmol), trimethylchlorosilane (12 drops), DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol), 3-morpholinopropylamine (**2{4}**) (3.01 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (silica, 75:25:2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>3</sub>) to afford 3.65 g (8.18 mmol, 79%) of *N,N'*-bis(3-(morpholin-4-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{4}**) as a yellow solid, mp 172-173 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 7.24 (s, 4H, C1-H), 6.59 (br s, 2H, N-H), 3.62 (t, <sup>3</sup>J = 4.4 Hz, 8H, C9-H), 3.51 (s, 4H, C3-H), 3.31 (q, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 4H, C5-H), 2.38 (m, 12H, C7-H, C8-H), 1.64 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 4H, C6-H).

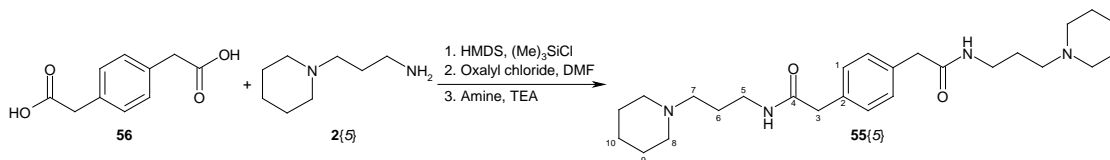
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 170.5 (C4), 134.1 (C2), 129.7 (C1), 66.9 (C9), 57.3 (C7), 53.6 (C8), 43.5 (C3), 39.1 (C5), 25.1 (C6).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3295 (*t* N-H), 3080 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2930, 2867, 2804, 2757 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1643 (*t* C=O), 1547 ( $\delta$  NH), 1117 (*t as* C-O-C), 864 (*t sim* C-O-C).

**Anal.:** calculated for C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: C: 64.55 %, H: 8.58 %, N: 12.55 %, O: 14.33 %; Found: C: 64.48 %, H: 8.39 %, N: 12.66 %.

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 446.3 (15) [M]<sup>+</sup>, 416.3 (12) [M-CH<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 346.1 (4) [M-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>NO]<sup>+</sup>, 171.1 (10) [M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 100.1 (100) [C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>NO]<sup>+</sup>.

#### 4.1.5. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(piperidin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{5}**)



The procedure was the same as that stated above for **55{1}**, but was carried out by using 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexametildisilazane (HMDS) (2.86 mL, 20.60 mmol), trimethylchlorosilane (12 drops), DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol), 1-(3-aminopropyl)piperidine (**2{5}**) (3.38 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (silica, 75:25:2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>3</sub>) to afford 3.45g (7.79 mmol, 76%) of *N,N'*-bis(3-(piperidin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{5}**) as a white solid, mp 151-153 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.24 (s, 4H, C1-H), 7.17 (br s, 2H, N-H), 3.49 (s, 4H, C3-H), 3.30 (q, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 4H, C5-H), 2.36 (m, 12H, C7-H, C8-H), 1.64 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, 4H, C6-H), 1.54 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 8H, C9-H), 1.43 (m, 4H, C10-H).

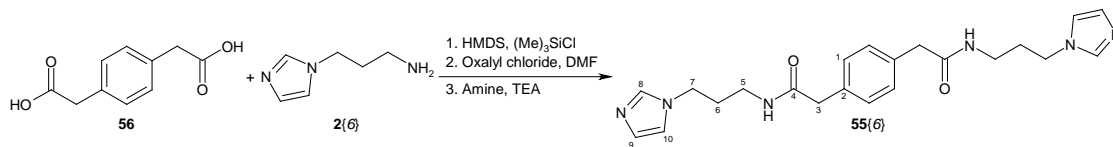
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 170.7 (C4), 134.1 (C2), 129.6 (C1), 57.8 (C7), 54.5 (C8), 43.5 (C3), 39.5 (C5), 25.9 (C9), 24.9 (C6), 24.2 (C10).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3289 (*t* N-H), 3089 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2930, 2850, 2809, 2771 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1640 (*t* C=O), 1559 (*δ* NH).

**Anal.:** calculated for C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: C: 70.55%, H: 9.56%, N: 12.66%, O: 7.23%; Found: C: 70.40%, H: 9.42%, N: 12.50%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 442.3 (9) [M]<sup>+</sup>, 344.2 (18) [M-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>, 274.1 (12) [M-C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 98.1 (100) [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>, 84.0 (5) [C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N]<sup>+</sup>.

#### 4.1.6. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(imidazol-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{6}**)



The procedure was the same as that stated above for **55{1}**, but was carried out by using 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexametildisilazane (HMDS) (2.86 mL, 20.60 mmol), trimethylchlorosilane (12 drops), DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol), 1-(3-aminopropyl)imidazole (**2{6}**) (2.51 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (silica, 80:20:1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>3</sub>) to afford 1.75 g (4.29 mmol, 42%) of *N,N'*-bis(3-(imidazol-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{6}**) as a yellow crystalline solid, mp 132-133 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):** δ (ppm): 7.60 (s, 2H, C8-H), 7.26 (s, 4H, C1-H), 7.08 (s, 2H, C10-H), 6.95 (s, 2H, C9-H), 3.98 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 4H, C7-H), 3.47 (s, 4H, C3-H), 3.15 (t, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, 4H, C5-H), 1.94 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 4H, C6-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):** δ (ppm): 174.2 (C4), 138.4 (C8), 135.7 (C2), 130.4 (C1), 129.0 (C9), 120.6 (C10), 45.5 (C7), 43.5 (C3), 37.6 (C5), 31.9 (C6).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3292 (*t* N-H), 3104 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2930 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1639 (*t* C=O), 1560 (*δ* NH), 1511 (skeletal vibration).

**MS (FAB):** m/z (%) = 409.1 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 341.0 (3) [M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** m/z calculated for C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>: 409.2352, [M+H]<sup>+</sup>; Found: 409.2356.

#### 4.1.7. Synthesis of *N,N'*-bis(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{7}**)



The procedure was the same as that stated above for **55{1}**, but was carried out by using 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexametilidisilazane (HMDS) (2.86 mL, 20.60 mmol), trimethylchlorosilane (12 drops), DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol), 1-(2-aminoethyl)piperidine (**2{7}**) (2.99 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol). Upon removal of the solvent, 4.27 g (10.3 mmol, quantitative) of *N,N'*-bis(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{7}**) were obtained without further purification as a pale orange solid, mp 174-176 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 7.26 (s, 4H, C1-H), 6.16 (br s, 2H, N-H), 3.55 (s, 4H, C3-H), 3.27 (q, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 4H, C5-H), 2.34 (t, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 4H, C6-H), 2.27 (m, 8H, C7-H), 1.42 (m, 12H, C8-H, C9-H).

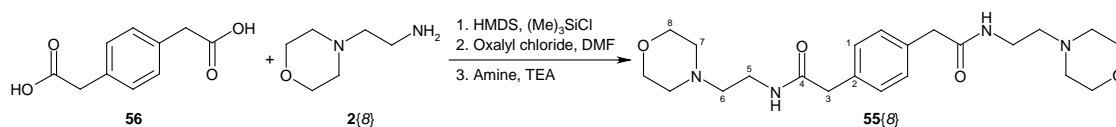
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 170.7 (C4), 134.1 (C2), 129.8 (C1), 56.7 (C6), 54.0 (C7), 43.3 (C3), 36.1 (C5), 25.9 (C8), 24.3 (C9).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3298 (*t* N-H), 3091 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2924, 2849, 2779, 2751 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1642 (*t* C=O), 1556 ( $\delta$  NH).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 414.3 (4) [M]<sup>+</sup>, 98.1 (100) [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** m/z calculated for C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 414.2995, [M]<sup>+</sup>; Found: 414.2987.

#### 4.1.8. Synthesis of *N,N'*-bis(2-(morpholin-4-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{8}**)



The procedure was the same as that stated above for **55{1}**, but was carried out by using 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexametildisilazane (HMDs) (2.86 mL, 20.60 mmol), trimethylchlorosilane (12 drops), DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol), 2-morpholinoethylamine (**2{8}**) (2.73 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol). Upon removal of the solvent, 4.33 g (10.3 mmol, quantitative) of *N,N'*-bis(2-(morpholin-4-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{8}**) were obtained without further purification as a white solid, mp 173-175 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.27 (s, 4H, C1-H), 6.02 (br s, 2H, N-H), 3.58 (t, <sup>3</sup>J = 4.6 Hz, 8H, C8-H), 3.56 (s, 4H, C3-H), 3.31 (q, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, 4H, C5-H), 2.42 (t, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 4H, C6-H), 2.36 (m, 8H, C7-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 170.6 (C4), 134.1 (C2), 129.8 (C1), 66.8 (C8), 56.5 (C6), 53.1 (C7), 43.3 (C3), 35.7 (C5).

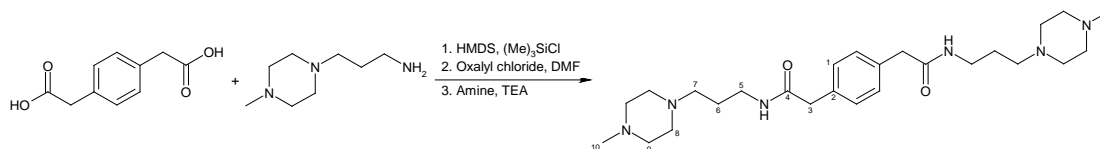
**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3287 (*t* N-H), 3061 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2967, 2932, 2864, 2787 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1645 (*t* C=O), 1540 (*δ* NH), 1117 (*t as* C-O-C), 868 (*t sim* C-O-C).

**Anal.:** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: C: 63.13%, H: 8.19%, N: 13.39%, O: 15.29%; Found: C: 63.30%, H: 8.17%, N: 13.23%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 418.3 (5) [M]<sup>+</sup>, 100.1 (100) [C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>NO]<sup>+</sup>.



#### 4.1.9. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{9}**)



The procedure was the same as that stated above for **55{1}**, but was carried out by using 1,4-benzenediacetic acid (**56**) (2.0 g, 10.30 mmol), hexametildisilazane (HMDS) (2.86 mL, 20.60 mmol), trimethylchlorosilane (12 drops), DMF (4 drops), oxalyl chloride (1.86 mL, 21.86 mmol), 1-(3-aminopropyl)-4-methylpiperazine (**2{9}**) (3.58 mL, 20.60 mmol) and triethylamine (TEA) (3.20 mL, 22.96 mmol). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (silica, 75:25:2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>3</sub>) to afford 2.63 g (5.56 mmol, 54%) of *N,N'*-bis(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)-benzene (**55{9}**) as a yellow solid, mp 161-163 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):** δ (ppm): 7.25 (s, 4H, C1-H), 3.47 (s, 4H, C3-H), 3.55 (s, 4H, C3-H), 3.22 (t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 4H, C5-H), 2.81 (s, 8H, C9-H), 2.63 (s, 8H, C8-H), 2.52 (s, 6H, C10-H), 2.45 (m, 4H, C7-H), 1.70 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 4H, C6-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):** δ (ppm): 174.1 (C4), 135.8 (C2), 130.3 (C1), 56.2 (C7), 55.0 (C9), 52.5 (C8), 44.9 (C10), 43.5 (C3), 38.4 (C5), 27.1 (C6).

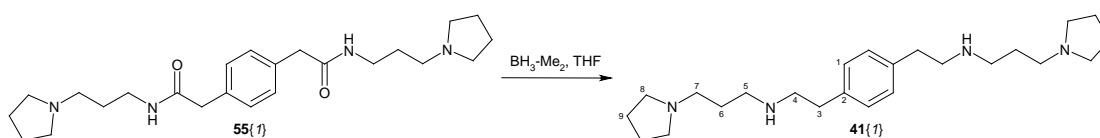
**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3240 (t N-H), 3066 (t Csp<sup>2</sup>-H), 2943, 2876, 2830, 2811 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1644 (t C=O), 1576 (δ NH).

**MS (FAB):** m/z (%) = 473.1 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 373.0 (4) [M-C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** m/z calculated for C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>: 473.3604, [M+H]<sup>+</sup>; Found: 473.3604.

## 4.2. Synthesis of amines

### 4.2.1. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(pyrrolidin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{1})



Borane dimethylsulfide complex (1.19 mL, 11.89 mmol) was added at 0 °C to a solution of *N,N'*-bis(3-(pyrrolidin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55**{1}) (414.58 mg, 1.0 mmol) in anhydrous THF (27 mL). The solution was refluxed for 6h under N<sub>2</sub>, cooled down to room temperature, diluted with 7.5 mL 1.25 M HCl/MeOH solution and refluxed for 1 h. The solvent was removed *in vacuo* and the crude material was diluted with 1M NaOH solution (pH 14). The aqueous solution was extracted twice with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dried under MgSO<sub>4</sub> and concentrated. Purification of the residue by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) afforded 296 mg (0.77 mmol, 77%) of *N,N'*-bis(3-(pyrrolidin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{1}) as a white solid, mp 60-62 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.13 (s, 4H, C1-H), 2.87 (m, 4H, C4-H), 2.77 (m, 4H, C3-H), 2.68 (t, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 4H, C5-H), 2.46 (m, 12H, C7-H, C8-H), 1.91 (br s, 2H, N-H), 1.75 (m, 8H, C9-H), 1.69 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 4H, C6-H).

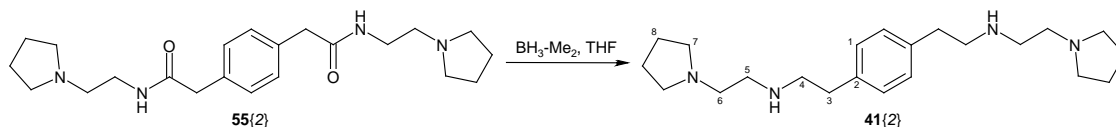
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 137.9 (C2), 128.9 (C1), 54.9 (C7), 54.4 (C8), 51.3 (C4), 48.6 (C5), 36.0 (C3), 29.4 (C6), 23.5 (C9).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3263 (*t* N-H), 2948, 2801 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1697 (*δ* NH), 1458 (*f* Csp<sup>3</sup>-H), 887 (*δ* NH).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 386.4 (2) [M]<sup>+</sup>, 302.2 (4) [M-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N]<sup>+</sup>, 274.2 (8) [M-C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N]<sup>+</sup>, 141.1 (47) [C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 112.1 (9) [C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N]<sup>+</sup>, 98.1 (11) [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>, 84.1 (100) [C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N]<sup>+</sup>, 70.1 (8) [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** m/z calculated for C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>: 386.3409, [M]<sup>+</sup>; Found: 386.3405.

#### 4.2.2. Synthesis of *N,N'*-bis(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoethyl)benzene (**41**{2})



The procedure was the same as that stated above for **41**{1}, but was carried out by using borane dimethylsulfide complex (0.58 mL, 6.15 mmol), *N,N'*-bis(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55**{2}) (466.2 mg, 1.21 mmol), anhydrous THF (4 mL), 1.25 M HCl/MeOH (9 mL). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) to afford 267.0 mg (74.5 mmol, 75%) of *N,N'*-bis(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoethyl)benzene (**41**{2}) as a yellow oil.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.13 (s, 4H, C1-H), 2.88 (m, 4H, C4-H), 2.78 (m, 8H, C3-H, C5-H), 2.59 (t, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, 4H, C6-H), 2.49 (m, 8H, C7-H), 2.17 (br s, 2H, N-H), 1.75 (m, 8H, C8-H).

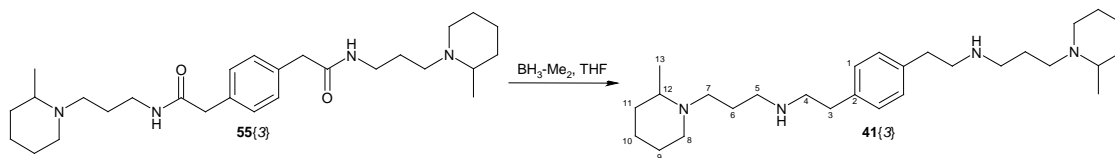
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 137.4 (C2), 128.7 (C1), 55.9 (C6), 54.2 (C7), 51.4 (C4), 48.4 (C5), 35.9 (C3), 23.4 (C8).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3305 (t N-H), 2929, 2875, 2796 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1673 (δ NH), 1458 (f Csp<sup>3</sup>-H).

**MS (FAB):** m/z (%) = 359.3 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 358.3 (14) [M]<sup>+</sup>, 288.3 (4) [M-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N]<sup>+</sup>, 274.3 (12) [M-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N]<sup>+</sup>, 231.1 (37) [M-C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 127.1 (15) [C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** m/z calculated for C<sub>22</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>: 359.3175, [M]<sup>+</sup>; Found: 359.3159.

### 4.2.3. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(2-pipecolin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoethyl)benzene (**41**{3})



The procedure was the same as that stated above for **41**{1}, but was carried out by using borane dimethylsulfide complex (1.19 mL, 11.89 mmol), *N,N'*-bis(3-(2-pipecolin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55**{3}) (470.7 mg, 1.0 mmol), anhydrous THF (27 mL), 1.25M HCl/MeOH (7.5 mL). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) to afford 237.0 mg (0.53 mmol, 53%) of *N,N'*-bis(3-(2-pipecolin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoethyl)benzene (**41**{3}) as an orange oil.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.13 (s, 4H, C1-H), 2.84 (m, 6H, C4-H, C8-H), 2.77 (m, 4H, C3-H), 2.68 (m, 2H, C7-H), 2.62 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 4H, C5-H), 2.32 (m, 2H, C7-H), 2.23 (m, 2H, C12-H), 2.09 (m, 2H, C8-H), 1.92 (br s, 2H, N-H), 1.63 (m, 6H, C6-H, C10-H), 1.57 (m, 4H, C9-H, C11-H), 1.48 (m, 2H, C9-H), 1.26 (m, 4H, C10-H, C11-H), 1.02 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 6H, C13-H).

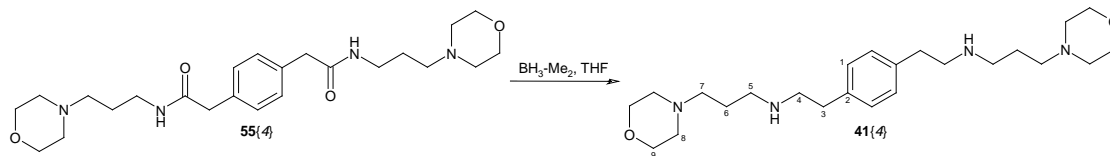
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 138.0 (C2), 129.0 (C1), 56.1 (C12), 52.4 (C7), 52.3 (C8), 51.4 (C4), 49.0 (C5), 36.2 (C3), 34.8 (C11), 26.3 (C9), 26.0 (C6), 24.2 (C10), 19.3 (C13).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3280 (*t* N-H), 2930, 2854, 2794 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1655 (*δ* NH), 1449, 1372 (*f* Csp<sup>3</sup>-H).

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 442.4 (3) [M]<sup>+</sup>, 330.3 (9) [M-C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N]<sup>+</sup>, 302.3 (18) [M-C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>N]<sup>+</sup>, 169.2 (97) [C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 140.1 (7) [C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>N]<sup>+</sup>, 126.1 (13) [C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N]<sup>+</sup>, 112.1 (100) [C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N]<sup>+</sup>, 98.1 (28) [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** *m/z* calculated for C<sub>28</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>: 442.4035, [M]<sup>+</sup>; Found: 442.4027.

#### 4.2.4. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(morpholin-4-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{4})



The procedure was the same as that stated above for **41**{1}, but was carried out by using borane dimethylsulfide complex (0.48 mL, 5.1 mmol), *N,N'*-bis(3-(morpholin-4-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55**{4}) (446.6 mg, 1.0 mmol), anhydrous THF (4 mL), 1.25 M HCl/MeOH (7.5 mL). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) to afford 339.1 mg (0.81 mmol, 81%) of *N,N'*-bis(3-(morpholin-4-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{4}) as a yellow oil.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.15 (s, 4H, C1-H), 3.65 (t, <sup>3</sup>J = 4.6 Hz, 8H, C9-H), 2.89 (m, 4H, C4-H), 2.79 (m, 4H, C3-H), 2.70 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 4H, C5-H), 2.38 (m, 12H, C7-H, C8-H), 2.00 (br s, 2H, N-H), 1.68 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 4H, C6-H).

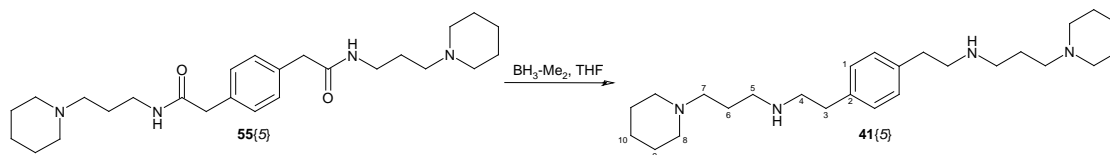
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 137.6 (C2), 128.8 (C1), 66.8 (C9), 57.3 (C7), 53.7 (C8), 51.0 (C4), 48.4 (C5), 35.6 (C3), 26.3 (C6).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3292 (t N-H), 2928, 2852, 2807 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1673 (δ NH), 1457 (f Csp<sup>3</sup>-H), 1118 (t as C-O-C), 863 (t sim C-O-C).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 418.3 (6) [M]<sup>+</sup>, 388.3 (5) [M-CH<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 157.1 (21) [C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 128.1 (7) [C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>NO]<sup>+</sup>, 114.1 (10) [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NO]<sup>+</sup>, 100.1 (100) [C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>NO]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** m/z calculated for C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 418.3308, [M]<sup>+</sup>; Found: 418.3311.

#### 4.2.5. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(piperidin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{5})



The procedure was the same as that stated above for **41**{1}, but was carried out by using borane dimethylsulfide complex (1.19 mL, 11.89 mmol), *N,N'*-bis(3-(piperidin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55**{5}) (442.6 mg, 1.0 mmol), anhydrous THF (27 mL) 1.25 M HCl/MeOH (7.5 mL). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) to afford 252.5 mg (0.61 mmol, 61%) of *N,N'*-bis(3-(piperidin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{5}) as a yellow oil.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.13 (s, 4H, C1-H), 2.86 (m, 4H, C4-H), 2.77 (m, 4H, C3-H), 2.65 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 4H, C7-H) 2.31 (m, 12H, C5-H, C8-H), 2.20 (br s, 2H, N-H), 1.67 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 4H, C6-H), 1.54 (m, 8H, C9-H), 1.42 (m, 4H, C10-H).

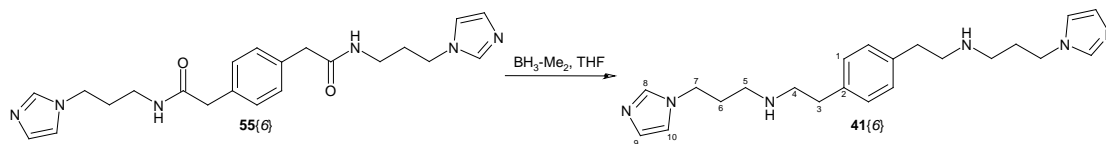
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 137.9 (C2), 129.0 (C1), 57.9 (C5), 54.8 (C8), 51.3 (C4), 48.8 (C7), 36.0 (C3), 27.1 (C6), 26.1 (C9), 24.6 (C10).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3283 (t N-H), 2933, 2852, 2801 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1676 (δ NH), 1443 (f Csp<sup>3</sup>-H).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 414.4 (1) [M]<sup>+</sup>, 316.3 (3) [M-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>, 288.2 (4) [M-C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N]<sup>+</sup>, 155.2 (60) [C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 126.1 (6) [C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N]<sup>+</sup>, 112.1 (9) [C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N]<sup>+</sup>, 98.1 (100) [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>, 84.1 (5) [C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** m/z calculated for C<sub>26</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>: 414.3722, [M]<sup>+</sup>; Found: 414.3710.

#### 4.2.6. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(imidazol-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41{6}**)



The procedure was the same as that stated above for **41{1}**, but was carried out by using borane dimethylsulfide complex (1.19 mL, 11.89 mmol), *N,N'*-bis(3-(imidazol-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{6}**) (408.5 mg, 1.0 mmol), anhydrous THF (27 mL), 1.25 M HCl/MeOH (7.5 mL). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) to afford 340.5 mg (0.89 mmol, 89%) of *N,N'*-bis(3-(imidazol-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41{6}**) as a yellow oil.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.40 (s, 2H, C8-H), 7.13 (s, 4H, C1-H), 7.03 (t, <sup>3</sup>J = 1.1 Hz, 2H, C10-H), 6.86 (t, <sup>3</sup>J = 1.3 Hz, 2H, C9-H), 3.98 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 4H, C7-H), 2.83 (m, 4H, C4-H), 2.75 (m, 4H, C3-H), 2.57 (t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 4H, C5-H), 1.89 (m, 4H, C6-H, N-H).

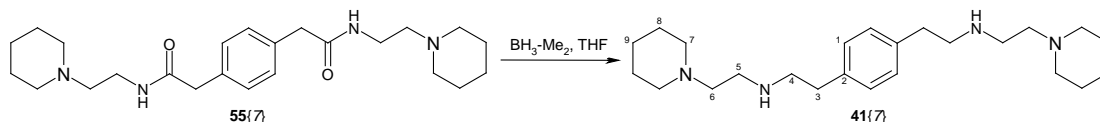
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 138.0 (C2), 137.4 (C8), 129.5 (C10), 129.0 (C1), 119.0 (C9), 51.1 (C4), 46.3 (C5), 44.8 (C7), 36.1 (C3), 31.4 (C6).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3283 (t N-H), 3106 (t Csp<sup>2</sup>-H), 2932, 2822 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1666 (δ NH), 1509 (skeletal vibration), 1443 (f Csp<sup>3</sup>-H).

**MS (FAB):** m/z (%) = 381.3 (43) [M+H]<sup>+</sup>, 380.3 (3) [M]<sup>+</sup>, 341.0 (3) [M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 137.0 (100) [C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** m/z calculated for C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>N<sub>6</sub>: 381.2767, [M+H]<sup>+</sup>; Found: 381.2771.

#### 4.2.7. Synthesis of *N,N'*-bis(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{7})



The procedure was the same as that stated above for **41**{1}, but was carried out by using borane dimethylsulfide complex (1.19 mL, 11.89 mmol), *N,N'*-bis(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55**{7}) (414.6 mg, mmol), anhydrous THF (27 mL), 1.25 M HCl/MeOH (7.5 mL). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) to afford 320.4 mg (82.8 mmol, 83%) of *N,N'*-bis(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{7}) as a yellow oil.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.14 (s, 4H, C1-H), 2.87 (m, 4H, C4-H), 2.78 (m, 4H, C3-H), 2.72 (t, 4H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, C5-H), 2.42 (t, 4H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, C6-H), 2.34 (m, 8H, C7-H), 1.91 (br s, 2H, N-H), 1.51 (m, 8H, C8-H), 1.40 (m, 4H, C9-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 137.8 (C2), 128.7 (C1), 58.5 (C6), 54.7 (C7), 51.4 (C4), 46.6 (C5), 35.9 (C3), 26.0 (C8), 24.4 (C9).

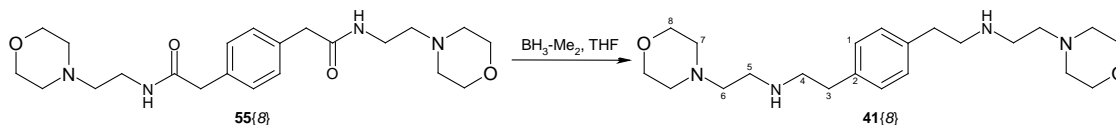
**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3300 (t N-H), 2933, 2851, 2801 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1678 (δ NH), 1442 (f Csp<sup>3</sup>-H).

**MS (FAB):** m/z (%) = 387.4 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 386.3 (11) [M]<sup>+</sup>, 288.3 (11) [M-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>, 141.1 (9) [C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 112.1 (89) [C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** m/z calculated for C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 387.3488, [M+H]<sup>+</sup>; Found: 387.3496.



#### 4.2.8. Synthesis of *N,N'*-bis(2-(morpholin-4-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{8})



The procedure was the same as that stated above for **41**{1}, but was carried out by using borane dimethylsulfide complex (0.48 mL, 5.1 mmol), *N,N'*-bis(2-(morpholin-4-yl)ethyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55**{8}) (418.5 mg, 1.0 mmol), anhydrous THF (4 mL) 1.25 M HCl/MeOH (7.5 mL). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) to afford 375.2 mg (0.96 mmol, 96 %) of *N,N'*-bis(2-(morpholin-4-yl)ethyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41**{8}) as a yellow oil.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.14 (s, 4H, C1-H), 3.63 (t, <sup>3</sup>J = 4.6 Hz, 8H, C8-H), 2.88 (m, 4H, C4-H), 2.79 (m, 4H, C3-H), 2.72 (t, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 4H, C5-H), 2.47 (t, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 4H, C6-H), 2.39 (m, 8H, C7-H), 1.78 (br s, 2H, N-H).

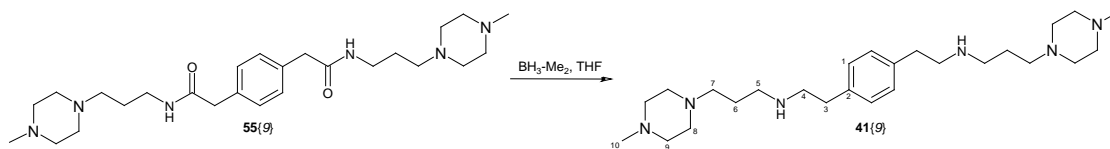
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 137.8 (C2), 128.7 (C1), 66.9 (C8), 58.1 (C6), 53.6 (C7), 51.2 (C4), 45.9 (C5), 35.9 (C3).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3305 (*t* N-H), 2932, 2852, 2810 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1672 (*δ* NH), 1455 (*f* Csp<sup>3</sup>-H), 1117 (*t as* C-O-C), 867 (*t sim* C-O-C).

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 390.3 (4) [M]<sup>+</sup>, 360.3 (2) [M-CH<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 304.2 (3) [M-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>NO]<sup>+</sup>, 290.2 (27) [M-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>NO]<sup>+</sup>, 143.1 (14) [C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 114.1 (23) [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NO]<sup>+</sup>, 100.1 (100) [C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>NO]<sup>+</sup>.

**HRMS (EI):** *m/z* calculated for C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 390.2995, [M]<sup>+</sup>; Found: 390.2992.

#### 4.2.9. Synthesis of *N,N'*-bis(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41{9}**)



The procedure was the same as that stated above for **41{1}**, but was carried out by using borane dimethylsulfide complex (1.19 mL, 11.89 mmol), *N,N'*-bis(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1,4-di(aminocarbonylmethyl)benzene (**55{9}**) (472.6 mg, 1.0 mmol), anhydrous THF (27 mL) 1.25 M HCl/MeOH (7.5 mL). Upon removal of the solvent, the residue was separated by flash chromatography (basic alumina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 100:0 to 90:10 in 18 min) to afford 379.8 mg (0.85 mmol, 85%) *N,N'*-bis(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1,4-bis(2-aminoeth-1-yl)benzene (**41{9}**) as a yellow crystalline solid, mp 56-58 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.13 (s, 4H, C1-H), 2.86 (m, 4H, C4-H), 2.76 (m, 4H, C3-H), 2.65 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 4H, C5-H), 2.43 (m, 18H, C8-H, C9-H, N-H), 2.36 (t, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 8H, C7-H), 2.27 (s, 6H, C10-H), 1.66 (quintuplet, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 4H, C6-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 137.9 (C2), 128.9 (C1), 56.9 (C7), 55.1 (C9), 53.3 (C8), 51.2 (C4), 48.5 (C5), 46.1 (C10), 36.0 (C3), 27.0 (C6).

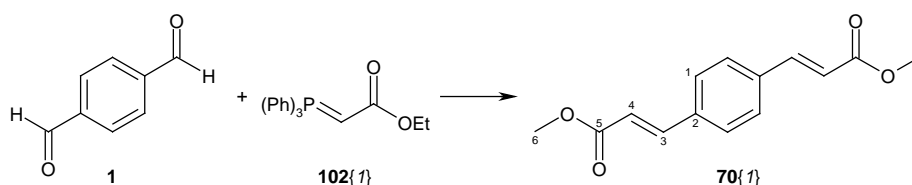
**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3286 (t N-H), 2934, 2876, 2794 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1671 (δ NH), 1458 (f Csp<sup>3</sup>-H).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 444.4 (19) [M]<sup>+</sup>, 429.4 (3) [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 414.4 (3) [M-C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 401.4 (11) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>N]<sup>+</sup>, 170.2 (16) [C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 141.1 (11) [C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 127.1 (19) [C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 113.1 (100) [C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 99.1 (13) [C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** m/z calculated for C<sub>26</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>: 444.3940, [M]<sup>+</sup>; Found: 444.3943.

### 4.3. Synthesis of bispiridones, bisglutarimides, bispirido[2,3-*d*]pyrimidines and precursors

#### 4.3.1. Synthesis of dimethyl 3,3'-(1,4-phenylene)bis(2-propenoate) (**70**{1})



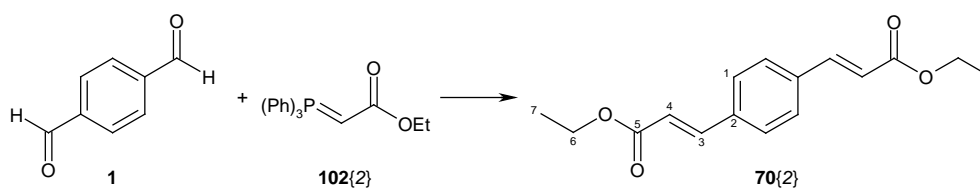
1.35 g (10.0 mmol) of terephthalaldehyde (**1**) and 7.57 g (22.2 mmol) of methyl (triphenylphosphoranylidene)acetate (**102**{1}) were dissolved in toluene (35 mL) and heated under reflux for 2 h. The reaction mixture was concentrated under vacuum and the residue obtained was purified by dry-flash silica chromatography using hexane/AcOEt as eluent to give 2.36 g (9.6 mmol, 96%) dimethyl 3,3'-(1,4-phenylene)bis(2-propenoate) (**70**{1}) as a white solid.

#### Spectroscopic data of E isomer

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm): 7.68 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 2H, C3-H), 7.54 (s, 4H, C1-H), 6.47 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 2H, C4-H), 3.82 (s, 6H, C6-H).

Spectroscopy data was identical with those reported in the literature.<sup>[1]</sup>

### 4.3.2. Synthesis of diethyl 3,3'-(1,4-phenylene)bis(2-propenoate) (**70{2}**)

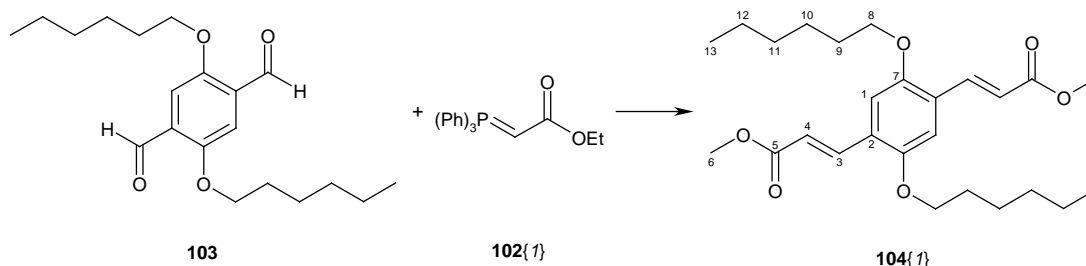


The procedure was the same as that stated above for (**70{1}**), but carried out by using 268 mg (2 mmol) of terephthalaldehyde (**1**) and 1.63 g (4.4 mmol) ethyl (triphenylphosphoranylidene)acetate (**102{2}**) in 7 mL of toluene. The residue obtained was purified by dry-flash silica chromatography using hexane/AcOEt as eluent to give 519 mg (1.89 mmol, 95%) diethyl 3,3'-(1,4-phenylene)bis(2-propenoate) **70{2}** as a white solid.

#### Spectroscopic data of E isomer

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm): 7.67 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 2H, C3-H), 7.54 (s, 4H, C1-H), 6.47 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 2H, C4-H), 4.27 (q,  $^3J = 7.2$  Hz, 4H, C6-H), 1.34 (t,  $^3J = 7.2$  Hz, 6H, C7-H).

### 4.3.3. Synthesis of 1,4-bis(2-methyloxycarbonyl-1-ethenyl)-2,5-bis(hexyloxy)benzene (**104**{1})



The procedure was the same as that stated above for (**70**{1}), but carried out by using 341 mg (1 mmol) of 2,5-bis(hexyloxy)terephthalaldehyde (**103**) and 751 mg (2.2 mmol) methyl (triphenylphosphoranylidene)acetate (**102**{1}) in 3.5 mL of toluene. The residue obtained was purified by dry-flash silica chromatography using hexane/AcOEt as eluent to give 446 mg (1.0 mmol, quantitative) of 1,4-bis(2-methyloxycarbonyl-1-ethenyl)2,5-bis(hexyloxy)benzene (**104**{1}) as a yellow fluorescent solid.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 7.94 (d,  $^3J = 16.2$  Hz, 2H, C3-H), 7.01 (s, 2H, C1-H), 6.56 (d,  $^3J = 16.2$  Hz, 2H, C4-H), 4.00 (t,  $^3J = 6.6$  Hz, 4H, C8-H), 3.81 (s, 6H, C6-H), 1.84 (quintuplet,  $^3J = 6.4$  Hz, 4H, C9-H), 1.49 (m, 4H, C10-H), 1.36 (m, 8H, C11-H, C12-H), 0.92 (m, 3H, C13-H).

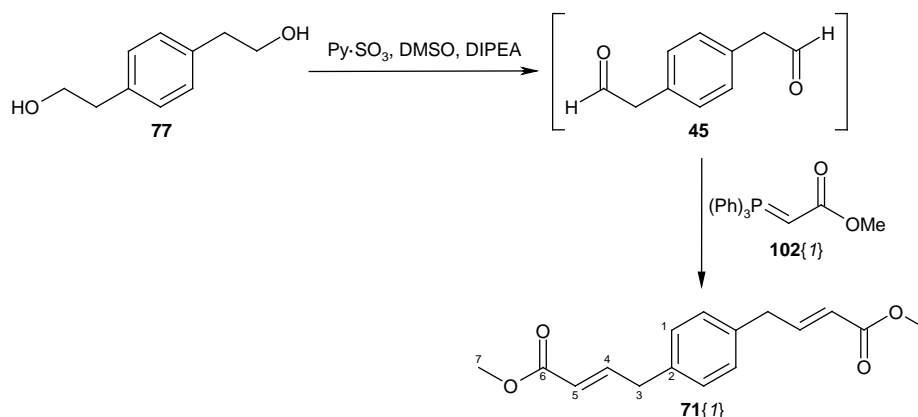
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 167.8 (C5), 152.1 (C7), 139.7 (C3), 126.2 (C2), 119.5 (C4), 112.5 (C1), 69.4 (C8), 51.8 (C6), 31.7 (C11), 29.3 (C9), 25.9 (C10), 22.7 (C12), 14.1 (C13).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2927, 2856 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1696 (*t* C=O), 1428 (*f* Csp<sup>3</sup>-H), 1266 (*t* as C-O-C), 1042 (*t sim* C-O-C).

**Anal.:** calculated for C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub>: C: 69.93%, H: 8.58%, O: 21.50%; Found: C: 69.91%, H: 8.76%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 446.4 (46) [M]<sup>+</sup>, 214.1 (100) [M - 2 hexyloxy - 2Me]<sup>+</sup>.

#### 4.3.4. Synthesis of dimethyl 4,4'-(1,4-phenylene)bis(2-butenoate) (**71**{1})



DMSO (0.85 mL, 12 mmol) and DIPEA (0.85 mL, 6 mmol) were added to a stirred solution of 1,4-phenylenediethanol (**77**) (169.4 mg, 1 mmol) in dichloromethane (10 mL) at -10 °C. The reaction mixture was stirred at -10 °C for 15 min and then sulphur trioxide pyridine complex (955.0 mg, 6 mmol) was added and the resulting mixture was stirred for 2 h. The reaction mixture was quenched with 10 mL of water. The organic layer was separated, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The mixture was dissolved in toluene and 757 mg (2.2 mmol) of methyl (triphenylphosphoranylidene)acetate (**102**{1}) were added and heated under reflux for 2 h. Then, the reaction mixture was concentrated under vacuum and the residue obtained was purified by silica gel chromatography using hexane/AcOEt as eluent to give 155.2 mg (0.57 mmol, 57%) dimethyl 4,4'-(1,4-phenylene)bis(2-butenoate) (**71**{1}) as a white solid.

##### Spectroscopic data:

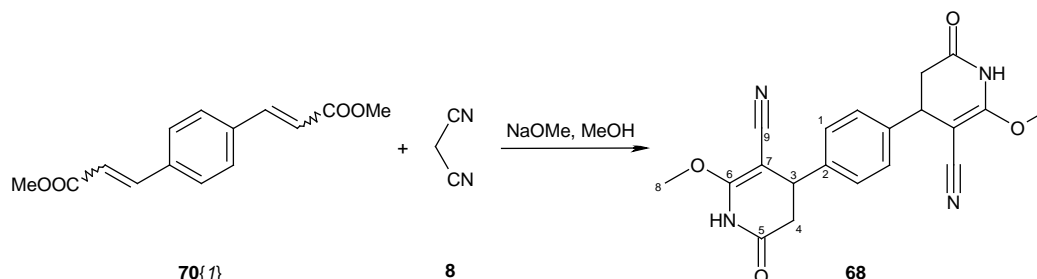
**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.31 (s, 4H, C1-H), 6.46 (dt, <sup>3</sup>J = 15.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 2H, C5-H), 6.29 (dt, <sup>3</sup>J = 15.8 Hz, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 2H, C4-H), 3.72 (s, 6H, C7-H), 3.25 (dd, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 4H, C3-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 171.9 (C6), 136.1 (C2), 133.1 (C5), 126.5 (C1), 121.5 (C4), 51.9 (C7), 38.2 (C3).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 2954, 2847 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1731 (*t* C=O), 1437 (*f* Csp<sup>3</sup>-H), 1162 (*t as* C-O-C), 974 (*t sim* C-O-C).

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 274.2 (52) [M]<sup>+</sup>, 215.1 (16) [M-CO<sub>2</sub>Me]<sup>+</sup>, 155.1 (100) [M-2CO<sub>2</sub>Me]

#### 4.3.5. Synthesis of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)-benzene (**68**)



To a solution of 278 mg (5 mmol) of NaOMe in 3.2 mL of anhydrous methanol, 290.7 mg (4.4 mmol) of malononitrile (**8**) were added and the mixture left cool down. 548.6 mg (2 mmol) of 1,4-bis(methyl propenoate-3-yl)benzene (**70{1}**) were added slowly and the mixture refluxed for 5 h. The solvent was evaporated *in vacuo* and the residue dissolved in the minimum quantity of water. Careful neutralization to pH 7 with 2M aqueous HCl allowed the precipitation of a solid which was filtered, washed with cold water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. 661.7 mg (1.75 mmol, 88%) of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)benzene (**68**) were obtained as a white solid, mp 221-222 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 10.74 (br s, 2H, N-H), 7.23 (s, 4H, C1-H), 3.97 (s, 6H, C8-H), 3.89 (dd, <sup>3</sup>*J* = 5.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 2H, C3-H), 2.95 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 16.0 Hz, 2H, C4-H), 2.56 (dd, <sup>3</sup>*J* = 5.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 16.0 Hz, 2H, C4-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 169.7 (C5), 160.60, 160.59 (C6), 140.15, 140.15 (C2), 127.3 (C1), 118.4 (C9), 67.79, 67.77 (C7), 58.9 (C8), 38.19, 38.17 (C4), 36.3 (C3).

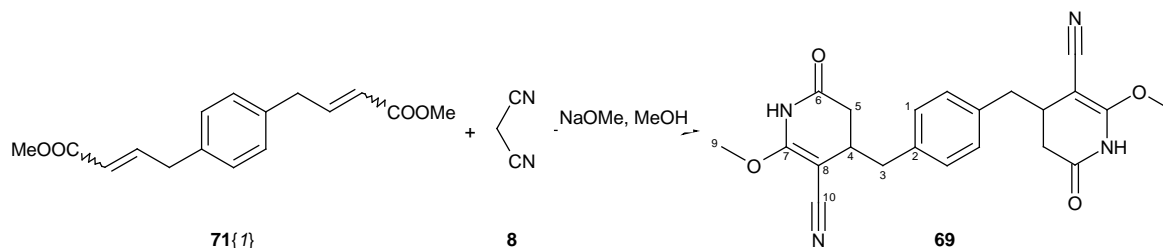
**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3214, 3116 (*t* N-H), 2923 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 2203 (*t* C≡N), 1701 (*t* C=O), 1639 ( $\delta$  NH), 1487 ( $\delta$  *ip* NH), 1294 (*t as* C-O-C).

**Anal.:** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: C: 63.48%, H: 4.79%, N: 14.81%, O: 16.91%; Found: C: 63.44%, H: 4.71%, N: 14.80%.

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 378.1 (100) [M]<sup>+</sup>, 227.0 (15) [M-C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 151.0 (10) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: 378.132805, [M]<sup>+</sup>, Found: 378.133076.

### 4.3.6. Synthesis of 1,4-bis((5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)methyl)benzene (**69**)



The procedure was the same as that stated above for (**68**), but carried out by using 278 mg (5 mmol) of NaOMe in 3.2 mL of anhydrous methanol, 290.7 mg (4.4 mmol) of malononitrile (**8**) and 548.6 mg (2 mmol) of 1,4-bis(methyl but-2-enoate-4-yl)benzene (**71**{1}). After neutralization, the residue was dissolved with MeOH and was kept in a refrigerator overnight. The product was collected by filtration and washed with cold MeOH to give 149 mg (0.37 mmol, 18%) of 1,4-bis((5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)methyl)benzene (**69**) as a white solid, mp 234-236 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 10.52 (br s, 2H, N-H), 7.11 (s, 4H, C1-H), 3.88 (s, 6H, C9-H), 2.78 (m, 4H, C3-H, C4-H), 2.49 (m, 2H, C3-H, C5-H), 2.21 (dd, <sup>3</sup>*J* = 4.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 16.5 Hz, 2H, C5-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 170.0 (C6), 160.1 (C7), 136.0 (C2), 129.2 (C1), 118.2 (C10), 68.2 (C8), 58.8 (C9), 38.5 (C3), 34.9 (C5), 33.0 (C4).

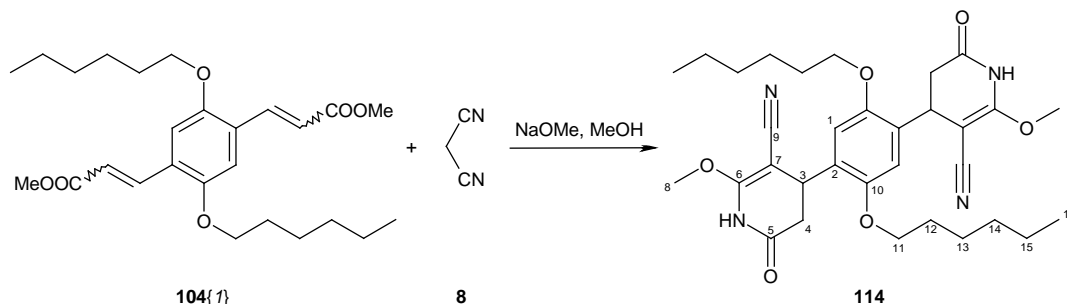
**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3212, 3128 (*t* N-H), 2917 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 2204 (*t* C≡N), 1694 (*t* C=O), 1646 ( $\delta$  NH), 1486 ( $\delta$  *ip* NH), 1369 (*t* C-N), 1280, 1248 (*t as* C-O-C), 1017 (*t sim* C-O-C),.

**Anal.:** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: C: 65.01%, H: 5.46%, N: 13.78%, O: 15.75%; Found: C: 64.83%, H: 5.33%, N: 13.66%.

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 406.1 (1) [M]<sup>+</sup>, 165.1 (7) [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 151.1 (100) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 104.1 (6) [C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>]<sup>+</sup>, 91.0 (4) [C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>]<sup>+</sup>.



### 4.3.7. Synthesis of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)-2,5-di(hexyloxy)benzene (114)



The procedure was the same as that stated above for **(68)**, but carried out by using 139 mg (2.5 mmol) of NaOMe in 1.6 mL of anhydrous methanol, 145.3 mg (2.2 mmol) of malononitrile (**8**) and 446.6 mg (1.0 mmol) of 1,4-bis(methyl propenoate-3-yl)-2,5-di(hexyloxy)-benzene (**104{1}**). 561.2 mg (0.97 mmol, 97%) of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)-2,5-di(hexyloxy)benzene (**114**) were obtained as a white solid, mp 185-187 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 10.70 (br s, 2H, N-H), 6.74, 6.73 (s, 2H, C1-H), 4.04 (m, 2H, C3-H), 3.94 (s, 6H, C8-H), 3.91 (m, 4H, C11-H), 2.87 (m, 2H, C4-H), 2.55 (m, 2H, C4-H), 1.71 (m, 4H, C12-H), 1.40 (m, 4H, C13-H), 1.31 (m, 8H, C14-H, C15-H), 0.88 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, C16-H).

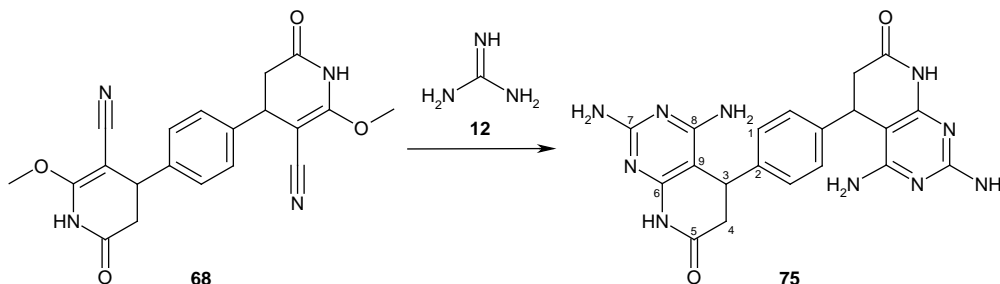
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 169.94, 169.92 (C5), 160.70, 160.68 (C6), 149.59, 149.57 (C10), 128.23, 128.20 (C2), 118.14, 118.12 (C9), 112.0 (C1), 68.30, 68.24 (C11), 67.60, 67.50 (C7), 58.9 (C8), 36.49, 36.48 (C4), 32.07, 31.93 (C3), 30.97 (C14), 28.52 (C12), 25.25 (C13), 22.08 (C15), 13.89 (C16).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3431, 3229 (*t* N-H), 2931, 2860 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 2205 (*t* C≡N), 1703 (*t* C=O), 1644 ( $\delta$  NH), 1478 ( $\delta$  *ip* NH), 1203 (*t as* C-O-C), 1022 (*t sim* C-O-C).

**Anal.:** calculated for C<sub>32</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>: C: 66.41%, H: 7.32%, N: 9.68%, O: 16.59%; Found: C: 66.41%, H: 7.45%, N: 9.78%.

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 578.4 (8) [M]<sup>+</sup>, 227.0 (15) [M-C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 151.0 (25) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 85.1 (13) [C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>]<sup>+</sup>, 71.1 (14) [C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>, 57.1 (30) [C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>, 43.1 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup>.

#### 4.3.8. Synthesis of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)benzene (**75**)



To a solution of 2.005 g (36 mmol) of NaOMe in 24 mL of anhydrous methanol, 3.309 g (18 mmol) of guanidine carbonate were added and the mixture warmed with microwaves to 65 °C for 15 min. The mixture was cooled with an ice bath, was filtered and 1.1352 g (3 mmol) of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)benzene (**68**) were added to the filtrate. The solution was refluxed for 20 h and then cooled to room temperature. The precipitated solid was filtered, washed with cold methanol and diethyl ether. 1.21 g (2.8 mmol, 94%) of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)benzene (**75**) were obtained as a white solid, mp > 290 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, TFA-*d*):** δ (ppm): 7.25 (s, 4H, C1-H), 4.43 (dd, <sup>3</sup>*J* = 1.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, 2H, C3-H), 3.32 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 17.0 Hz, 2H, C4-H), 3.05 (d, <sup>3</sup>*J* = 1.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 17.0 Hz, 2H, C4-H).

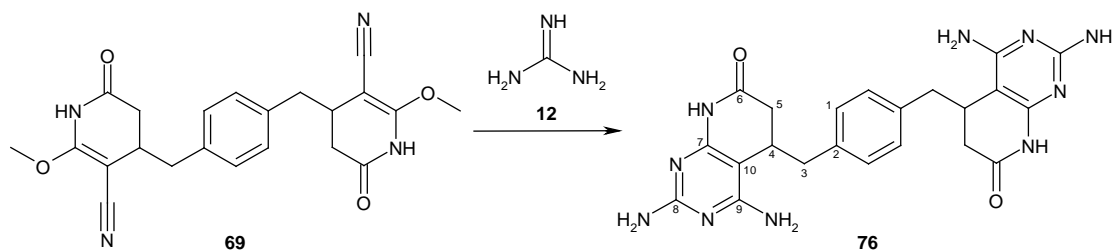
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, TFA-*d*):** δ (ppm): 175.9 (C5), 157.6 (C7), 157.3 (C8), 155.3 (C6), 140.6 (C2), 130.0 (C1), 90.4 (C9), 39.9 (C4), 35.40, 35.36 (C3).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3348, 3216 (*t* N-H), 1686 (*t* C=O), 1624, 1567 (*δ* NH), 1456 (*δ ip* NH).

**MS (FAB):** *m/z* (%) = 432.9 (7) [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>10</sub>O<sub>2</sub>: 433.1849, [M+H]<sup>+</sup>, Found: 433.1852.

#### 4.3.9. Synthesis of 1,4-bis((2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)methyl)benzene (**76**)



The procedure was the same as that stated above for (**75**), but carried out by using 334.2 mg (6.0 mmol) of NaOMe in 4 mL of anhydrous methanol, 551.5 mg (3.0 mmol) of guanidine carbonate and 203.2 mg (0.5 mmol) of 1,4-bis((5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)methyl)benzene (**69**). 246.3 mg (0.5 mmol, quantitative) of 1,4-bis((2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)methyl)benzene (**76**) were obtained as a white solid, mp > 290 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, TFA-*d*):**  $\delta$  (ppm): 7.07 (s, 4H, C1-H), 3.47 (m, 2H, C4-H), 2.89 (m, 8H, C3-H, C5-H).

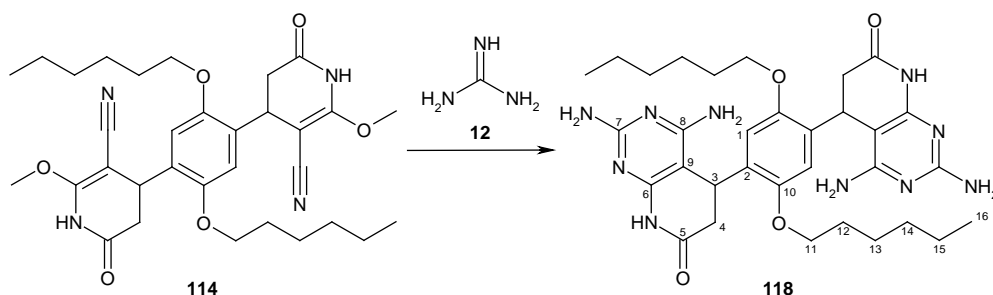
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, TFA-*d*):**  $\delta$  (ppm): 176.4 (C6), 157.4 (C9)\*\*, 156.0 (C8)\*\*, 154.7 (C7)\*\*, 138.0 (C2), 132.2 (C1), 91.5 (C10), 39.9 (C3), 36.3 (C5), 32.0 (C4).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3389, 3215 (*t* N-H), 1678 (*t* C=O), 1624, 1568 ( $\delta$  NH), 1454 ( $\delta$  *ip* NH), 1379 (*t* C-N).

**MS (FAB):**  $m/z$  (%) = 460.9 (1) [M]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>10</sub>O<sub>2</sub>: 461.2162, [M+H]<sup>+</sup>, Found: 461.2174.

#### 4.3.10. Synthesis of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)-2,5-di(hexyloxy)benzene (118)



The procedure was the same as that stated above for **75**, but carried out by using 334.2 mg (6.0 mmol) of NaOMe in 4 mL of anhydrous methanol, 551.5 mg (3.0 mmol) of guanidine carbonate and 289.84 mg (0.5 mmol) of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)-2,5-di(hexyloxy)benzene (**114**). 189.4 mg (0.30 mmol, 60%) of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)-2,5-di(hexyloxy)benzene (**118**) were obtained as a white solid, mp > 290 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, TFA-d):**  $\delta$  (ppm): 6.86, 6.85 (s, 2H, C1-H), 4.65 (ddd,  $J= 1.5$  Hz,  $J= 9.3$  Hz,  $J= 13.6$  Hz, 2H, C3-H), 4.11 (m, 2H, C11-H), 3.92 (m, 2H, C11-H) 3.35 (ddd,  $J= 5.1$  Hz,  $J= 9.4$  Hz,  $J= 17.8$  Hz, 2H, C4-H), 3.04 (dd,  $J= 1.4$  Hz,  $J= 17.9$  Hz, 2H, C4-H), 1.80 (m, 4H, C12-H), 1.41 (m, 4H, C13-H), 1.32 (m, 8H, C14-H, C15-H), 0.87 (m, 6H, C16-H).

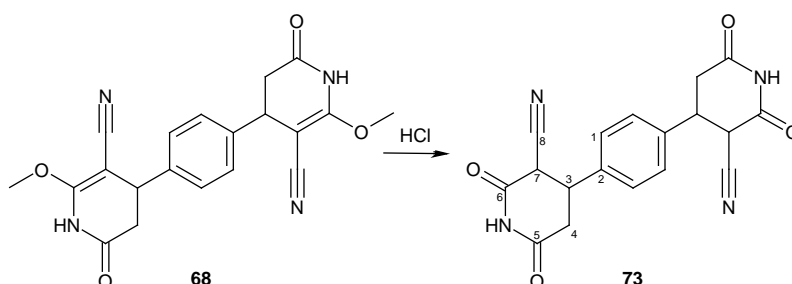
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, TFA-d):**  $\delta$  (ppm): 173.7, 173.6 (C5), 155.27, 155.25 (C8)\*\*, 153.3, 153.1 (C7)\*\*, 152.15, 152.11 (C6)\*\*, 149.7, 149.5 (C10), 129.6, 129.0 (C2), 112.0, 111.9 (C1), 88.5, 88.2 (C9), 70.7, 70.3 (C11), 35.1, 35.0 (C4), 31.0, 30.9 (C14), 28.5, 28.4 (C12), 27.8, 27.1 (C3), 25.2, 25.1 (C13), 21.79 (C15), 12.02 (C16).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3446, 3335, 3209 (*t* N-H), 2932, 2868 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1686 (*t* C=O), 1623, 1566 ( $\delta$  NH), 1455 ( $\delta$  *ip* NH), 1371 (*t* C-N), 1212 (*t as* C-O-C), 1019 (*t sim* C-O-C).

**MS (FAB):**  $m/z$  (%) = 634.1 (21) [M+H<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 633.1 (51) [M+H]<sup>+</sup>, 632.1 (9) [M]<sup>+</sup>, 178.1 (78) [C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>5</sub>O]

**HRMS (FAB):** calculated for C<sub>32</sub>H<sub>45</sub>N<sub>10</sub>O<sub>4</sub>: 633.3625, [M+H]<sup>+</sup>, Found: 633.3629.

### 4.3.11. Synthesis of 1,4-bis(2-cyanoglutarimide-3-yl)benzene (73)



To a solution of 1.5M aqueous HCl (2.35 mL) 100.0 mg (0.26 mmol) of 1,4-bis(5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)benzene (**68**) were added and the mixture was stirred for 6 h at room temperature. The solid was filtered, washed with cold water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. 65.1 mg (0.19 mmol, 70%) of 1,4-bis(2-cyanoglutarimide-3-yl)benzene (**73**) were obtained as a white solid, mp > 290 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 11.47 (br s, 2H, N-H), 7.43 (s, 4H, C1-H), 4.86 (d, <sup>3</sup>*J* = 13.0 Hz, 2H, C7-H), 3.86 (td, <sup>3</sup>*J* = 4.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 13.0 Hz, 2H, C3-H), 2.91 (m, 2H, C4-H), 2.67 (dd, <sup>3</sup>*J* = 4.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 17.0 Hz, 2H, C4-H).

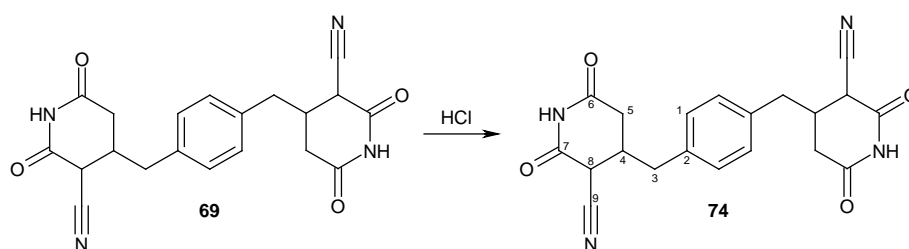
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 171.0 (C6), 166.4 (C5), 138.8 (C2), 127.9 (C1), 116.1 (C8), 41.49, 41.45 (C7), 38.27 (C3, C4).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3201, 3098 (*t* N-H), 2879 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 2255 (*t* C≡N), 1738, 1697 (*t* C=O).

**MS (ESI-TOF):** *m/z* (%) = 350.1 (23) [M]<sup>+</sup>, 349.1 (100) [M-H]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI-TOF):** calculated for C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: 349.0931, [M-H]<sup>+</sup>, Found: 349.0941.

## 4.3.12. Synthesis of 1,4-bis((2-cyanoglutarimide-3-yl)methyl)benzene (74)



To a solution of 1.5M aqueous HCl (2.35 mL) 100.0 mg (0.26 mmol) of 1,4-bis((5-cyano-3,4-dihydro-6-methoxy-2-pyridon-4-yl)methyl)benzene (**69**) were added and the mixture was stirred for 6 h at room temperature. The solid was filtered, washed with cold water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. 65.1 mg (0.19 mmol, 70%) of 1,4-bis((2-cyanoglutarimide-3-yl)methyl)benzene (**74**) were obtained as a white solid.

**Spectroscopic data:**

**$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm): 11.28 (br s, 2H, N-H), 7.43 (s, 4H, C1-H), 4.28 (d,  $^3J = 12.1$  Hz, 2H, C8-H), 3.01 (m, 2H, C3-H), 2.85 (m, 2H, C4-H), 2.58 (m, 2H, C4-H), 2.30 (m, 4H, C5-H).

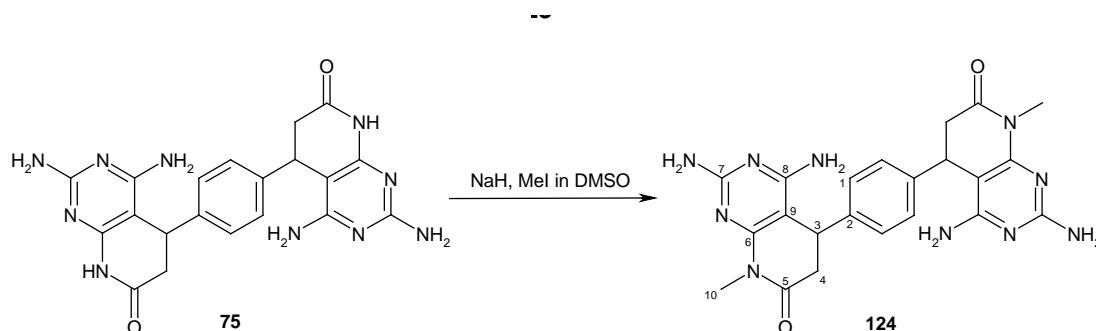
**$^{13}\text{C-RMN}$  (100.6 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm): 171.7 (C7), 167.0 (C6), 135.7 (C2), 129.9 (C1), 116.7 (C9), 41.7 (C8), 38.5 (C3), 35.8 (C5), 34.4 (C4).

**IR (KBr):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3201, 3086 (*t* N-H), 2932, 2877 (*t* Csp $^3$ -H), 2254 (*t* C $\equiv$ N), 1744, 1689 (*t* C=O).

**MS (ESI-TOF):**  $m/z$  (%) = 401.1 (1)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**HRMS (ESI-TOF):** calculated for  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{NaO}_4$ : 401.1220,  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , Found: 401.1215.

### 4.3.13. Synthesis of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydro-8-methylpyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)benzene (**124**)



To a solution of 302.7 g (0.7 mmol) of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydro-8H-pyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)benzene (**75**) in 20 mL of anhydrous DMSO, 56 mg (1.4 mmol) of sodium hydride, 60% dispersion in mineral oil were added and the mixture stirred for 1 h at room temperature under nitrogen atmosphere. After a period, 0.088 mL (1.4 mmol) of methyl iodide were added dropwise and then stirred overnight at room temperature. The reaction was quenched by addition of 20 mL of water and the solid formed was filtered, washed with water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. 110.6 mg (0.24 mmol, 34%) of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydro-8-methylpyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)benzene (**124**) were obtained as a white solid, mp > 290 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ (ppm): 6.96 (s, 4H, C1-H), 6.05 (br s, 4H, N-H<sub>2</sub>), 5.93 (br s, 4H, N-H<sub>2</sub>), 4.07 (dd, <sup>3</sup>*J* = 2.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, 2H, C3-H), 3.16 (s, 6H, C10-H), 2.98 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 15.5 Hz, 2H, C4-H), 2.64 (dd, <sup>3</sup>*J* = 2.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 15.5 Hz, 2H, C4-H).

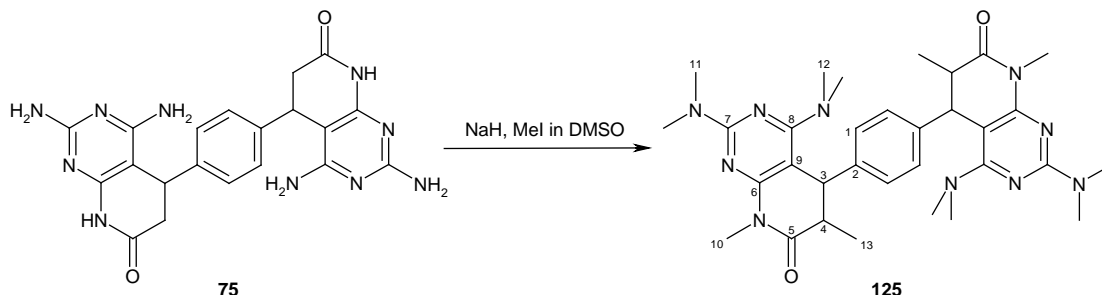
**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ (ppm): 169.3 (C5), 161.83 (C6)\*, 161.78 (C8)\*, 157.5 (C7), 140.6 (C2), 126.9 (C1), 88.2 (C9), 39.2 (C4), 32.0 (C3), 27.0 (C10).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3465, 3415, 3348, 3211 (*t* N-H), 1676 (*t* C=O), 1619, 1566 (*δ* NH), 1450 (*δ ip* NH).

**MS (FAB):** *m/z* (%) = 460.9 (19) [M+H]<sup>+</sup>, 459.9 (2) [M]<sup>+</sup>, 192.0 (15) [C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 177.0 (6) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>10</sub>O<sub>2</sub>: 461.2162, [M+H]<sup>+</sup>, Found: 461.2158.

#### 4.3.14. Synthesis of 1,4-bis(2,4-bis(dimethylamino)-5,6-dihydro-6,8-dimethylpyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)benzene (125)



To a solution of 302.7 g (0.7 mmol) of 1,4-bis(2,4-diamino-5,6-dihydro-6,8-dimethylpyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)benzene (**75**) in 50 mL of anhydrous DMSO, 560 mg (14.0 mmol) of sodium hydride, 60% dispersion in mineral oil were added and the mixture stirred for 1 h at room temperature under nitrogen atmosphere. After a period, 0.88 mL (14.0 mmol) of methyl iodide were added dropwise and then stirred overnight at room temperature. The reaction was quenched by addition of 20 mL of water and the solid formed was filtered, washed with water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. Purification by silica-gel chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH; 100:0 to 60:40 in 25 min) afforded 320.1 mg of 1,4-bis(2,4-bis(dimethylamino)-5,6-dihydro-6,8-dimethylpyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-on-5-yl)benzene (**125**) (0.53 mmol, 76%) as a white solid, mp 262-264 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 6.90, 6.91 (s, 4H, C1-H), 3.93 (m, 2H, C3-H), 3.34 (m, 6H, C10-H), 3.16 (m, 12H, C12-H), 2.88 (m, 2H, C4-H), 2.83 (m, 12H, C11-H), 1.21 (dd, <sup>3</sup>J = 2.0 Hz, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 6H, C13-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 173.7, 173.6 (C5), 166.6, 166.4 (C8)\*, 160.1 (C6)\*, 159.3, 159.2 (C7), 141.6, 141.5 (C2), 127.7, 127.6 (C1), 89.9, 89.8 (C9), 45.2, 45.1 (C4), 42.9, 42.8 (C3), 41.4, 41.3 (C3), 36.74, 36.73 (C11), 28.22, 28.21 (C10), 17.62, 17.59 (C13).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 2932, 2870 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1690 (*t* C=O), 1585, 1548 (*t* C=C).

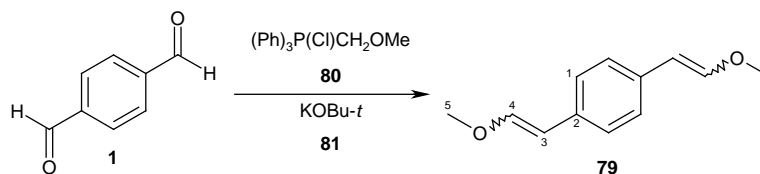
**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 600.4 (12) [M]<sup>+</sup>, 585.4 (15) [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 338.1 (3) [C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 262.3 (23) [M-C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>N<sub>10</sub>O<sub>2</sub>: 600.3649, [M]<sup>+</sup>, Found: 600.3649.



## 4.4. Mixed structures

### 4.4.1. Synthesis of 1,4-di (2-methoxyvinyl)benzene (**79**)

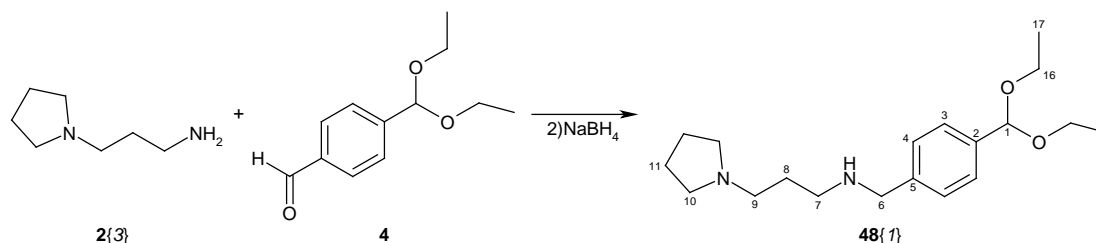


To a stirred solution of 9.38 g (27.0 mmol) of methoxymethyltriphenylphosphonium chloride (**80**) in 15 mL of anhydrous THF, 2.72 g (12.0 mmol) of potassium *t*-butoxide (**81**) were added slowly. The mixture was cooled to 0 °C and stirred for 30 min at room temperature under a nitrogen atmosphere. Then, a solution of terephthalaldehyde (**1**) (820 mg, 6.05 mmol) in anhydrous THF (8 mL) was added dropwise. After stirring for 15 h at room temperature, the reaction was quenched by the addition of 10 mL of saturated NH<sub>4</sub>Cl solution. The product was extracted with diethyl ether. The organic layers were combined, washed with brine, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub>, and the solvent was evaporated *in vacuo*. The residue was separated by flash chromatography (silica, 5:95, AcOEt/Hexanes) to afford 1.08 g (5.67 mmol, 94%) of 1,4-bis(2-methoxyvinyl)benzene (**79**) as a white solid.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.49 (s, C1-H of ZZ isomer), 7.46 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, C1-H of ZE isomer), 7.14 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, C1-H of ZE isomer), 7.13 (s, C1-H of EE isomer), 7.03, 7.02 (d, <sup>3</sup>J = 13.0 Hz, C4-H of EE and EZ isomers), 6.09 (d, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 2H, C4-H of ZZ and EZ isomers), 5.79, 5.78 (d, <sup>3</sup>J = 13.0 Hz, C3-H of EE and EZ isomers), 5.20, 5.18 (2d, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, C3-H of ZZ and EZ isomers), 3.768 (s, C5-H of ZE isomer), 3.764 (s, C5-H of ZZ isomer), 3.67 (s, C5-H of EE and EZ isomers)

#### 4.4.2. Synthesis of *N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(2-pyrrolidin-1-yl)propan-1-amine (**48{1}**)

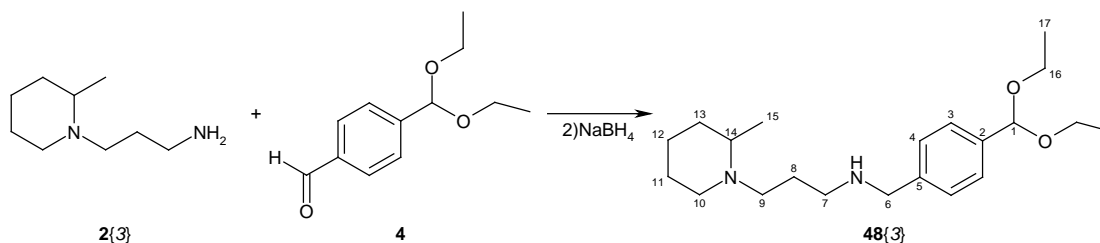


(Diethoxymethyl)benzaldehyde (**4**) (2.01 g, 9.3 mmol), 1-(3-aminopropyl)pyrrolidine (**2{1}**) (1.23 g, 9.3 mmol) and anhydrous sodium sulphate were mixed in anhydrous MeOH (30 mL) and held at room temperature under a N<sub>2</sub> atmosphere for 16 h. Sodium sulphate were filtered and the intermediate imine in MeOH was cooled to 0 °C and treated with solid NaBH<sub>4</sub> (0.36 g, 9.3 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 5 h. Then H<sub>2</sub>O was added, and the product was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic extracts were combined, washed with brine, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub>, and the solvent was removed to give the corresponding *N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(2-pyrrolidin-1-yl)propan-1-amine (**48{1}**) as a yellow oil (2.48 g, 7.8 mmol, 83%).

#### Spectroscopic data:

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 7.42 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C3-H), 7.30 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C4-H), 5.49 (s, 1H, C1-H), 3.78 (s, 2H, C6-H), 3.57 (m, 4H, C16-H), 2.69 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 2H, C7-H), 2.51 (m, 6H, C9-H, C10-H), 1.93 (br s, 1H, N-H), 1.76 (m, 6H, C8-H, C11-H), 1.23 (t, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 3H, C17-H).

#### 4.4.3. Synthesis of *N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(2-pipecolin-1-yl)propan-1-amine (**48**{3})

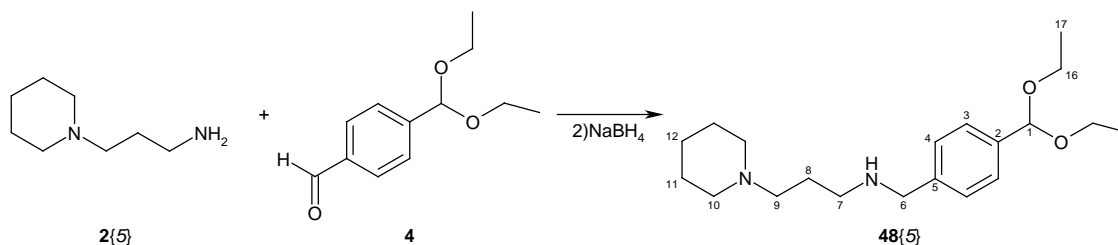


The procedure was the same as that stated above for **48**{1} but by using 4-(diethoxymethyl)benzaldehyde (**4**) (2.01 g, 9.3 mmol), 1-(3-aminopropyl)-2-pipecoline (**2**{3}) (1.52 g, 9.3 mmol) and NaBH<sub>4</sub> (0.36 g, 9.3 mmol). *N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(2-pipecolin-1-yl)propan-1-amine (**48**{3}) was obtained as a yellow oil (3.11 g, 8.9 mmol, 96%)

#### Spectroscopic data:

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 7.42 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C3-H), 7.31 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C4-H), 5.49 (s, 1H, C1-H), 3.78 (s, 2H, C6-H), 3.57 (m, 4H, C16-H), 2.86 (m, 1H, C10-H), 2.73 (m, 1H, C9-H), 2.63 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 2H, C7-H), 2.36 (m, 1H, C9-H), 2.25 (m, 1H, C14-H), 2.11 (m, 1H, C10-H), 1.82 (br s, 1H, N-H), 1.75-1.46 (m, 6H, C8-H, C11-H, C13-H, C12-H), 1.27 (m, 2H, C13-H, C12-H), 1.23 (t, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 3H, C17-H), 1.05 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, C15-H).

#### 4.4.4. Synthesis of *N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(piperidin-1-yl)propan-1-amine (**48{5}**)

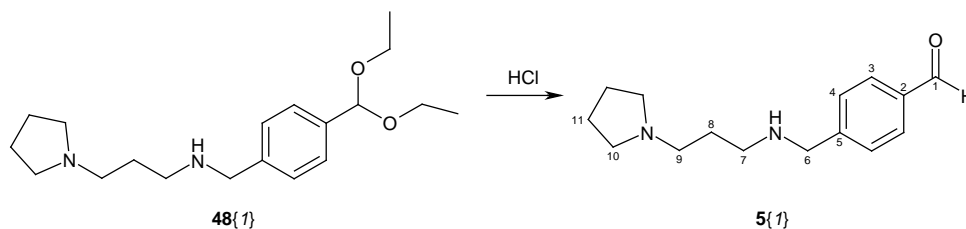


The procedure was the same as that stated above for **48{1}** but by using 4-(diethoxymethyl)benzaldehyde (**4**) (2.01 g, 9.3 mmol), 1-(3-aminopropyl)piperidine (**2{5}**) (1.36 g, 9.3 mmol) and  $\text{NaBH}_4$  (0.36 g, 9.3 mmol). *N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(piperidin-1-yl)propan-1-amine (**48{5}**) was obtained as a yellow oil (2.73 g, 8.2 mmol, 88%).

#### Spectroscopic data:

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm): 7.42 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, C3-H), 7.31 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, C4-H), 5.49 (s, 1H, C1-H), 3.79 (s, 2H, C6-H), 3.57 (m, 4H, C16-H), 2.67 (t, 2H,  $^3J = 6.8$  Hz, C7-H), 2.43-2.30 (m, 6H, C10-H, C9-H), 2.03 (br s, 1H, N-H), 1.71 (quintuplet, 2H,  $^3J = 6.8$  Hz, C8-H), 1.56 (quintuplet, 4H,  $^3J = 6.8$  Hz, C11-H), 1.42 (m, 2H, C12-H), 1.23 (t, 6H,  $^3J = 7.1$  Hz, C17-H)

#### 4.4.5. Synthesis of 4-((3-(pyrrolidin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde (**5{1}**)

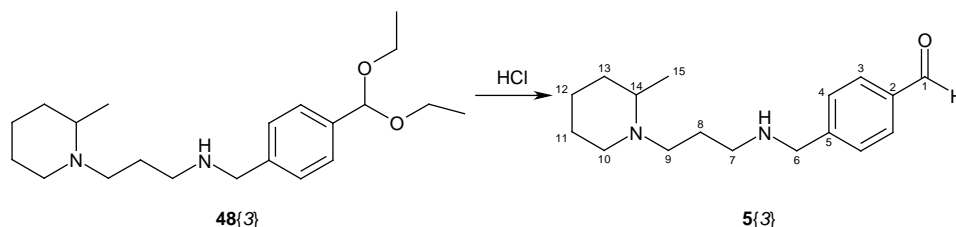


*N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(2-pyrrolidin-1-yl)propan-1-amine (**48{1}**) (2.48 g, 7.8 mmol) was treated with 2M HCl (20 mL) at room temperature for 2 h. The resulting mixture was basified with NaOH and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extracts were combined, washed with brine, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed to give 4-((3-(pyrrolidin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde (**5{1}**) as brownish oil (1.80 g, 7.3 mmol, 78%).

##### Spectroscopic data:

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 10.00 (s, 1H, C1-H), 7.84 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C3-H), 7.50 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C4-H), 3.88 (s, 2H, C6-H), 2.70 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 2H, C7-H), 2.51 (m, 6H, C9-H, C10-H), 1.91 (br s, 1H, N-H), 1.76 (m, 6H, C8-H, C11-H).

#### 4.4.6. Synthesis of 4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde (5{3})

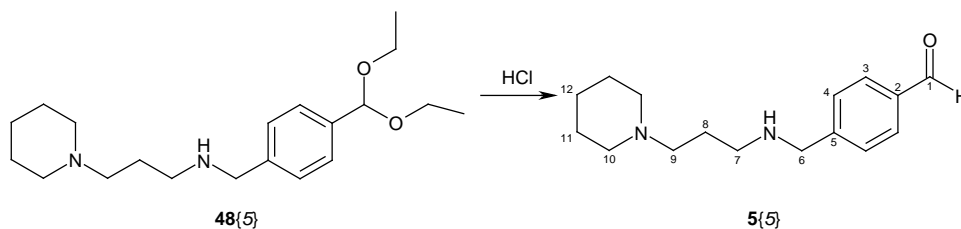


*N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(2-pipecolin-1-yl)propan-1-amine (**48{3}**) (3.11 g, 8.9 mmol) was deprotected as that stated above for **5{1}** to afford 4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde (**5{3}**) (2.28 g, 8.3 mmol, 93%) as a yellow oil.

##### Spectroscopic data:

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 10.00 (s, 1H, C1-H), 7.84 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, C3-H), 7.50 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, C4-H), 3.87 (s, 2H, C6-H), 2.87 (m, 1H, C10-H), 2.76 (m, 1H, C9-H), 2.65 (t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 2H, C7-H), 2.36 (m, 1H, C9-H), 2.27 (m, 1H, C14-H), 2.11 (m, 1H, C10-H), 1.84 (br s, 1H, N-H), 1.75-1.46 (m, 6H, C8-H, C11-H, C13-H, C12-H), 1.28 (m, 2H, C13-H, C12-H), 1.05 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, C15-H).

#### 4.4.7. Synthesis of 4-((3-(piperidin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde (5{5})

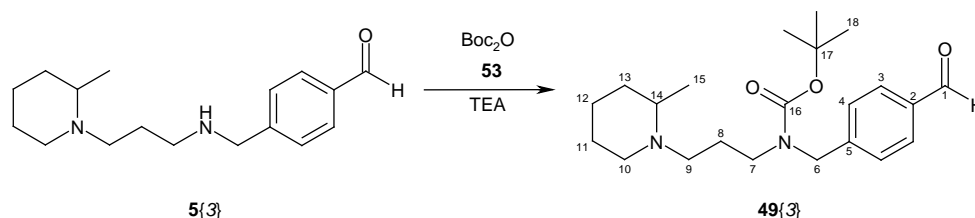


*N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(piperidin-1-yl)propan-1-amine (**48{5}**) (2.48 g, 7.8 mmol) was deprotected as that stated above for **5{1}** to afford 4-((3-(piperidin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde (**5{5}**) (1.80 g, 7.3 mmol, 94%) as a yellow oil.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 10.00 (s, 1H, C1-H), 7.84 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, 2H, C3-H), 7.50 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, 2H, C4-H), 3.87 (s, 2H, C6-H), 2.68 (t, 2H, <sup>3</sup>*J* = 6.8 Hz, C7-H), 2.46-2.30 (m, 6H, C10-H, C9-H), 2.03 (br s, 1H, N-H), 1.72 (quintuplet, 2H, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, C8-H), 1.56 (quintuplet, 4H, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, C11-H), 1.43 (m, 2H, C12-H).

#### 4.4.8. Synthesis of *tert*-butyl-4-formylbenzyl-3-(2-pipecolin-1-yl)propylcarbamate (**49{3}**)



To the solution of 4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)-benzaldehyde (**5{3}**) (1.0g, 3.64 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (7.5 mL), cooled to 0 °C, was added via syringe a solution of  $\text{Boc}_2\text{O}$  (**53**) (983 mg, 4.37 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL), followed by triethylamine (0.61 mL, 4.37 mmol). The reaction mixture was then stirred in room temperature for 24 h and concentrated *in vacuo*. The residue was partitioned between EtOAc and water in a separatory funnel. The organic layer was then washed with water three times and brine twice, dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$ , and filtered, and the solvent was removed *in vacuo*. *tert*-butyl-4-formylbenzyl-3-(2-pipecolin-1-yl)propylcarbamate (**49{3}**) (1.36 g, 3.63 mmol, quantitative) were obtained without further purification as brown viscous oil.

##### Spectroscopic data:

**$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 10.00 (s, 1H, C1-H), 7.84 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, C3-H), 7.39 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, C4-H), 4.52 (s, 2H, C6-H), 3.24 (m, 2H, C7-H), 2.77 (m, 1H, C10-H), 2.64 (m, 1H, C9-H), 2.23 (m, 2H, C9-H, C14-H), 2.06 (m, 1H, C10-H), 1.79-1.33 (m, 6H, C8-H, C11-H, C13-H, C12-H), 1.53 (s, 9H, C18-H) 1.28 (m, 2H, C13-H, C12-H), 1.01 (d,  $^3J = 6.2$  Hz, C15-H).

**$^{13}\text{C}$ -RMN (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 191.7 (C1), 146.86 (C16), 141.8 (C5) 135.61 (C2), 130.13 (C3), 128.1 (C4), 85.3, 80.1 (C17), 56.1 (C14), 52.0 (C10), 51.3 (C9), 50.4 (C6) 45.9 (C7), 34.7 (C13), 28.5, 27.5 (C18), 26.3 (C11), 24.6 (C8), 24.0 (C12), 19.0 (C15).

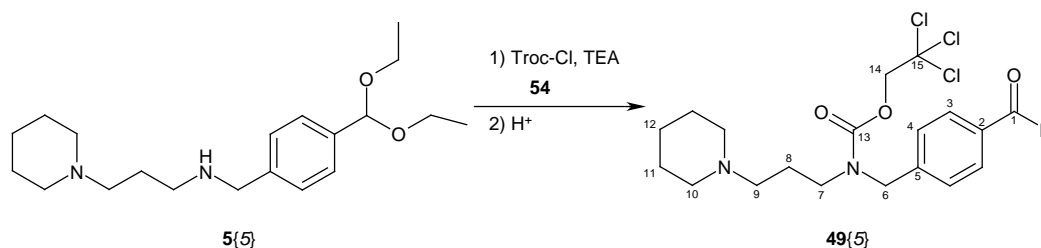
**IR (KBr):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2976, 2932, 2857, 2793 (*t* Csp<sup>3</sup>-H, *t* Csp<sup>2</sup>-H), 1696 (*t* C=O), 1608 (*t* Csp<sup>2</sup>-Csp<sup>2</sup>), 1461, 1412, 1369 (*f* Csp<sup>3</sup>-H), 1212 (*t* as N-CO-O), 1167 (*t* C-N), 846 (*t* *sim* N-CO-O)

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 374.1 (75)  $[\text{M}]^+$ , 359.1 (74)  $[\text{M}-\text{Me}]^+$ , 317.1 (16)  $[\text{M}-t\text{Bu}]^+$ , 273.1 (21)  $[\text{M}-\text{Boc}]^+$ , 112.1 (100)  $[\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}]^+$ .

**HRMS (70 eV, EI):**  $m/z$  calculated for  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ : 374.2569,  $[\text{M}]^+$ ; Found: 374.2564.



#### 4.4.9. Synthesis of 2,2,2-trichloroethyl-4-formylbenzyl-3-(piperidin-1-yl)propylcarbamate (49{5})

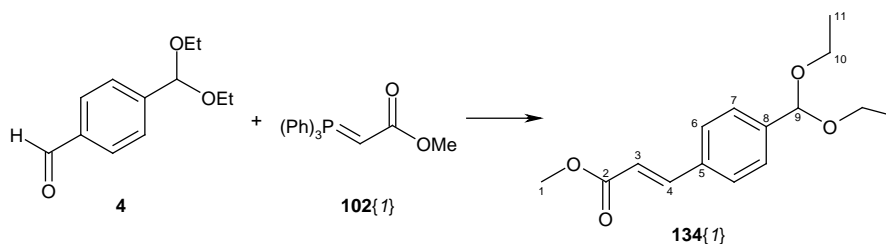


A solution of *N*-(4-(diethoxymethyl)benzyl)-3-(piperidin-1-yl)propan-1-amine (**5{5}**) (468 mg, 1.4 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (7 mL) was cooled to 0 °C, and triethylamine (0.2 mL, 1.5 mmol) was added. To this was added trichloroethyl chloroformate (**54**) (0.2 mL, 0.3 mg, 1.5 mmol). The mixture was stirred at 0 °C for 1.5 h and at room temperature for 2 days and was then washed with  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) and was stirred for 2 h at room temperature with a 0.5 N HCl solution (20 mL). The organic phase was dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$  and concentrated *in vacuo* to give an oil, which was purified by flash chromatography (silica, 9.75:0.25,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ) to furnish 586 mg (1.35 mmol, 96%) of 2,2,2-trichloroethyl-4-formylbenzyl-3-(piperidin-1-yl)propylcarbamate (**49{5}**) as a pale orange solid.

##### Spectroscopic data:

**$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 10.01 (s, 1H, C1-H), 7.87 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, C3-H), 7.48 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, C4-H), 4.84 (s, 1H, C11-H), 4.79 (s, 1H, C14-H), 4.72 (s, 1H, C6-H), 4.67 (s, 1H, C6-H), 3.41 (m, 2H, C7-H), 2.93-2.54 (m, 6H, C10-H, C9-H), 2.10 (m, 2H, C8-H), 1.85 (m, 4H, C11-H), 1.56 (m, 2H, C12-H).

**$^{13}\text{C-RMN}$  (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 191.7 (C1), 154.7, 154.5 (C13), 144.0, 143.9 (C5), 135.8 (C2), 130.1 (C3), 128.4, 128.0 (C4), 95.6, 95.3 (C15), 75.2 (C14), 55.4, 55.2 (C9), 53.9, 53.8 (C10), 50.7, 50.1 (C6), 45.1, 44.7 (C7), 24.2, 23.9, 23.7, 23.2, 22.9 (C12, C11, C8).

**4.4.10. Synthesis of methyl 3-(4-(diethoxymethyl)phenyl)acrylate (134{1})**

3.44 g (16 mmol) of **4** and 5.94 g (17.8 mmol) of methyl (triphenylphosphoranylidene)acetate (**102{1}**) were dissolved in toluene (55 mL) and heated under reflux for 2 h. The reaction mixture was concentrated under vacuum and the residue obtained was purified by dry-flash silica chromatography using hexane/AcOEt as eluent to give 4.21 g (16 mmol, quantitative) of methyl 3-(4-(diethoxymethyl)phenyl)acrylate (**134{1}**) as a colorless oil.

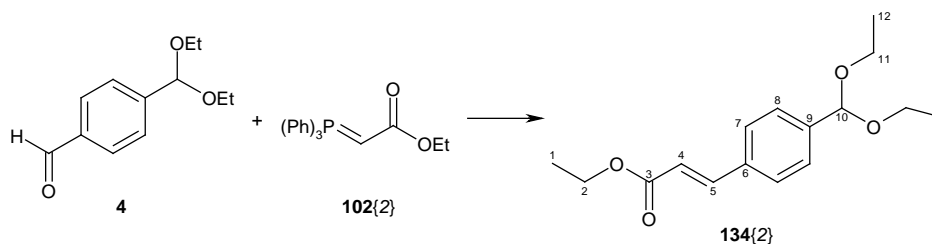
**Spectroscopic data:**

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.70 (d, <sup>3</sup>J = 16.0 Hz, 1H, C4-H), 7.51 (s, 2H, C6-H or C7-H), 7.48 (s, 1H, C6-H or C7-H), 6.45 (d, <sup>3</sup>J = 16.0 Hz, 1H, C3-H), 5.51 (s, 1H, C9-H), 3.81 (s, 3H, C1-H), 3.57 (m, 4H, C10-H), 1.24 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 6H, C11-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 167.5 (C2), 144.6 (C4), 141.5 (C8) 134.5 (C5), 128.1 (C7), 126.5 (C6), 118.1 (C3), 101.1 (C9), 61.2 (C10), 51.8 (C1), 15.3 (C11).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 2975, 2930, 2882 (t Csp<sup>3</sup>-H, t Csp<sup>2</sup>-H), 1721 (t C=O), 1636 (t Csp<sup>2</sup>-Csp<sup>2</sup>).

**Anal.:** calculated for C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>: C: 68.16%, H: 7.63%, O: 24.21%; Found: C: 68.46%, H: 7.50%.

4.4.11. Synthesis of ethyl 3-(4-(diethoxymethyl)phenyl)acrylate (**134**{2})

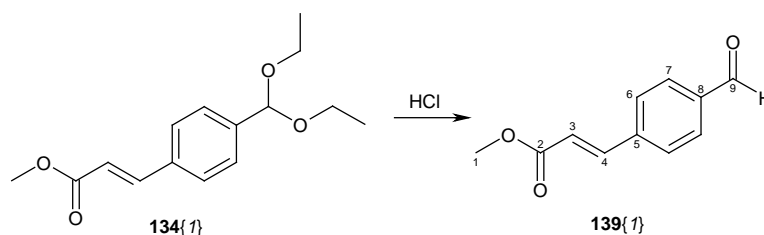
329 mg (1.5 mmol) of **4** and 624 mg (1.7 mmol) of ethyl (triphenylphosphoranylidene)acetate (**102**{2}) were dissolved in toluene (5.5 mL) and heated under reflux for 2 h. The reaction mixture was concentrated under vacuum and the residue obtained was purified by dry-flash silica chromatography using hexane/AcOEt as eluent to give 430 mg (1.5 mmol, quantitative) of ethyl 3-(4-(diethoxymethyl)phenyl)acrylate (**134**{1}) as a colorless oil.

**Spectroscopic data:**

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 7.68 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 1H, C5-H), 7.512 (m, 4H, C7-H, C8-H), 6.44 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 1H, C4-H), 5.51 (s, 1H, C10-H), 4.26 (q,  $^3J = 7.2$  Hz, 2H, C2-H), 3.58 (m, 4H, C11-H), 1.34 (t,  $^3J = 7.2$  Hz, 3H, C1-H). 1.24 (t,  $^3J = 7.2$  Hz, 6H, C12-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 167.1 (C3), 144.3 (C5), 141.4 (C9) 134.5 (C6), 128.0 (C8), 127.3 (C7), 118.6 (C4), 101.1 (C10), 61.2 (C11), 60.6 (C2), 15.3 (C12), 14.4 (C1).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2977, 2931, 2881 (*t* Csp<sup>3</sup>-H, *t* Csp<sup>2</sup>-H), 1714 (*t* C=O), 1637 (*t* Csp<sup>2</sup>-Csp<sup>2</sup>).

4.4.12. Synthesis of methyl 3-(4-formylphenyl)acrylate (**139**{1})

Methyl 3-(4-(diethoxymethyl)phenyl)acrylate (**134**{1}) (2.12 g, 8 mmol) was treated with 2M HCl (20 mL) at room temperature for 2 h and extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extracts were combined, washed with brine, dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$  and the solvent was removed to give 1.47 g of methyl 3-(4-formylphenyl)acrylate (**139**{1}) (8 mmol, quantitative) as a white solid.

**Spectroscopic data:**

**$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 10.03 (s, 1H, C9-H), 7.90 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, C7-H), 7.72 (d,  $^3J = 16.4$  Hz, 1H, C4-H) 7.67 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, C6-H), 6.55 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 1H, C3-H) 3.83 (s, 3H, C1-H).

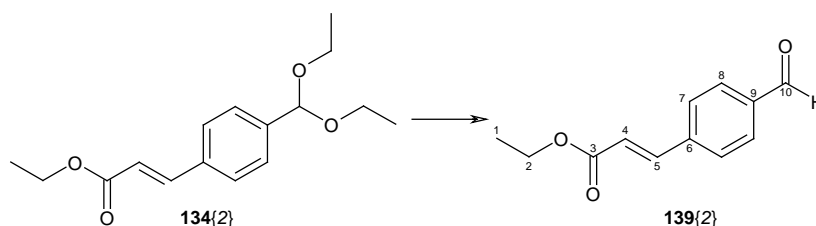
**$^{13}\text{C}$ -RMN (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 191.8 (C9), 166.9 (C2), 143.2 (C4) 140.1 (C5), 137.3 (C8), 130.3 (C7), 128.6 (C6), 121.1 (C3), 52.1 (C1).

**IR (KBr):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3034, 2961, 2864 ( $t\text{Csp}^3\text{-H}$ ,  $t\text{Csp}^2\text{-H}$ ), 1729 ( $t\text{C=O}$ ), 1685 ( $t\text{C=O}$  of CHO), 1639 ( $t\text{Csp}^2\text{-Csp}^2$ ).

**Anal.:** calculated for  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_3$ : C: 69.46%, H: 5.30%, O: 25.24%; Found: C: 69.38%, H: 5.24%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 190.1 (100)  $[\text{M}]^+$ , 175.1 (14)  $[\text{M-Me}]^+$ , 131.1 (48)  $[\text{M-CO}_2\text{Me}]^+$ .

#### 4.4.13. Synthesis of ethyl 3-(4-formylphenyl)acrylate (**139**{2})



Ethyl 3-(4-(diethoxymethyl)phenyl)acrylate (**134**{2}) (278 mg, 1 mmol) was treated with 2M HCl (20 mL) at room temperature for 2 h and extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extracts were combined, washed with brine, dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$  and the solvent was removed to give 203 mg of methyl 3-(4-formylphenyl)acrylate (**139**{1}) (1 mmol, quantitative) as a white solid.

#### Spectroscopic data:

**$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 10.03 (s, 1H, C10-H), 7.90 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, C8-H), 7.71 (d,  $^3J = 16.2$  Hz, 1H, C5-H) 7.67 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, C7-H), 6.55 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 1H, C4-H) 4.29 (q,  $^3J = 6.8$  Hz, 2H, C2-H), 1.35 (t,  $^3J = 7.2$  Hz, 3H, C1-H).

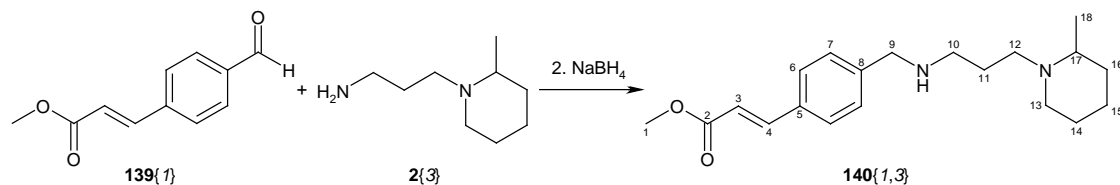
**$^{13}\text{C}$ -RMN (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 191.5 (C10), 166.4 (C3), 142.9 (C5) 140.2 (C6), 137.2 (C9), 130.3 (C8), 128.6 (C7), 121.6 (C4), 60.9 (C2), 14.4 (C1).

**IR (KBr):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2982, 2828, 2739 (*t* Csp<sup>3</sup>-H, *t* Csp<sup>2</sup>-H), 1702 (*t* C=O), 1639 (*t* Csp<sup>2</sup>-Csp<sup>2</sup>).

**Anal.:** calculated for  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_3$ : C: 70.57%, H: 5.92%, O: 23.50%; Found: C: 70.46%, H: 5.95%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 204.1 (80)  $[\text{M}]^+$ , 176.1 (51)  $[\text{M}-\text{Et}]^+$ , 131.1 (74)  $[\text{M}-\text{CO}_2\text{Et}]^+$ .

#### 4.4.14. Synthesis of methyl 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)phenyl)acrylate (**140**{1,3})



Methyl 3-(4-formylphenyl)acrylate (**139**{1}) (190.2 mg, 1 mmol), 1-(3-aminopropyl)-2-pipecoline (**2**{3}) (161.8 mg, 1 mmol) and anhydrous sodium sulphate were mixed in anhydrous MeOH (3 mL) and held at room temperature under a  $\text{N}_2$  atmosphere for 16 h. Sodium sulphate were filtered and the intermediate imine in MeOH was cooled to 0 °C and treated with solid  $\text{NaBH}_4$  (38.2 mg, 1 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 5 h. Then  $\text{H}_2\text{O}$  was added, and the product was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The organic extracts were combined, washed with brine, dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$ , and the solvent was removed to give the corresponding 3-(4-((2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)phenyl)acrylate (**140**{1,3}) as an orange viscous oil (328 mg, 0.99 mmol, 99%).

##### Spectroscopic data:

**$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 7.69 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 1H, C4-H), 7.49 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 2H, C7-H), 7.35 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, C6-H), 6.42 (d,  $^3J = 16.0$  Hz, 1H, C3-H), 3.80 (s, 5H, C1-H, C9-H), 2.87 (m, 1H, C13-H), 2.75 (m, 1H, C12-H), 2.64 (t,  $^3J = 6.8$  Hz, 2H, C10-H), 2.36 (m, 1H, C12-H), 2.26 (m, 1H, C17-H), 2.11 (m, 1H, C13-H), 2.09 (br s, 1H, N-H), 1.75-1.44 (m, 6H, C11-H, C14-H, C16-H, C15-H), 1.29 (m, 2H, C15-H, C16-H), 1.05 (d,  $^3J = 6.2$  Hz, C18-H).

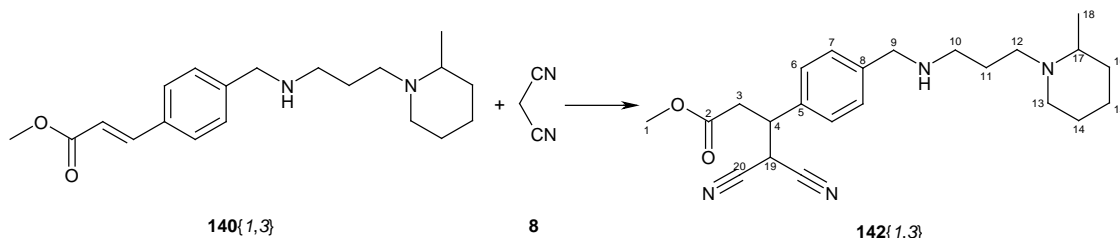
**IR (film):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3279 (*t* N-H), 2930, 2854, 2796 (*t* Csp<sup>3</sup>-H, *t* Csp<sup>2</sup>-H), 1720 (*t* C=O), 1636 (*t* Csp<sup>2</sup>-Csp<sup>2</sup>), 1321 (*t* C-O).

**Anal.:** calculated for  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$ : C: 72.69%, H: 9.15%, N: 8.48%, O: 9.68%; Found: C: 72.79%, H: 9.28%, N: 8.31%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 330.2 (6)  $[\text{M}]^+$ , 175.1 (22)  $[\text{M-amine}]^+$ , 131.1 (74)  $[\text{M-CO}_2\text{Et}]^+$ .

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$ : 330.2307,  $[\text{M}]^+$ , Found: 330.2306.

#### 4.4.15. Synthesis of methyl 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)phenyl)-4,4-dicyanobutanoate (**142**{1,3})



To a solution of 165.2 mg (2.5 mmol) of malononitrile (**8**) in 2.5 mL of anhydrous THF, 139.2 mg (2.5 mmol) of sodium methoxyde were added and the mixture left cool down. 165.2 mg (0.5 mmol) of 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)methyl)phenyl)acrylate (**140**{1,3}) were added slowly and the mixture was heated to 35-40 °C and stirred at this temperature for 90 min. The reaction was quenched by addition of water and the product was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic extracts were combined and dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed to give the corresponding methyl 3-(4-((3-(2-pipecolin-1-yl)propylamino)-methyl)phenyl)-4,4-dicyanobutanoate (**142**{1,3}) as a brownish oil (119.0 mg, 0.3 mmol, 60%).

##### Spectroscopic data:

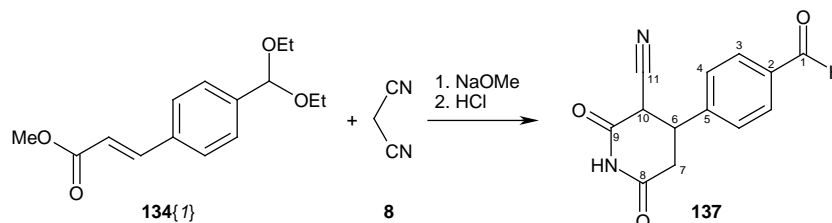
**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 7.38 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H, C6-H), 7.31 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, C5-H), 3.79 (s, 2H, C9-H), 3.72 (m, 2H, C4-H, C19-H), 3.69 (s, 3H, C1-H), 3.05 (m, 1H, C3-H), 2.95 (m, 1H, C3-H), 2.88 (m, 1H, C13-H), 2.77 (m, 1H, C12-H), 2.67 (t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 2H, C10-H), 2.39 (m, 1H, C12-H), 2.31 (m, 1H, C17-H), 2.15 (m, 1H, C13-H), 1.75-1.42 (m, 6H, C11-H, C14-H, C16-H, C15-H), 1.28 (m, 2H, C15-H, C16-H), 1.06 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, C18-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 170.8 (C2), 141.4 (C5), 134.4 (C8) 129.0 (C7), 127.8 (C6), 111.6 (C20), 56.1 (C17), 53.4 (C9), 52.3, 52.3, 51.9, 48.4 (C10), 41.9 (C19), 36.0 (C3), 34.3, 29.7, 28.8, 25.8, 25.5, 23.6 (C15), 18.8 (C18).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 2931, 2855 (t Csp<sup>3</sup>-H, t Csp<sup>2</sup>-H), 2203, 2166 (t CN), 1736 (t C=O), 1669 (t Csp<sup>2</sup>-Csp<sup>2</sup>).

**MS (FAB):** m/z (%) = 397.3 (17) [M+H]<sup>+</sup>, 365.2 (26) [M-OMe]<sup>+</sup>

**HRMS (FAB):** calculated for C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 397.2604, [M+H]<sup>+</sup>, Found: 397.2605.

4.4.16. Synthesis of 4-(2-cyanoglutarimide-3-yl)benzaldehyde (**137**)

To a solution of 270.1 mg (5 mmol) of NaOMe in 6.5 mL of anhydrous methanol, 290.7 mg (4.4 mmol) of malononitrile (**8**) were added and the mixture left cool down. 1.06 g (4 mmol) of methyl 3-(4-(diethoxyethyl)phenyl)acrylate (**134{1}**) were added slowly and the mixture refluxed for 5 h. The solvent was evaporated *in vacuo* and the residue was stirred for 5 h with a HCl 2M solution. The solid was filtered, washed with cold water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. 873.3 mg (3.6 mmol, 90%) of 4-(2-cyanoglutarimide-3-yl)benzaldehyde (**137**) were obtained as a white solid.

**Spectroscopic data:**

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 11.51 (br s, 1H, N-H), 10.02 (s, 1H, C1-H), 7.96 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, C3-H), 7.63 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, C4-H), 4.95 (d,  $^3J = 12.6$  Hz, 1H, C10-H), 4.01 (td,  $^3J = 12.8$  Hz,  $^3J = 4.5$  Hz, 1H, C6-H), 2.94 (dd,  $^3J = 17.0$  Hz,  $^3J = 13.1$  Hz, 1H, C7-H), 2.70 (dd,  $^3J = 17.1$  Hz,  $^3J = 4.3$  Hz, 1H, C7-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (100.6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 192.6 (C1), 170.7 (C9), 166.1 (C8), 145.7 (C5), 135.9 (C2), 130.1 (C3), 128.3 (C4), 115.9 (C11), 41.1 (C10), 38.7 (C6), 37.9 (C7).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3188, 3088 (*t* N-H), 2880 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 2254 (*t* C≡N), 1706 (*t* C=O), 1253 (*t* as C-O-C).

**Anal.:** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C: 64.46%, H: 4.16%, N: 11.56%, O: 19.82%; Found: C: 64.50%, H: 4.04%, N: 11.87%.

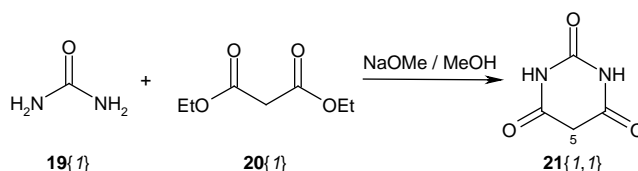
**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 242.1 (84) [M]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: 242.069142, [M]<sup>+</sup>, Found: 242.069172.



## 4.5. Synthesis of barbiturates

### 4.5.1. Synthesis of barbituric acid (**21**{1,1})

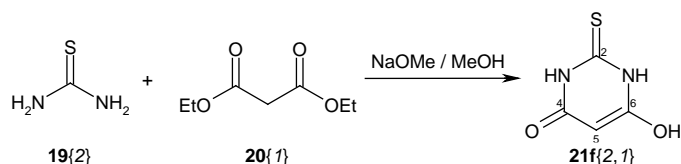


In a 250 mL round-bottomed flask fitted with a reflux condenser protected by a calcium chloride tube, 2.3 g (0.1 mol) of finely cut sodium in 50 mL of anhydrous methanol. To this solution is added urea (6.0 g, 0.1 mol) (**19**{1}) in 50 mL of anhydrous methanol at 60 °C, followed by a dropwise addition of (16.0 g, 0.1 mol) diethyl malonate (**20**{1}). After being well shaken mixture is refluxed for 16 h. A white solid separates rapidly. After the reaction is completed, 100 mL of hot (50 °C) water is added and then enough hydrochloric acid to make the solution acidic and solve the solid. The resulting clear solution is filtered and cooled in a refrigerator overnight. The white product is collected by filtration, washed with cold water and then dried in an oven at 110 °C for 4 h. The yield of barbituric acid (**21**{1,1}) is 8.11 g (63.5 mmol, 64% yield), mp 252-253 °C. Spectroscopic data was identical with those reported in the literature.<sup>[2]</sup>

#### Spectroscopic data:

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ (ppm): 11.12 (br s, 2H, N-H), 3.46 (s, 2H, C5-H).

IR (KBr): ν (cm<sup>-1</sup>): 3192, 3098 (*t* N-H), 1766, 1744, 1718, 1696 (*t* C=O), 1418 (*δ ip* NH), 1366 (*t* C-N), 805 (*δ oop* NH).

4.5.2. Synthesis of thiobarbituric acid (**21f{2,1}**)

The procedure was the same as that stated above for **21{1,1}**, but carried out by using 2.3 g (0.1 mol) of sodium in 50 mL of anhydrous MeOH, 7.61g (0.1 mol) of thiourea (**19{2}**) in 70 mL of anhydrous MeOH, 16 g (0.1 mol) of diethyl malonate (**20{1}**). 5.44 g (38.0 mmol, 38% yield) of thiobarbituric acid (**3{2,1}**) were obtained as a pale yellow solid. The product is described in the literature,<sup>[3]</sup> but not the tautomeric form obtained **21f{2,1}**.

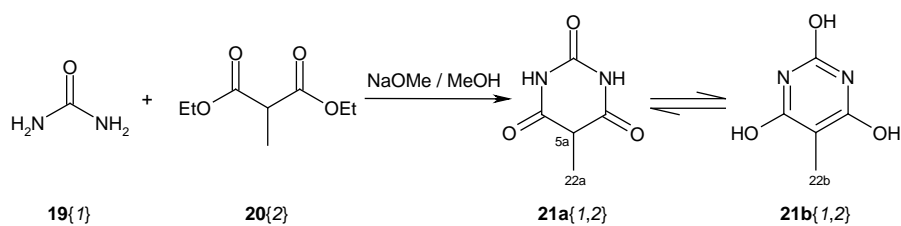
**Spectroscopic data:**

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm): 12.19 (br s, 2H, N-H), 4.91 (br s, 1H, C5-H or O-H), 3.55 (br s, C5-H or O-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm): 174.9 (C2), 165.9 (C4), 161.9 (C6), 81.9 (C5).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3380, 3305 (*t* O-H), 3197, 3096 (*t* N-H), 2941, 2871 (*t* C-H), 1742, 1720, 1702 (*t* C=O), 1652 (*t* C=C), 1435 (*δ ip* O-H), 1163 (*t* C=S), 812 (*δ ip* N-H).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 144.1 (85) [M]<sup>+</sup>, 116.2 (44) [M-CO]<sup>+</sup>, 43.2 (100) [CONH]<sup>+</sup>.

4.5.3. Synthesis of 5-methylbarbituric acid (**21**{1,2})

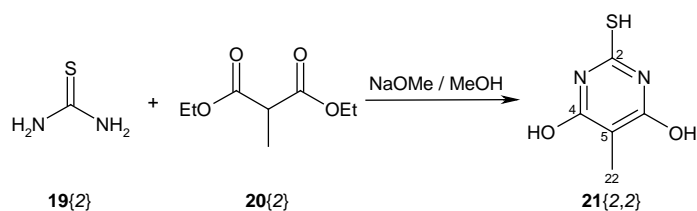
The procedure was the same as that stated above for **21**{1,1}, but carried out by using 2.3 g (0.1 mol) of sodium in 35 mL of anhydrous MeOH, 6.0 g (0.1 mol) of urea (**19**{1}) in 35 mL of anhydrous MeOH, 17.42 g (0.1 mol) of diethyl methylmalonate (**20**{2}). 13.49 g (95.0 mmol, 95% yield) of 5-methylbarbituric acid (**21**{1,2}) as a mixture of tautomers (**21a**{1,2}, **21b**{1,2}), were obtained as a white solid, mp 198-200 °C.

**Spectroscopic data:**

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 11.19 (br s, 2H, O-H), 11.07 (br s, 2H, N-H), 6.16 (br s, 1H, O-H), 3.63 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 1H, C5<sub>a</sub>-H), 1.45 (s, 3H, C22<sub>b</sub>-H), 1.30 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C22<sub>a</sub>-H).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3394 (*t* O-H), 3128 (*t* N-H), 3004, 2936, 2854 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1701, 1630 (*t* C=O), 1403, 1366 ( $\delta$  *sim* CH<sub>3</sub>), 859 ( $\delta$  Csp<sup>3</sup>-H), 764 ( $\delta$  *oop* NH).

#### 4.5.4. Synthesis of 5-methylthiobarbituric acid (**21**{2,2})



The procedure was the same as that stated above for **21**{1,1}, but carried out by using 2.3 g (0.1 mol) of sodium in 35 mL of anhydrous MeOH, 7.61g (0.1 mol) of thiourea (**19**{2}) in 35 mL of anhydrous MeOH, 17.42 g (0.1 mol) of diethyl methylmalonate (**20**{2}). 12.66 g (80.0 mmol, 80% yield) of 5-methylthiobarbituric acid (**21**{2,2}) were obtained as a white solid, mp 253-254 °C.

##### Spectroscopic data:

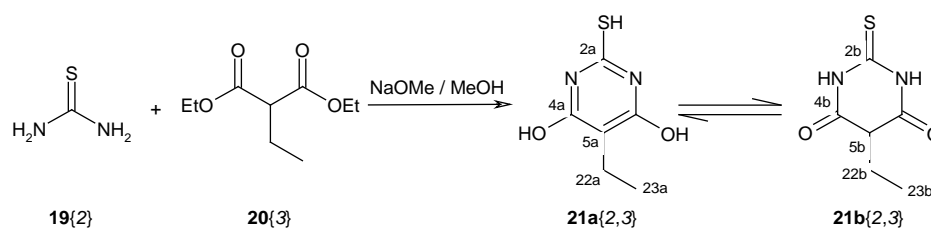
**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm): 12.06 (br s, 2H, O-H), 3.78 (br s, 1H, S-H), 1.70 (s, 3H, C22-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm): 172.5 (C4), 160.0 (C2), 90.1 (C5), 7.5 (C22).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3166, 3105 (*t* O-H), 2728, 2655 (*t* S-H), 1603, 1551 (*t* C=C), 1211, 1130 (*t* C-O).

**MS (ESI-TOF):** m/z (%) = 159.0 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI-TOF):** calculated for C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 159.0223, [M+H]<sup>+</sup>, Found: 159.0223.

4.5.5. Synthesis 5-ethylthiobarbituric acid (**21**{2,3})

The procedure was the same as that stated above for **21**{1,1}, but carried out by using 2.3 g (0.1 mol) of sodium in 35 mL of anhydrous MeOH, 7.61 g (0.1 mol) of thiourea (**19**{2}) in 35 mL of anhydrous MeOH, 18.82 g (0.1 mol) of diethyl ethylmalonate (**20**{3}). 8.35 g (48.5 mmol, 49% yield) of 5-ethylthiobarbituric acid (**21**{2,3}) as a mixture of tautomers (**21a**{2,3} **21b**{2,3}), were obtained as a white solid, mp 194-195 °C.

**Spectroscopic data:**

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 12.29 (br s, 2H, N-H), 12.02 (br s, 2H, O-H), 3.64 (s, 1H, C5<sub>b</sub>-H), 2.24 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C22<sub>a</sub>-H), 1.93 (s, 2H, C22<sub>b</sub>-H), 0.91 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C23<sub>a</sub>-H).

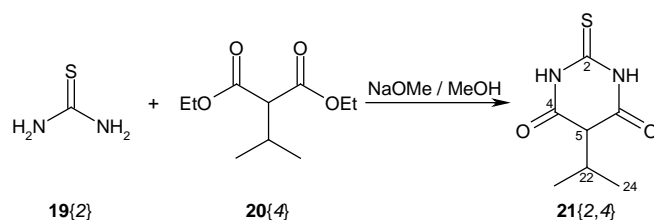
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 179.7 (C2b), 172.6 (C4a), 168.3 (C4b), 159.6 (C2a), 96.6 (C5a), 49.7 (C5b), 21.3 (C22b), 14.9 (C22a), 13.3 (C23a), 10.7 (C23b).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3153, 3092 (*t* N-H), 2968, 2931 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 2739, 2655 (*t* S-H), 1705, 1687 (*t* C=O), 1592, 1570, 1534 (*t* C=C), 1209, 1133 (*t* C-O).

**MS (ESI-TOF):** *m/z* (%) = 173.0 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI-TOF):** calculated for C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 173.0379, [M+H]<sup>+</sup>, Found: 173.0379.

#### 4.5.6. Synthesis of 5-isopropylthiobarbitúric acid (**21**{2,4})



The procedure was the same as that stated above for **21**{1,1}, but carried out by using 2.3 g (0.1 mol) of sodium in 35 mL of anhydrous MeOH, 7.61 g (0.1 mol) of thiourea (**19**{2}) in 35 mL of anhydrous MeOH, 20.23 g (0.1 mol) of diethyl isopropylmalonate (**20**{4}). 14.54 g (78.1 mmol, 78% yield) of 5-isopropylthiobarbituric acid (**21**{1,4}) were obtained as a white solid, mp 175-176 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, Acetone-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 11.11 (br s, 2H, N-H), 3.37 (d, <sup>3</sup>J = 3.9 Hz, 1H, C5-H), 2.56 (m, 1H, C22-H), 1.11 (dd, <sup>4</sup>J = 0.6 Hz, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 6H, C24-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, Acetone-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 180.1 (C2), 168.2 (C4), 55.4 (C5), 33.7 (C17), 19.8 (C23).

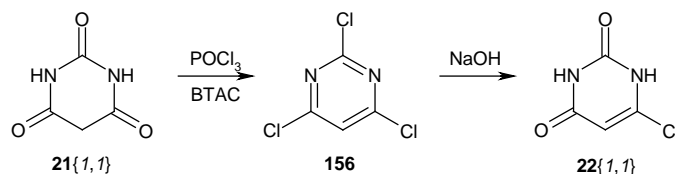
**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3187, 3157 (*t* N-H), 2955, 2885 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1741 (*t* C=O), 1665 (*t* C=C), 1148 (*t* C=S), 815 (*oop* NH).

**MS (ESI-TOF):**  $m/z$  (%) = 187.1 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

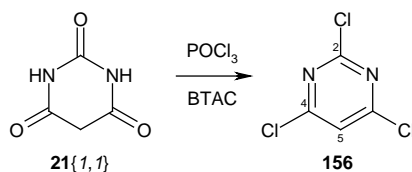
**HRMS (ESI-TOF):** calculated for C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 187.0536, [M+H]<sup>+</sup>, Found: 187.0534.

## 4.6. Synthesis of 6-chlorouracils

### 4.6.1. Synthesis of 6-chlorouracil (**22**{1,1})



Synthesis consists of two steps:



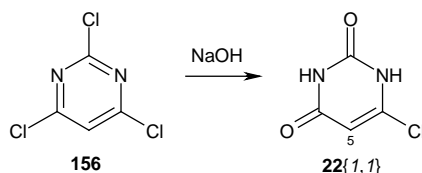
A stirred suspension of barbituric acid (**21**{1,1}) (12.81 g, 0.1 mol) and benzyltriethylammonium chloride (BTAC) (45.56 g, 0.2 mol) in phosphorus oxychloride (POCl<sub>3</sub>) (230 mL, 2.5 mol) was heated at 50 °C for 7 h under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was cooled to room temperature and evaporated to dryness *in vacuo*. The residue was carefully quenched with 285 g of ice chips at 0 °C and the slurry was kept in a refrigerator overnight. The precipitate was collected by filtration, washed with cold water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. 10.21 g (56.2 mmol, 56%) of 2,4,6-trichloropyrimidine (**156**) were obtained as a white solid slightly brown, mp 21-23 °C. Spectroscopic data was identical with those reported in the literature.<sup>[4]</sup>

#### Spectroscopic data:

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 7.40 (s, 1H, C5-H)

<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ (ppm): .162.2 (C4), 158.3 (C2), 121.1 (C5).

IR (film): ν (cm<sup>-1</sup>): 3110 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1522, 1369, 1279 (skeletal vibration), 1105 (t C-Cl), 835 (δ C-H).



A solution of 2,4,6-trichloropyrimidine (**156**) (10.21 g, 56.2 mmol) in water (100 mL) containing NaOH (8.9g, 0.22 mol) was stirred under reflux for 1 h. The reaction mixture was adjusted to pH 2~3 with conc. aqueous HCl and was kept in a refrigerator overnight. The precipitate was collected by filtration, washed with cold water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. 6.43 g (54.3 mmol, 97%) of 6-chlorouracil (**22{1,1}**) were obtained as a white crystalline solid, mp >280 °C. Spectroscopic data was identical with those reported in the literature.<sup>[5]</sup>

**Spectroscopic data:**

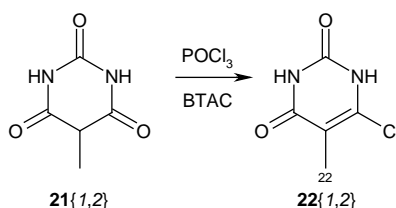
**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm): 12.00 (br s, 1H, N-H), 11.09 (br s, 1H, N-H), 5.66 (s, 1H, C5-H).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3095 (*t* N-H), 1729, 1709, 1652 (*t* C=O), 1616 (*t* C=C), 1380 (*t* C-N), 841 ( $\delta$  *oop* NH), 790 (*t* C-Cl).

The overall yield of the reaction for obtaining 6-chlorouracil (**22{1,1}**) is 54%.



#### 4.6.2. Synthesis of 6-chloro-5-metiluracil (**22**{1,2})



A stirred suspension of 5-methylbarbituric acid (**21**{1,2}) (9.40 g, 66.0 mmol) and benzyltriethylammonium chloride (BTAC) (30.14 g, 0.13 mol) in phosphorus oxychloride (POCl<sub>3</sub>) (154 mL, 1.65 mol) was heated at 50 °C for 7 h under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was cooled to room temperature and evaporated to dryness *in vacuo*. The residue was carefully quenched with 285 g of ice chips at 0 °C and the slurry was kept in a refrigerator overnight. The precipitate was collected by filtration, washed with cold water and dried *in vacuo* over phosphorus pentoxide. 5.60 g (35.0 mmol, 53%) of 6-chloro-5-methyluracil (**22**{1,2}) were obtained as a white solid, mp 270-272 °C.

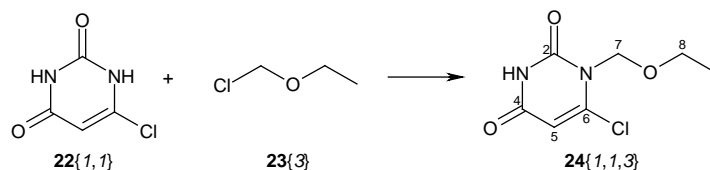
##### Spectroscopic data:

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ (ppm): 11.81 (br s, 1H, N-H), 11.32 (br s, 1H, N-H), 1.82 (s, 3H, C22-H).

IR (KBr): ν (cm<sup>-1</sup>): 3158 (*t* N-H), 3013, 2814 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1711, 1647 (*t* C=O), 1625 (*t* C=C), 1491 (*δ ip* NH), 1424 (*t* C-N), 891 (*δ oop* NH), 753 (*t* C-Cl).



#### 4.7.2. Synthesis of 6-chloro-1-(ethoxymethyl)uracil (**24**{1,1,3})



The procedure was the same as that stated above for **24**{1,1,1}, but carried out by using 4.5 g (30.71 mmol) of 6-chlorouracil (**22**{1,1}) in 90 mL of anhydrous  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 14.43 g (17.6 mL, 67.6 mmol) of *N,O*-bis-(trimethylsilyl)-acetamide (BSA), 112 mg (0.37 mmol) of TBAI and 6.05 g (5.93 mL, 61.4 mmol) of chloromethyl ethyl ether (**23**{3}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (2:3, v/v) as eluent. 2.31 g (11.3 mmol, 37%) of 6-chloro-1-(ethoxymethyl)uracil (**24**{1,1,3}) were obtained as a pale yellow solid, mp 142-143 °C.

##### Spectroscopic data:

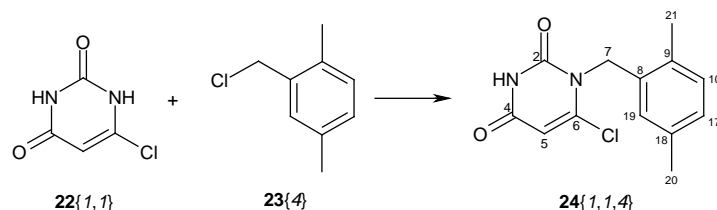
**$^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 8.75 (br s, 1H, N-H), 5.93 (s, 1H, C5-H), 5.47 (s, 2H, C7-H), 3.67 (q,  $^3J = 6.9$  Hz, 2H, C8-H), 1.24 (t,  $^3J = 6.9$  Hz, 3H, C9-H).

**$^{13}\text{C}$ -RMN (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 161.1 (C4), 150.4 (C2), 147.38 (C6), 103.5 (C5), 74.5 (C7), 65.6 (C8), 15.1 (C9).

**IR (film):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3159 (*t* N-H), 3093, 3036 (*t*  $\text{Csp}^2$ -H), 2974, 2875, 2789 (*t*  $\text{Csp}^3$ -H), 1705 (*t* C=O), 1603 (*t* C=C), 1442 ( $\delta$  *ip* NH), 1098 (*t as* C-O-C), 828 ( $\delta$  *oop* NH), 752 (*t* C-Cl).

**Anal:** calculated for  $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}$ : C: 41.09%, H: 4.43%, Cl: 17.33%, N: 13.69%, O: 23.46%; Found: C: 41.11%, H: 4.62%, N: 13.40%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 204.2 (2)  $[\text{M}]^+$ , 175.2 (5)  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5]^+$ , 169.2 (6)  $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ , 59.2 (100)  $[\text{C}_3\text{H}_7\text{O}]^+$ .

4.7.3. Synthesis of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)uracil (**24**{1,1,4})

A mixture of 6-chlorouracil (**22**{1,1}) (4.5 g, 31.0 mmol), 2,5-dimethylbenzyl chloride (**23**{4}) (7.15 g, 6.83 mL, 46 mmol) and  $K_2CO_3$  (2.13 g, 15 mmol) in DMSO (30 mL) was stirred at 60-70 °C for 1 h. An aqueous NaOH solution (4%, w/v, 30 mL) was added to the hot reaction mixture with stirring. The reaction was washed with toluene (2 x 15 mL), and the aqueous phase was adjusted to pH 2-3 with conc. aqueous HCl. The resulting aqueous mixture was kept in a refrigerator overnight and the precipitate was collected by filtration, washed with cold water, and dried. The solid was purified by recrystallization from MeOH to give 3.78 g (14.3 mmol, 47%) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)uracil (**24**{1,1,4}) as a white solid, mp 249-251 °C.

**Spectroscopic data:**

**$^1H$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm): 11.75 (br s, 1H, N-H), 7.09 (d,  $^3J = 7.8$  Hz, 1H, C10-H), 6.99 (d,  $^3J = 7.8$  Hz, 1H, C17-H), 6.67 (s, 1H, C19-H), 6.05 (d,  $^4J = 2.1$  Hz, 1H, C5-H), 5.07 (s, 2H, C7-H), 2.25 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.23 (s, 3H, C20-H or C21-H).

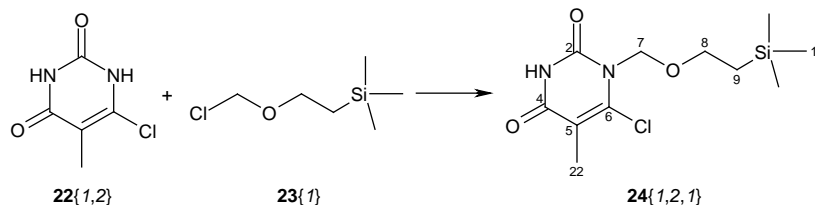
**$^{13}C$ -RMN (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 160.9 (C4), 150.2 (C2), 146.8 (C6), 135.1 (C8)\*\*, 133.8 (C18)\*\*, 131.1 (C9)\*\*, 130.0 (C10)\*, 127.4 (C19)\*, 124.1 (C17)\*, 102.4 (C5), 46.2 (C7), 20.8 (C20), 18.1 (C21).

**IR (film):**  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ): 3145 (*t* N-H), 3090, 3015 (*t*  $Csp^2$ -H), 2921, 2856, 2795 (*t*  $Csp^3$ -H), 1727, 1715, 1703, 1656 (*t* C=O), 1585 (*t* C=C), 1456 ( $\delta$  *ip* NH), 753 (*t* C-Cl).

**MS (ESI-TOF):**  $m/z$  (%) = 265.1 (14)  $[M+H]^+$ , 119.1 (100)  $[C_9H_{11}]^+$ .

**HRMS (ESI-TOF):** calculated for  $C_{13}H_{14}ClN_2O_2$ : 265.0738,  $[M+H]^+$ , Found: 265.0740.

#### 4.7.4. Synthesis of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,1})



The procedure was the same as that stated above for **24**{1,1,1}, but carried out by using 2.41 g (15 mmol) of 6-chloro-5-methyluracil (**22**{1,2}) in 45 mL of anhydrous  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 7.05 g (8.6 mL, 33 mmol) of *N,O*-bis-(trimethylsilyl)-acetamide (BSA), 55 mg (0.15 mmol) of TBAI and 5.0 g (5.28 mL, 30 mmol) of SEM (**23**{1}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (1:1, v/v) as eluent. 3.91 g (13.4 mmol, 90%) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,1}) were obtained as a white solid, mp 96-97 °C.

##### Spectroscopic data:

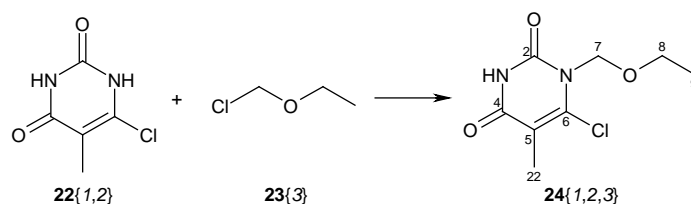
**$^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 8.59 (br s, 1H, N-H), 5.47 (s, 2H, C7-H), 3.68 (m, 2H, C8-H), 2.07 (s, 3H, C22-H), 0.96 (m, 2H, C9-H), 0.01 (s, 9H, C10-H).

**$^{13}\text{C}$ -RMN (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 161.7 (C4), 150.0 (C2), 143.3 (C6), 110.4 (C5), 74.5 (C7), 67.4 (C8), 18.1 (C9), 12.2 (C22), -1.3 (C10).

**IR (film):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3199, 3053 (*t* N-H), 2953, 2927, 2896 (*t*  $\text{Csp}^3\text{-H}$ ), 1723, 1694 (*t*  $\text{C=O}$ ), 1617 (*t*  $\text{C=C}$ ), 1447 ( $\delta$  *ip* NH), 1249 ( $\delta$  *sim* Si- $\text{CH}_3$ ), 1091 (*t as* C-O-C), 837, 756 ( $\gamma$  Si- $\text{CH}_3$ ).

**Anal.:** calculated for  $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3\text{ClSi}$ : C: 45.43%, H: 6.59%, Cl: 12.19%, N: 9.63%, O: 16.50%, Si: 9.66%; Found: C: 45.42%, H: 6.83%, N: 9.46%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 217.2 (50)  $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_9\text{Si}]^+$ , 73.2 (100)  $[\text{C}_3\text{H}_9\text{Si}]^+$ .

4.7.5. Synthesis of 6-chloro-1-(ethoxymethyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,3})

The procedure was the same as that stated above for **24**{1,1,1}, but carried out by using 2.0 g (12.5 mmol) of 6-chloro-5-methyluracil (**22**{1,2}) in 35 mL of anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 5.86 g (7.14 mL, 24.92 mmol) of *N,O*-bis-(trimethylsilyl)-acetamide (BSA), 46 mg (0.13 mmol) of TBAI and 2.45 g (2.40 mL, 24.92 mmol) of chloromethyl ethyl ether (**23**{3}). 2.00 g (9.15 mmol, 73%) of 6-chloro-1-(ethoxymethyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,3}) were obtained, without further purification, as a pale yellow solid, mp 132-133 °C.

**Spectroscopic data:**

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.67 (br s, 1H, N-H), 5.49 (s, 2H, C7-H), 3.66 (q, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 2H, C8-H), 2.07 (s, 3H, C22-H), 1.23 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 3H, C9-H).

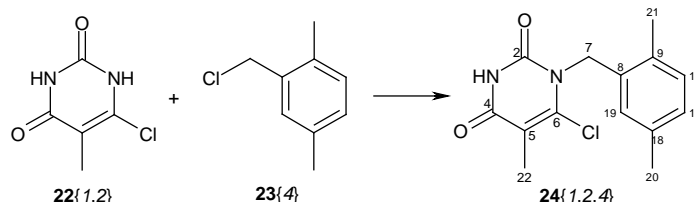
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 161.5 (C4), 149.9 (C2), 142.1 (C6), 108.9 (C5), 74.1 (C7), 64.0 (C8), 15.0 (C9), 12.0 (C22).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3158, 3119 (*t* N-H), 3023, 2978, 2824 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1723, 1683, 1671 (*t* C=O), 1606 (*t* C=C), 1456 (*δ ip* NH), 1098 (*t as* C-O-C), 896 (*δ oop* NH), 754 (*t* C-Cl).

**Anal.:** calculated for C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Cl: C: 43.95%, H: 5.07%, Cl: 16.22%, N: 12.81%, O: 21.95%; Found: C: 43.96%, H: 5.53%, N: 12.45%.

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 218.2 (5) [M]<sup>+</sup>, 189.2 (4) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, 183.3 (2) [M-Cl]<sup>+</sup>, 173.2 (4) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 59.2 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>.

#### 4.7.6. Synthesis of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,4})



The procedure was the same as that stated above for **24**{1,1,4}, but carried out by using 1.60 g (10 mmol) of 6-chloro-5-methyluracil (**22**{1,2}), 2.32 g (2.2 mL, 15 mmol) of 2,5-dimethylbenzyl chloride (**23**{4}) and 691 mg (5 mmol),  $K_2CO_3$  in 15 mL of DMSO and 10 mL of aqueous NaOH solution (4%, w/v) to adjust the pH. The solid obtained was purified by recrystallization from MeOH to give 883 mg (3.18 mmol, 32%) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)-5-methyluracil (**24**{1,1,4}) as a white solid, mp 245-251 °C.

##### Spectroscopic data:

**$^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 8.69 (br s, 1H, N-H), 7.07 (d,  $^3J = 7.8$  Hz, 1H, C10-H), 7.00 (d,  $^3J = 7.8$  Hz, 1H, C17-H), 6.64 (s, 1H, C19-H), 5.22 (s, 2H, C7-H), 2.32 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.28 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.09 (s, 3H, C22-H).

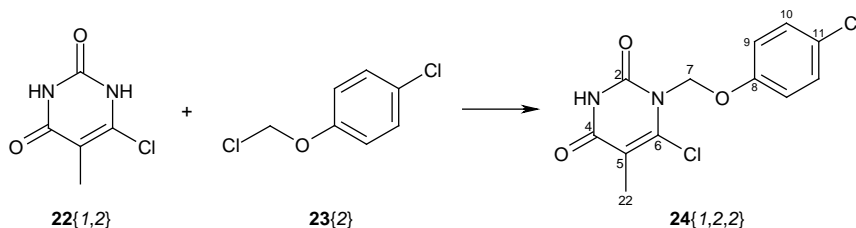
**$^{13}C$ -RMN (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 161.6 (C4), 149.8 (C2), 142.8 (C6), 135.0 (C8)\*\*, 134.0 (C18)\*\*, 131.0 (C9)\*\*, 130.0 (C10)\*, 127.3 (C19)\*, 124.2 (C17)\*, 108.5 (C5), 46.6 (C7), 20.8, (C20), 18.1 (C21), 12.3 (C22).

**IR (film):**  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ): 3158 (*t* N-H), 3027 (*t*  $Csp^2$ -H), 2967, 2921, 2856, 2804 (*t*  $Csp^3$ -H), 1714, 1690, 1667 (*t* C=O), 1612 (*t* C=C), 1442 ( $\delta$  *ip* NH), 807 ( $\delta$  *oop* NH), 740 (*t* C-Cl).

**Anal.:** calculated for  $C_{14}H_{15}ClN_2O_2$ : C: 60.33%, H: 5.42%, Cl: 12.72%, N: 10.05%, O: 11.48%; Found: C: 60.43%, H: 5.66%, N: 9.82%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 278.9 (29)  $[M]^+$ , 119.1 (100)  $[C_9H_{11}]^+$ , 91.0 (28)  $[C_7H_7]^+$ .

#### 4.7.7. Synthesis of 6-chloro-1-((4-chlorophenoxy)methyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,2})



The procedure was the same as that stated above for **24**{1,1,4}, but carried out by using 160.5 mg (1 mmol) of 6-chloro-5-methyluracil (**22**{1,2}), 266 mg (1.5 mmol) of  $\alpha,4$ -dichloroanisole (**23**{2}), 69.1 mg (0.5 mmol) of  $K_2CO_3$  in 1.5 mL of DMSO and 1.0 mL of aqueous NaOH solution (4%, w/v) to adjust the pH. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (1:1, v/v) as eluent. 17.3 mg (0.057 mmol, 6%) of 6-chloro-1-((4-chlorophenoxy)methyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,2}) were obtained as a white solid.

##### Spectroscopic data:

**$^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 8.57 (br s, 1H, N-H), 7.27 (d,  $^3J = 9.0$  Hz, 2H, C10-H), 6.97 (d,  $^3J = 9.0$  Hz, 2H, C9-H), 5.93 (s, 2H, C7-H), 2.09 (s, 3H, C22-H).

**$^{13}C$ -RMN (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 161.3 (C4), 154.3 (C8), 149.3 (C2), 142.3 (C6), 129.6 (C10), 127.9 (C11), 117.7 (C9), 111.2 (C5), 72.7 (C7), 12.3 (C22).

**IR (KBr):**  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ): 3164, 3121, 3080 (*t* N-H), 3033, 2925, 2859, 2818 (*t*  $Csp^3$ -H), 1724, 1671 (*t* C=O), 1615, 1597, 1584, 1494 (*t* C=C), 1459 ( $\delta$  *ip* NH), 1239, 1216 (*t* C-O-Ar), 1013 (*t* C-Cl), 873 ( $\delta$  *oop* NH), 743 ( $\delta$  *oop* C-H), 666 ( $\delta$  C=C).

**MS (ESI-TOF):**  $m/z$  (%) = 301.0 (13)  $[M+H]^+$ , 173.0 (7)  $[C_6H_6ClN_2O_2]^+$ , 141.0 (14)  $[C_7H_6ClO]^+$ .

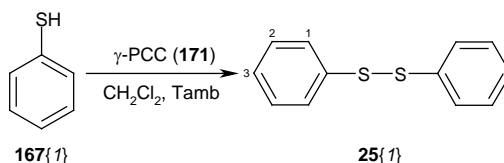
**HRMS (ESI-TOF):** calculated for  $C_{12}H_{11}ClN_2O_3$ : 301.0138,  $[M+H]^+$ , Found: 301.0141.





## 4.8.2. Synthesis of diphenyl disulfide (**25{1}**)

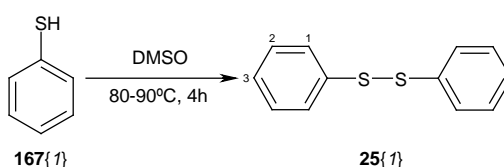
### Method A:



$\gamma$ -PCC (**171**) (11.18 g, 48.7 mmol) was added to a solution of thiophenol (**167{1}**) (5.0 mL, 5.37 g, 48.7 mmol) in dichloromethane (27 mL). The mixture was stirred magnetically at room temperature for 5 h. Diethyl ether was added to the mixture and then filtered and washed with diethyl ether (x 3). The solid obtained by evaporation was purified by recrystallization from MeOH to give 3.49 g (32.0 mmol, 66%\*) of diphenyl disulfide (**25{1}**) as a white solid.

\* This yield was lower than the real because when the  $\gamma$ -PCC (**171**) was added, there was a very exothermic reaction that causes great loss of material.

### Method B:



A mixture of thiophenol (**167{1}**) (1.688 g, 1.57 mL, 15.32 mmol) and DMSO (0.90 mL, 15.32 mmol) was heated at 80-90 °C for 4 h. The reaction was cooled to room temperature, diethyl ether was added and washed with water (x 5). The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulphate and evaporated to dryness *in vacuo*. 1.626 g (14.9 mmol, 97%) of diphenyl disulfide (**25{1}**) were obtained as a white crystalline solid, mp 61-62 °C. Spectroscopic data was identical with those reported in the literature.<sup>[4]</sup>

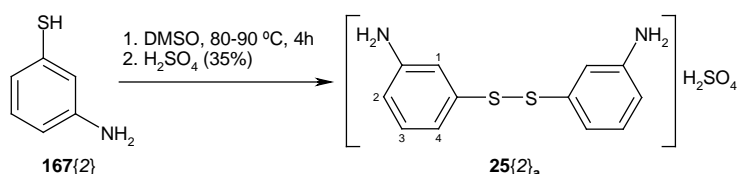
### Spectroscopic data:

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm): 7.50 (m, 4H, C1-H), 7.26 (m, 6H, C2-H, C3-H).

IR (film):  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3071, 3056 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 1575, 1475, 1438 (*t* C=C), 739 ( $\delta$  *oop* C-H), 684 ( $\delta$  C=C).

### 4.8.3. Synthesis of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25{2}**)

#### Méthode C:

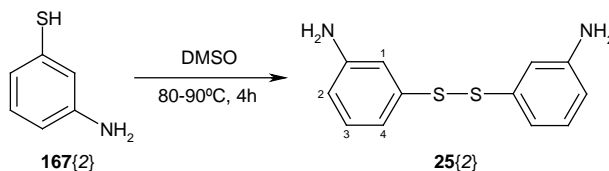


A mixture of 3-aminothiophenol (**167{2}**) (360 mg, 0.305 mL, 2.87 mmol) and DMSO (0.20 mL, 2.87 mmol) was heated at 80-90 °C for 4 h. The hot reaction mixture was then rapidly poured into a 35% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution (2.1 mL). The reaction was cooled to room temperature and the solid was filtered and dried *in vacuo*. 453 mg (2.61 mmol, 91%) of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25{2}\_a**) were obtained as a white solid, dp 270-272 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, TFA-d ):** δ (ppm): 7.67 (s, 2H, C1-H), 7.57 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, C4-H), 7.44 (t, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, C3-H), 7.31 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, C2-H).

#### Méthode B:



The procedure was the same as that stated above for **25{1}** with method B, but carried out by using 5.0 mL (47.0 mmol) of 3-aminothiophenol (**167{2}**) and 3.35 mL (47.0 mmol) of DMSO. 5.36 g (43.2 mmol, 92%) of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25{2}**) were obtained as a yellow oil which crystallizes slowly, mp 55-58 °C.

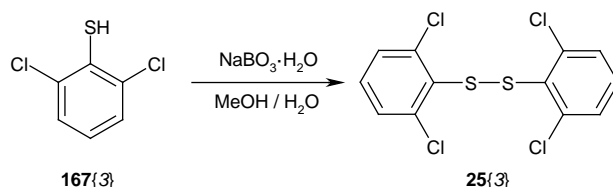
#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub> ):** δ (ppm): 7.07 (t, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 2H, C3-H), 6.87 (ddd, <sup>4</sup>J = 0.9 Hz, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 2H, C4-H), 6.82 (t, <sup>4</sup>J = 1.8 Hz, 2H, C1-H), 6.52 (ddd, <sup>4</sup>J = 0.9 Hz, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 2H, C2-H), 3.69 (br s, 4H, N-H).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3432, 3353 (*t* N-H), 3214 (Fermi resonance NH), 3051 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 1618 (δ NH), 1589, 1479 (*t* C=C), 883, 853 (δ NH), 773 (δ *oop* C-H), 684 (δ C=C).

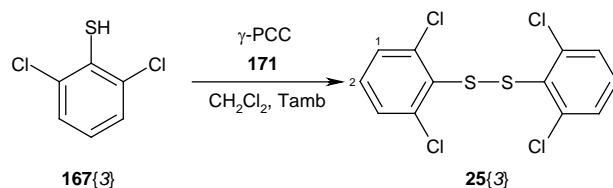
4.8.4. Synthesis of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25{3}**)

## Mètode D:



A mixture of 2,6-dichlorothiophenol (**167{3}**) (859 mg, 5 mmol) and sodium perborate monohydrate (998 mg, 10 mmol) in MeOH/water (12.5:5 mL) was stirred for 2 h at room temperature. The solid was filtered and washed with MeOH. 130 mg (0.73 mmol, 15%) of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25{3}**) were obtained as a white crystalline solid.

## Mètode A:



The procedure was the same as that stated above for **25{1}** with method A, but carried out by using 5.0 g (27.92 mmol) of 2,6-dichlorothiophenol (**167{3}**) in dichloromethane (140 mL) and 6.40 g (27.92 mmol) of  $\gamma$ -PCC (**171**) stirring 6 h at room temperature. 3.35 g (18.81 mmol, 68%) of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25{3}**) were obtained as a white solid, mp 217-218 °C.

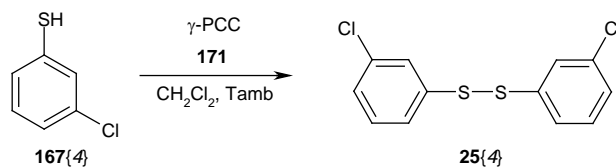
## Spectroscopic data:

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm): 7.34 (m, 4H, C1-H), 7.20 (m, 2H, C2-H).

IR (KBr):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3077, 3068 ( $t$   $\text{Csp}^2\text{-H}$ ), 1551, 1424, 1398 ( $t$   $\text{C=C}$ ), 1187, 1146 ( $t$   $\text{C-Cl}$ ), 776 ( $\delta$   $\text{oop C-H}$ ), 704 ( $\delta$   $\text{C=C}$ ).

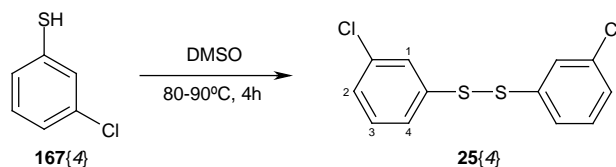
#### 4.8.5. Synthesis of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25{4}**)

##### Mètode A:



The procedure was the same as that stated above for **25{1}** with method A, but carried out by using 838 mg (5.79 mmol) of 3-chlorothiophenol (**167{4}**) in dichloromethane (29 mL) and 1.33 g (5.79 mmol) of  $\gamma$ -PCC (**171**) stirring 7 h at room temperature. 424 mg (2.96 mmol, 51%) of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25{4}**) were obtained as a yellow oil.

##### Mètode B:



The procedure was the same as that stated above for **25{1}** with method B, but carried out by using 8.4 mL (10.5 g, 72.6 mmol) of 3-chlorothiophenol (**167{4}**) and 5.17 mL (72.6 mmol) of DMSO. 9.54 g (66 mmol, 92%) of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25{4}**) were obtained as a yellow oil.

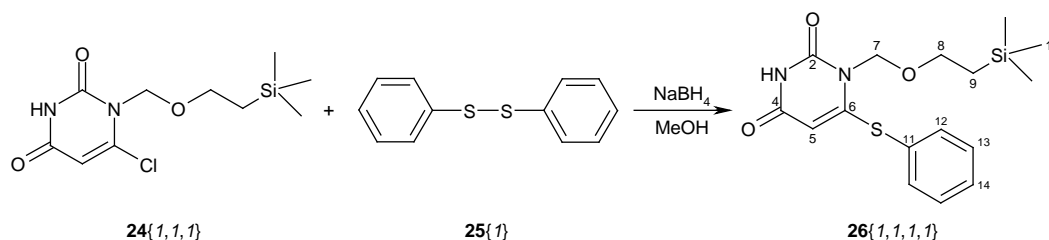
##### Spectroscopic data:

**$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm): 7.48 (m, 2H, C1-H), 7.35 (m, 2H, C4-H), 7.23 (m, 4H, C2-H i C3-H).

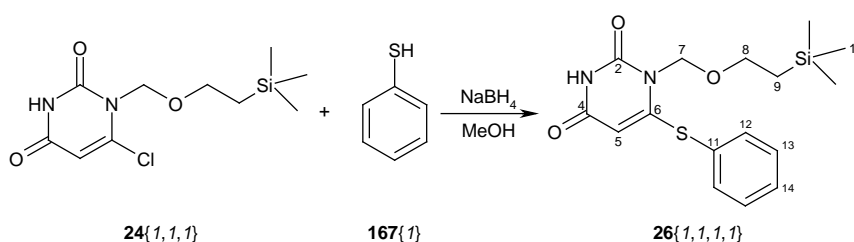
**IR (film):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3054 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 1574, 1495, 1406 (*t* C=C), 1115, 1072 (*t* C-Cl), 773 ( $\delta$  *oop* C-H), 676 ( $\delta$  C=C).

## 4.9. Synthesis of HEPT analogues

### 4.9.1. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(phenylthio)uracil (**26**{1,1,1,1})



To an ice-cooled stirring solution of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyluracil (**24**{1,1,1,1}) (100 mg, 0.36 mmol), diphenyl disulfide (**25**{1}) (786 mg, 0.73 mL, 3.61 mmol) in MeOH (5 mL) and NaBH<sub>4</sub> (260 mg, 6.86 mmol) were added in portions under nitrogen atmosphere, and the mixture was warmed to room temperature and stirred for 16 h. The evaporation of solvent gave a solid which was dissolved in water (5 mL), and the solution was adjusted to pH 6-7 with 1M HCl. The solution was then extracted with dichloromethane (2 x 10 mL). The combined organic phase was washed with brine and dried over anhydrous magnesium sulphate, filtered, and evaporated to dryness *in vacuo*. The residue was washed with hexane to give 106 mg (0.30 mmol, 84%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(phenylthio)uracil (**26**{1,1,1,1}) as a white solid, mp 157-158 °C.



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 260 mg (6.86 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.36 mmol) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyluracil (**24**{1,1,1,1}) and 397 mg (0.368 mL, 3.60 mmol) of thiophenol (**167**{1}). The residue was washed with pentane to give 105 mg (0.30 mmol, 83%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(phenylthio)uracil (**26**{1,1,1,1}) as a white solid, mp 157-158 °C.

**Spectroscopic data:**

**$^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm):** 8.41 (br s, 1H, N-H), 7.52 (m, 5H, Ph), 5.53 (s, 2H, C7-H), 5.00 (d,  $^4J = 2.1$  Hz, 1H, C5-H), 3.73 (m, 2H, C8-H), 1.02 (m, 2H, C9-H), 0.05 (s, 9H, C10-H).

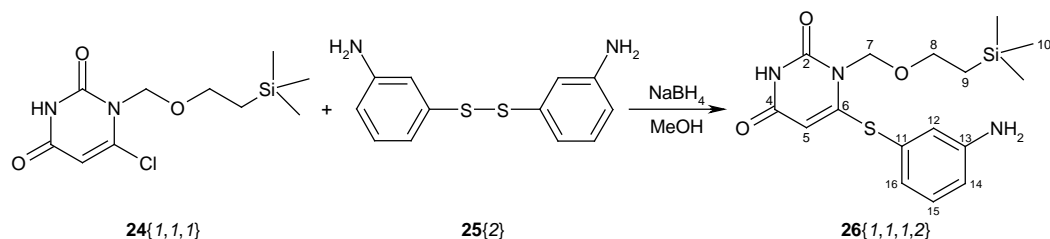
**$^{13}\text{C}$ -RMN (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm):** 161.3 (C4), 160.5 (C6), 151.0 (C2), 136.0 (C13), 131.1 (C14), 130.3 (C12), 126.4 (C11), 98.9 (C5), 73.3 (C7), 67.3 (C8), 18.1 (C9), -1.3 (C10).

**IR (film):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 3139 (*t* N-H), 3015 (*t*  $\text{Csp}^2$ -H), 2950, 2895, 2842 (*t*  $\text{Csp}^3$ -H), 1719, 1666 (*t* C=O), 1560 (*t* C=C), 1459 ( $\delta$  *ip* NH), 1248 ( $\delta$  *sim* Si-CH<sub>3</sub>), 1080 (*t as* C-O-C), 750 ( $\delta$  *oop* C-H), 691 ( $\delta$  C=C).

**Anal.:** calculated for  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{SSi}$ : C: 54.83%, H: 6.33%, N: 7.99%, O: 13.69%, S: 9.15%, Si: 8.01%; Found: C: 54.84%, H: 6.52%, N: 7.85%, S: 9.41%.

**MS (70 eV, EI):  $m/z$  (%) =** 350.0 (3)  $[\text{M}]^+$ , 277.0 (33)  $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_9\text{Si}]^+$ , 233.0 (7)  $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{13}\text{OSi}]^+$ , 109.0 (29)  $[\text{C}_6\text{H}_5\text{S}]^+$ , 73.0 (100)  $[\text{C}_3\text{H}_9\text{Si}]^+$ .

#### 4.9.2. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)uracil (**26**{1,1,1,2})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 130 mg (3.44 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.36 mmol) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyluracil (**24**{1,1,1}) and 448 mg (1.80 mmol) of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25**{2}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of acetonitrile and dichloromethane (1:2, v/v) as eluent. 118 mg (0.33 mmol, 90%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)uracil (**26**{1,1,1,2}) were obtained as a pale yellow solid, mp 169-171 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 9.32 (br s, 1H, N-H), 7.23 (t, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, C15-H), 6.91 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, C16-H), 6.83 (t, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C12-H), 6.78 (dd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C14-H), 5.50 (s, 2H, C7-H), 5.15 (s, 1H, C5-H), 3.86 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.72 (m, 2H, C8-H), 1.00 (m, 2H, C9-H), 0.04 (s, 9H, C10-H).

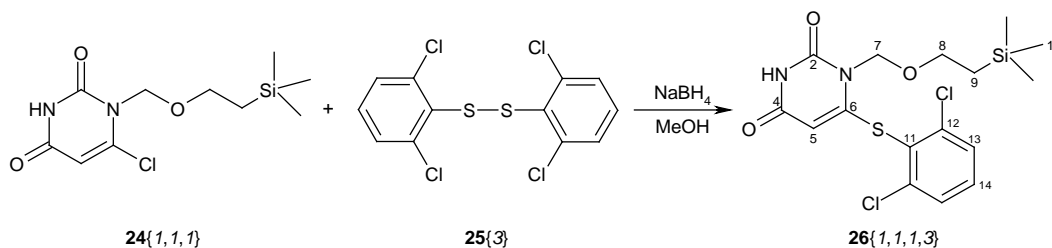
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 161.3 (C4), 160.7 (C6), 151.0 (C2), 148.0 (C13), 131.0 (C15), 126.8 (C11), 125.5 (C16), 121.5 (C12), 117.5 (C14), 98.7 (C5), 73.2 (C7), 67.2 (C8), 18.1 (C9), -1.3 (C10).

**IR (film):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3415, 3338 (*t* NH<sub>2</sub>), 3126 (*t* N-H), 3057 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2997, 2952, 2848, 2799 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1713, 1663 (*t* C=O), 1593, 1558 (*t* C=C), 1462, 1413 ( $\delta$  NH), 1249 ( $\delta$  *sim* Si-CH<sub>3</sub>), 1078 (*t as* C-O-C) 859, 836 ( $\delta$  NH), 757 ( $\delta$  *oop* C-H), 687 ( $\delta$  C=C).

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 365.1 (5) [M]<sup>+</sup>, 292.0 (18) [M-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>, 248.0 (11) [M-C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>OSi]<sup>+</sup>, 124.0 (13) [C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>NS]<sup>+</sup>, 73.0 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>.



#### 4.9.3. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,1,3})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 130 mg (3.44 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.36 mmol) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyluracil (**24**{1,1,1}) and 642 mg (1.81 mmol) of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25**{3}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and chloroform (1:9, v/v) as eluent. 106 mg (0.25 mmol, 70%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,1,3}) were obtained as a white solid, mp 171-173 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 9.38 (br s, 1H, N-H), 7.51 (m, 2H, C13-H), 7.40 (m, 1H, C14-H), 5.60 (s, 2H, C7-H), 4.99 (d, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C5-H), 3.73 (m, 2H, C8-H), 1.01 (m, 2H, C9-H), 0.04 (s, 9H, C10-H).

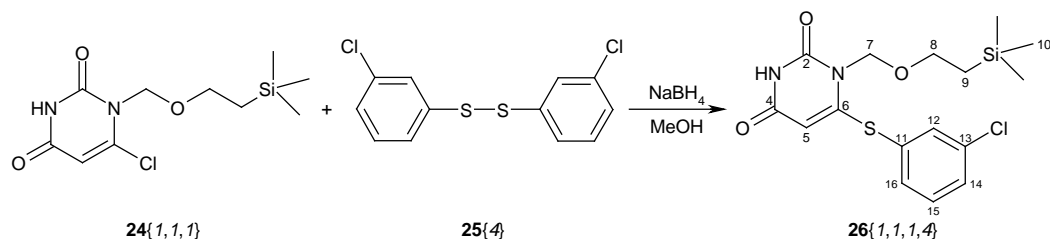
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 161.2 (C4), 156.4 (C6), 150.8 (C2), 141.7 (C12), 132.7 (C14), 129.4 (C13), 126.8 (C11), 98.9 (C5), 73.8 (C7), 67.1 (C8), 18.1 (C9), -1.2 (C10).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3186 (*t* N-H), 3038 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2953, 2895, 2803 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1717, 1690 (*t* C=O), 1669, 1569 (*t* C=C), 1429 (*δ ip* NH), 1248 (*δ sim* Si-CH<sub>3</sub>), 1086 (*t as* C-O-C), 837 (*δ oop* NH), 738 (*δ oop* C-H), 695 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>SSi: C: 45.82%, H: 4.81%, Cl: 16.91%, N: 6.68%, O: 11.44%, S: 7.65%, Si: 6.70%; Found: C: 45.92%, H: 4.86%, N: 6.67%, S: 7.60%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 418.0 (0.1) [M]<sup>+</sup>, 345.9 (19) [M-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>, 248.9 (11) [M-C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>OSi]<sup>+</sup>, 142.0 (7) [C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>ClS]<sup>+</sup>, 73.0 (9) [C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>.

#### 4.9.4. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,1,4})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 130 mg (3.44 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.36 mmol) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyluracil (**24**{1,1,1}) and 518 mg (1.81 mmol) of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25**{4}). The residue was washed with hexane to give 107 mg (0.28 mmol, 77%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,1,4}), as a white solid, mp 118-120 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.40 (br s, 1H, N-H), 7.51 (m, 4H, Ph), 5.52 (s, 2H, C7-H), 5.03 (d, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C5-H), 3.72 (m, 2H, C8-H), 1.01 (m, 2H, C9-H), 0.05 (s, 9H, C10-H).

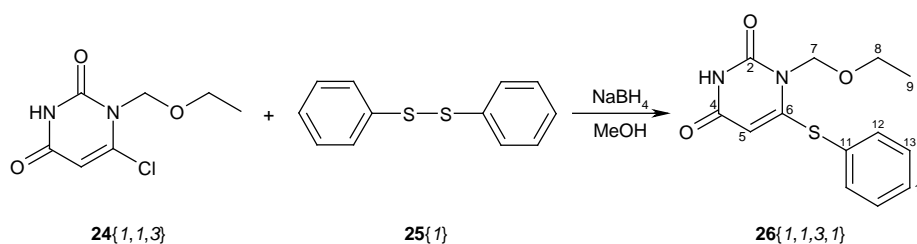
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 161.1 (C4), 159.4 (C6), 150.8 (C2), 135.8 (C13), 135.6 (C12)\*, 134.0 (C15)\*, 131.4 (C16)\*, 131.3 (C14)\*, 128.3 (C11), 99.5 (C5), 73.4 (C7), 67.3 (C8), 18.1 (C9), -1.3 (C10).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3184 (*t* N-H), 3036 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2953, 2894 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1717, 1691 (*t* C=O), 1668, 1566, 1402 (*t* C=C), 1448 (*δ ip* NH), 1248 (*δ sim* Si-CH<sub>3</sub>), 1085 (*t as* C-O-C), 859 (*δ oop* NH), 836, 782 (*γ* Si-CH<sub>3</sub>), 683 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>SSi: C: 49.92%, H: 5.50%, Cl: 9.21%, N: 7.28%, O: 12.47%, S: 8.33%, Si: 7.30%; Found: C: 50.03%, H: 5.48%, N: 7.18%, S: 8.47%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 384.0 (1) [M]<sup>+</sup>, 311.0 (66) [M-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>, 267.0 (9) [M-C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>OSi]<sup>+</sup>, 143.0 (8) [C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>ClS]<sup>+</sup>, 73.0 (21) [C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>.

#### 4.9.5. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(phenylthio)uracil (**26**{1,1,3,1})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 176 mg (4.65 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.49 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyluracil (**24**{1,1,3}) and 532 mg (2.44 mmol) of phenyl disulfide (**25**{1}). The residue was washed with hexane to give 114 mg (0.41 mmol, 84%) of 1-ethoxymethyl-6-(phenylthio)uracil (**26**{1,1,3,1}), as a white solid, mp 161-163 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.34 (br s, 1H, N-H), 7.43 (m, 5H, Ph), 5.55 (s, 2H, C7-H), 5.01 (d, <sup>4</sup>J = 1.8 Hz, 1H, C5-H), 3.71 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 1.28 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

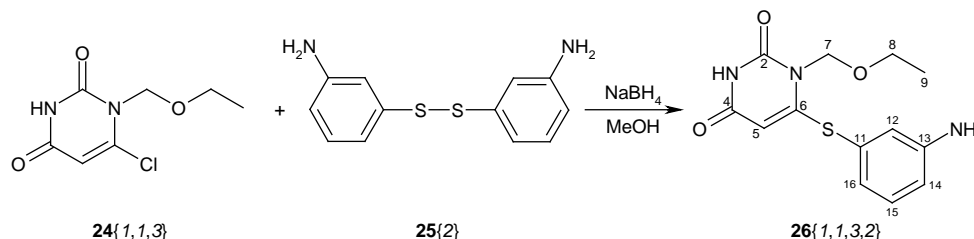
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 161.1 (C4), 160.4 (C6), 151.0 (C2), 136.0 (C13), 131.1 (C14), 130.3 (C12), 126.4 (C11), 99.1 (C5), 73.6 (C7), 65.3 (C8), 15.1 (C9).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3143 (*t* N-H), 3070, 3023 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2975, 2916, 2882, 2843, 2799 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1718, 1675 (*t* C=O), 1660, 1558, 1407 (*t* C=C), 1455 (*δ ip* NH), 1096 (*t as* C-O-C), 886 (*δ oop* NH), 756 (*δ oop* C-H), 693 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: C: 56.10%, H: 5.07%, N: 10.06%, O: 17.25%, S: 11.52%; Found: C: 56.14%, H: 4.99%, N: 10.05%, S: 11.46%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 278.0 (100) [M]<sup>+</sup>, 249.0 (18) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, 233.0 (30) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 219.0 (35) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 109.0 (10) [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>S]<sup>+</sup>.

#### 4.9.6. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)uracil (**26**{1,1,3,2})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 176 mg (4.65 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.49 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyluracil (**24**{1,1,3}) and 607 mg (2.44 mmol) of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25**{2}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of acetonitrile and dichloromethane (1:1, v/v) as eluent. 120.9 mg (0.41 mmol, 84%) of 1-ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)uracil (**26**{1,1,3,2}) were obtained as a pale yellow solid, mp 193-195 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 8.38 (br s, 1H, N-H), 7.24 (t, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, C15-H), 6.92 (ddd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, <sup>4</sup>J = 0.9 Hz, 1H, C16-H), 6.85 (t, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C12-H), 6.79 (ddd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, <sup>4</sup>J = 0.9 Hz, 1H, C14-H), 5.52 (s, 2H, C7-H), 5.16 (d, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C5-H), 3.83 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.75 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 1.28 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 161.0 (C4), 160.6 (C6), 151.0 (C2), 148.0 (C13), 131.0 (C15), 126.8 (C11), 125.5 (16), 121.5 (C12), 117.5 (C14), 98.8 (C5), 73.6 (C7), 65.3 (C8), 15.1 (C9).

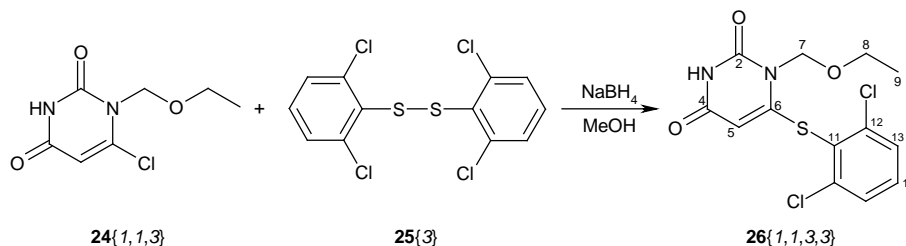
**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3416, 3335 (t NH<sub>2</sub>), 3125 (t N-H), 2979, 2901, 2841, 2800 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1713, 1669 (t C=O), 1594, 1558 (t C=C), 1461, 1409 ( $\delta$  NH), 1096 (t as C-O-C), 888 ( $\delta$  NH), 757 ( $\delta$  oop C-H), 686 ( $\delta$  C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S: C: 53.23%, H: 5.15%, N: 14.32%, O: 16.36%, S: 10.93%; Found: C: 53.71%, H: 5.24%, N: 14.19%, S: 10.70%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 293.0 (30) [M]<sup>+</sup>, 292.0 (35) [M-H]<sup>+</sup>, 234.0 (98) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 124.3 (8) [C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>NS]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S: 293.0834, [M]<sup>+</sup> Found: 293.0827.

#### 4.9.7. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,3,3})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 176 mg (4.65 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.49 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyluracil **24**{1,1,3} and 868 mg (2.44 mmol) of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25**{3}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (1:2, v/v) as eluent. 87 mg (0.25 mmol, 51%) of 1-ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,3,3}) were obtained as a white solid, mp 165-167 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 9.47 (br s, 1H, N-H), 7.52 (m, 2H, C13-H), 7.41 (m, 1H, C14-H), 5.62 (s, 2H, C7-H), 5.00 (s, 1H, C5-H), 3.71 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 1.28 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 161.1 (C4), 156.4 (C6), 150.9 (C2), 141.7 (C12), 132.7 (C14), 129.4 (C13), 126.7 (C11), 99.0 (C5), 74.1 (C7), 65.0 (C8), 15.2 (C9).

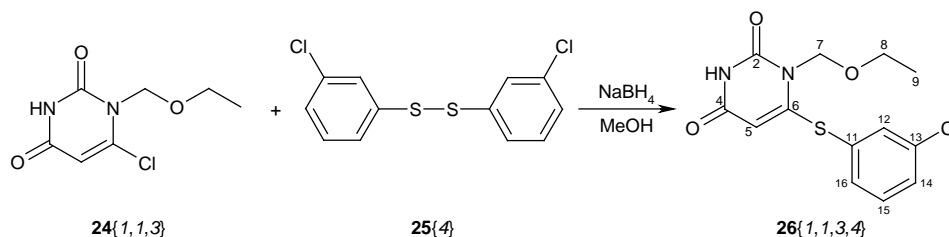
**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3165 (*t* N-H), 3039 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2969, 2930, 2888, 2841 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1692 (*t* C=O), 1579, 1566, 1427, 1411 (*t* C=C), 1443 (*δ ip* NH), 1190, 1164 (*t* C-Cl), 1097 (*t as* C-O-C), 877 (*δ oop* NH), 790 (*δ oop* C-H), 660 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: C: 44.97%, H: 3.48%, Cl: 20.42%, N: 8.07%, O: 13.82%, S: 9.23%; Found: C: 45.39%, H: 3.55%, N: 8.22%, S: 8.99%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 346.0 (14) [M]<sup>+</sup>, 311.0 (100) [M-Cl]<sup>+</sup>, 142.0 (25) [C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>ClS]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: 345.9946, [M]<sup>+</sup>, Found: 345.9953.

#### 4.9.8. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,3,4})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 176 mg (4.65 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.49 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyluracil (**24**{1,1,3}) and 700 mg (2.44 mmol) of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25**{4}). The residue was washed with hexane to give 126 mg (0.40 mmol, 82%) of 1-ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,3,4}), as a white solid, mp 132-134 °C.

##### Spectroscopic data:

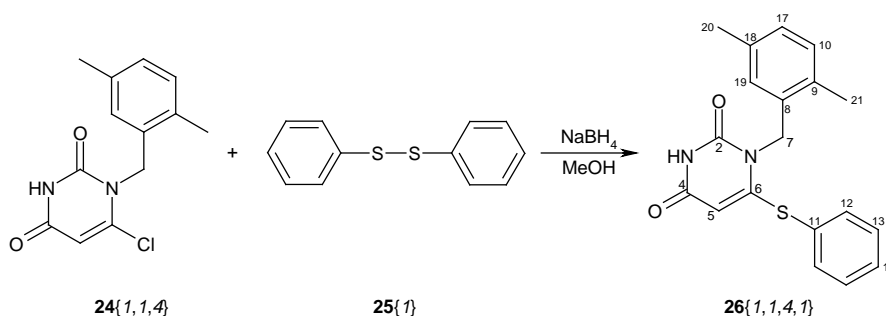
**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 8.41 (br s, 1H, N-H), 7.59 (m, 1H, C12-H), 7.47 (m, 3H, C14-H, C15-H, C16-H), 5.53 (s, 2H, C7-H), 5.05 (d, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, 1H, C5-H), 3.69 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 1.27 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 160.9 (C4), 159.3 (C6), 150.9 (C2), 135.9 (C13), 135.5 (C12)\*, 133.9 (C15)\*, 131.4 (C16)\*, 131.4 (C14)\*, 128.3 (C11), 99.7 (C5), 73.7 (C7), 65.3 (C8), 15.1 (C9).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3125 (*t* N-H), 3062 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2981, 2925, 2892, 2839, 2794 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1723, 1658 (*t* C=O), 1562, 1551, 1404 (*t* C=C), 1454 ( $\delta$  *ip* NH), 1096 (*t* *as* C-O-C), 906 ( $\delta$  *oop* NH), 781 ( $\delta$  *oop* C-H), 684 ( $\delta$  C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: C: 49.92%, H: 4.19%, Cl: 11.34%, N: 8.96%, O: 15.35%, S: 10.25%; Found: C: 49.94%, H: 4.04%, N: 8.66%, S: 10.17%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 312.0 (100) [M]<sup>+</sup>, 266.0 (54) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH]<sup>+</sup>, 253.0 (38) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 143.0 (28) [C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>ClS]<sup>+</sup>, 108.0 (48) [C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>S]<sup>+</sup>.

4.9.9. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(phenylthio)uracil (**26**{1,1,4,1})

The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 136 mg (3.58 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.38 mmol) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)uracil (**24**{1,1,4}) and 410 mg (1.88 mmol) of diphenyl disulfide (**25**{1}). The residue was washed with hexane to give 116 mg (0.34 mmol, 91%) of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(phenylthio)uracil (**26**{1,1,4,1}), as a white solid, mp 241-243 °C.

**Spectroscopic data:**

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.34 (br s, 1H, N-H), 7.47 (m, 5H, Ph), 7.10 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, C10-H), 7.03 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, C17-H), 6.74 (s, 1H, C19-H), 5.24 (s, 2H, C7-H), 5.03 (s, 1H, C5-H), 2.36 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.33 (s, 3H, C20-H or C21-H).

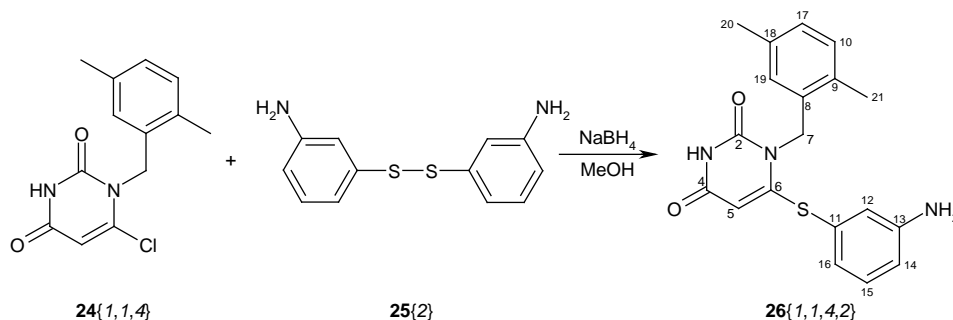
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 161.3 (C4), 160.9 (C6), 150.9 (C2), 136.0 (C13), 135.9 (C8)\*\*, 132.6 (C18)\*\*, 131.5 (C9)\*\*, 131.2 (C14), 130.4 (C10)\*, 130.3 (C12), 128.1 (C19)\*, 126.1 (C11), 124.6 (C17)\*, 98.4 (C5), 45.8 (C7), 21.4 (C20), 18.7 (C21).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3124 (*t* N-H), 3064, 3000 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2905, 2841, 2799 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1717, 1650 (*t* C=O), 1557, 1412 (*t* C=C), 1458 (*δ ip* NH), 813 (*δ oop* NH), 749 (*δ oop* C-H), 688 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: C: 67.43%, H: 5.36%, N: 8.28%, O: 9.46%, S: 9.48%; Found: C: 67.68%, H: 5.22%, N: 8.17%, S: 9.61%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 338.1 (45) [M]<sup>+</sup>, 229.1 (12) [M-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>S]<sup>+</sup>, 119.0 (100) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>.

#### 4.9.10. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzil)-6-(3-aminotiofenol)uracil (**26**{1,1,4,2})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 136 mg (3.60 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.38 mmol) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)uracil (**24**{1,1,4}) and 469 mg (1.89 mmol) of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25**{2}). The residue was washed with methanol to give 49 mg (0.14 mmol, 37%) of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-aminophenylthio)uracil (**26**{1,1,4,2}), as a white solid, mp > 288 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm): 11.43 (br s, 1H, N-H), 7.18 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, C15-H), 7.11 (d, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 1H, C10-H), 7.00 (d, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 1H, C17-H), 6.68 (m, 4H, C12-H, C14-H, C16-H i C19-H), 5.52 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.07 (s, 2H, C7-H), 4.84 (d, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C5-H), 2.28 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.26 (s, 3H, C20-H or C21-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm): 160.7 (C4), 159.3 (C6), 150.7 (C2), 150.4 (C13), 135.0 (C8)\*\*, 133.6 (C18)\*\*, 131.3 (C9)\*\*, 130.7 (C15)\*, 130.1 (C10)\*, 127.4 (C19)\*, 126.1 (C11), 124.0 (C17)\*, 121.7 (C16)\*, 119.4 (C12)\*, 116.1 (C14)\*, 97.5 (C5), 45.2 (C7), 21.0 (C20), 18.2 (C21).

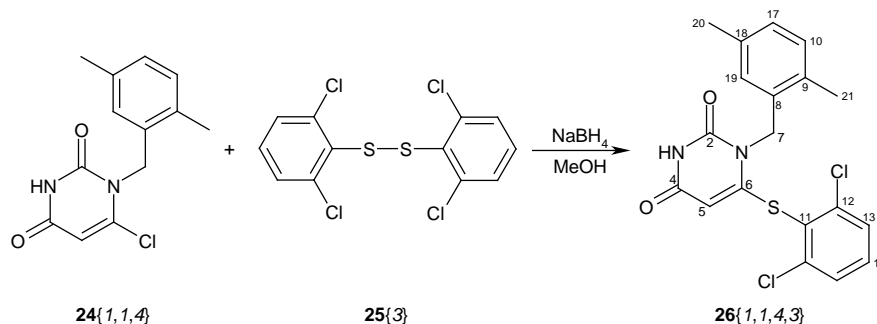
**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3425, 3346 (t NH<sub>2</sub>), 3126 (t N-H), 2990 (t Csp<sup>2</sup>-H), 2922, 2847, 2800 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1710, 1660 (t C=O), 1592, 1558 (t C=C), 1468, 1419 (δ NH), 814, 784 (δ oop NH), 755 (δ oop C-H), 688 (δ C=C).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 353.1 (46) [M]<sup>+</sup>, 234.0 (32) [M-C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>, 119.2 (100) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S: 353.1198, [M]<sup>+</sup>, Found: 353.1190.



#### 4.9.11. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(2,6-dichlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,4,3})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but at reflux for 16 h and carried out by using 136 mg (3.60 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.38 mmol) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)uracil (**24**{1,1,4}) and 673 mg (1.89 mmol) of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25**{3}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and chloroform (1:9, v/v) as eluent. 105 mg (0.26 mmol, 68%) of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(2,6-dichlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,4,3}) were obtained as a white solid, dp 265-267 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm): 8.51 (br s, 1H, N-H), 7.50 (m, 2H, C13-H), 7.40 (m, 1H, C14-H), 7.10 (d, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, C10-H), 7.02 (d, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, C17-H), 6.84 (s, 1H, C19-H), 5.27 (s, 2H, C7-H), 4.92 (s, 1H, C5-H), 2.37 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.30 (s, 3H, C20-H or C21-H).

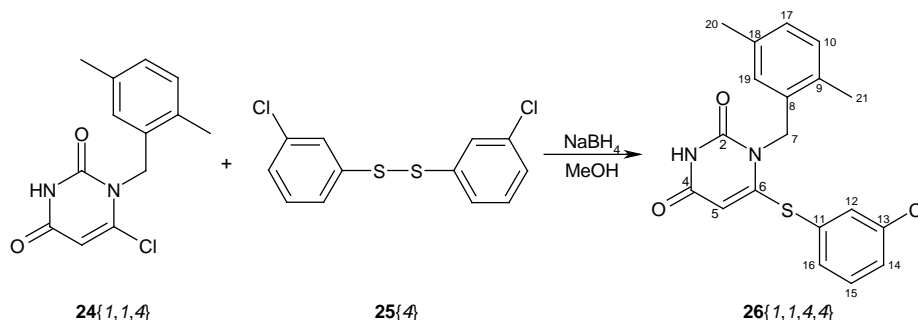
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm): 160.9 (C4), 156.6 (C6), 150.5 (C2), 142.1 (C12), 135.8 (C8)\*\*, 133.1 (C14), 132.3 (C18)\*\*, 131.5 (C9)\*\*, 130.4 (C10)\*, 129.5 (C13), 128.2 (C19)\*, 125.4 (C11), 124.8 (C17)\*, 97.1 (C5), 46.2 (C7), 21.3 (C20), 18.8 (C21).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3121 (*t* N-H), 3067, 3017 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2958, 2923, 2898, 2845, 2804 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1711, 1662 (*t* C=O), 1559, 1422, 1409 (*t* C=C), 1452 (*δ ip* NH), 858 (*δ oop* NH), 797 (*δ oop* C-H), 706 (*δ* C=C).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 406.1 (2) [M]<sup>+</sup>, 371.1 (5) [M - Cl]<sup>+</sup>, 229.1 (1) [M - C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>S]<sup>+</sup>, 119.2 (100) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>S: 406.0298, [M]<sup>+</sup>, Found: 406.0310.

#### 4.9.12. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-chlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,4,4})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 136 mg (3.60 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.38 mmol) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)uracil (**24**{1,1,4}) and 540 mg (1.89 mmol) of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25**{4}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (1:1, v/v) as eluent. 118 mg (0.32 mmol, 84%) of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-chlorophenylthio)uracil (**26**{1,1,4,4}) were obtained as a white solid, mp 240-241 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 9.42 (br s, 1H, N-H), 7.48 (m, 1H, C12-H), 7.39 (m, 3H, C14-H, C15-H, C16-H), 7.09 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H, C10-H), 7.02 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H, C17-H), 6.71 (s, 1H, C19-H), 5.23 (s, 2H, C7-H), 5.08 (d, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C5-H), 2.34 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.32 (s, 3H, C20-H or C21-H).

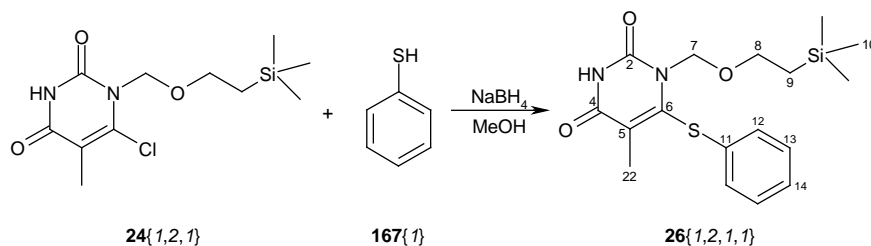
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 161.1 (C4), 159.4 (C6), 150.8 (C2), 136.0 (C13)\*\*, 135.9 (C8)\*\*, 135.5 (C12)\*, 133.9 (C15)\*, 132.5 (C18)\*\*, 131.5 (C16)\*, 131.4 (C9)\*, 131.3 (C14)\*, 130.5 (C10)\*, 128.2 (C19)\*, 127.9 (C11), 124.6 (C17)\*, 99.1 (C5), 45.9 (C7), 21.4 (C20), 18.7 (C21).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3190, 3117 (*t* N-H), 3062, 3001 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2950, 2913, 2847, 2805 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1718, 1655 (*t* C=O), 1557, 1501, 1413 (*t* C=C), 1460 (*δ ip* NH), 900 (*δ oop* NH), 781 (*δ oop* C-H), 680 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>ClS: C: 61.20%, H: 4.60%, Cl: 9.51%, N: 7.51%, O: 8.58%, S: 8.60%; Found: C: 6.21%, H: 4.83%, N: 7.44%, S: 8.20%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 372.1 (2) [M]<sup>+</sup>, 229.0 (74) [M-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>ClS]<sup>+</sup>, 119.1 (100) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>.

#### 4.9.13. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyl-6-(phenylthio)uracil (**26**{1,2,1,1})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 248 mg (6.53 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.38 mmol) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,1}) and 378 mg (3.43 mmol) of thiophenol (**167**{1}). The residue was washed with pentane to give 105 mg (0.30 mmol, 79%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(phenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,1,1}) as a white solid, mp 84-85 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.59 (br s, 1H, N-H), 7.27 (m, 5H, Ph), 5.53 (s, 2H, C7-H), 5.00 (d, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, C5-H), 3.60 (m, 2H, C8-H), 2.03 (s, 3H, C22-H), 0.87 (m, 2H, C9-H), 0.01 (s, 9H, C10-H).

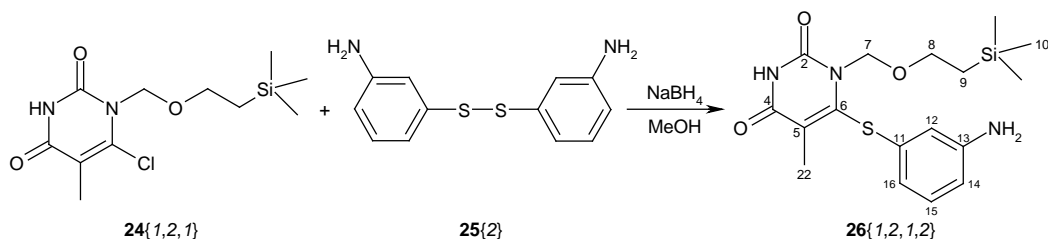
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.3 (C4), 150.8 (C2), 146.4 (C6), 132.8 (C11), 129.6 (C13), 127.9 (C12), 127.2 (C14), 119.6 (C5), 74.4 (C7), 66.7 (C8), 18.1 (C9), 14.0 (C22), -1.3 (C10).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3182 (*t* N-H), 3053 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2953, 2922, 2895, 2827 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1710, 1685 (*t* C=O), 1583 (*t* C=C), 1441 (*δ ip* NH), 1249 (*δ sim* Si-CH<sub>3</sub>), 1085 (*t as* C-O-C), 837 (*δ oop* NH), 741 (*δ oop* C-H), 689 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>SSi: C: 56.01%, H: 6.64%, N: 7.68%, O: 13.17%, S: 8.80%, Si: 7.70%; Found: C: 56.27%, H: 6.75%, N: 7.63%, S: 8.74%.

**MS (70 eV, EI):** *m/z* (%) = 291.0 (21) [M-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>, 109.0 (22) [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>S]<sup>+</sup>, 73.0 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>.

#### 4.9.14. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,1,2})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 124 mg (3.27 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.34 mmol) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,1}) and 427 mg (1.72 mmol) of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25**{2}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of acetonitrile and dichloromethane (1:3, v/v) as eluent. 105 mg (0.28 mmol, 81%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,1,2}) were obtained as a white solid, mp 169-171 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 10.34 (br s, 1H, N-H), 7.27 (t, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, C15-H), 6.75 (m, 3H, C12-H, C14-H, C16-H), 5.70 (s, 2H, C7-H), 4.12 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.82 (m, 2H, C8-H), 2.25 (s, 3H, C22-H), 1.10 (m, 2H, C9-H), 0.20 (s, 9H, C10-H).

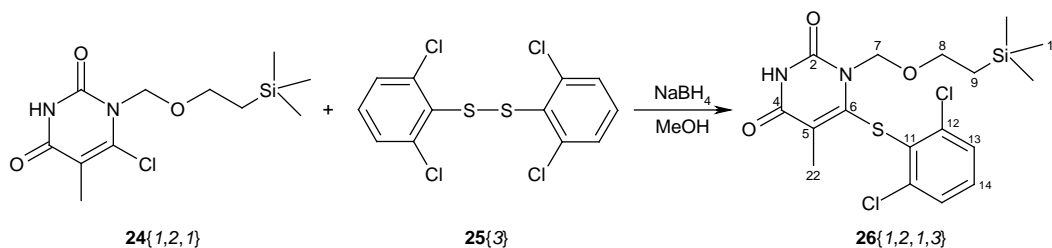
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.7 (C4), 151.1 (C2), 147.5 (C6), 146.2 (C13), 133.4 (C11), 130.3 (C15), 119.7 (C5), 117.4 (C16), 113.9 (C12), 113.4 (C14), 74.3 (C7), 66.6 (C8), 18.1 (C9), 13.9 (C22), -1.3 (C10).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3464, 3367 (*t* NH<sub>2</sub>), 3182 (*t* N-H), 3040 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2953, 2924, 2895, 2830 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1688, 1627 (*t* C=O), 1592 (*t* C=C), 1482, 1450 (*δ* NH), 1249 (*δ sim* Si-CH<sub>3</sub>), 1083 (*t as* C-O-C) 858, 837 (*δ* NH), 765 (*δ oop* C-H), 689 (*δ* C=C).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 379.3 (12) [M]<sup>+</sup>, 306.2 (39) [M-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>, 124.0 (12) [C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>NS]<sup>+</sup>, 73.0 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>SSi: 379.1386, [M]<sup>+</sup>, Found: 379.1375.

#### 4.9.15. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(2,6-dichloro-thiofenol)-5-methyluracil (**26**{1,2,1,3})



The procedure was the same as that stated above for **126** 1,1,1,1}, but carried out by using 124 mg (3.27 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.34 mmol) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,1}) and 612 mg (1.72 mmol) of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25**{3}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (1:4, v/v) as eluent. 59 mg (0.14 mmol, 40%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,1,3}) were obtained as a white solid, mp 176-177 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.98 (br s, 1H, N-H), 7.39 (m, 2H, C13-H), 7.24 (m, 1H, C14-H), 5.76 (s, 2H, C7-H), 3.64 (m, 2H, C8-H), 1.62 (s, 3H, C22-H), 0.97 (m, 2H, C9-H), 0.03 (s, 9H, C10-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 161.9 (C4), 150.4 (C2), 148.3 (C6), 138.5 (C12), 130.3 (C11), 130.2 (C14), 129.1 (C13), 115.6 (C5), 74.3 (C7), 66.6 (C8), 18.1 (C9), 12.9 (C22), -1.3 (C10).

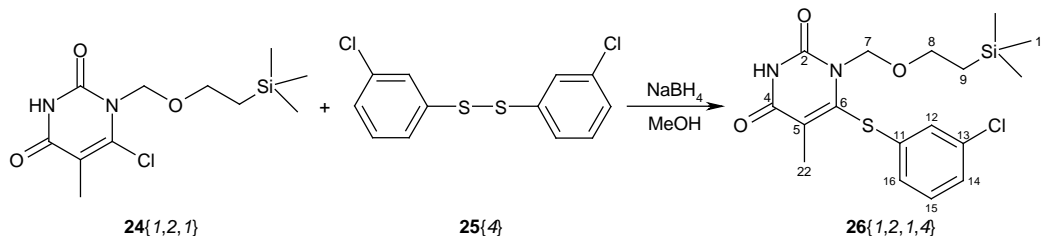
**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3160 (*t* N-H), 3021 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2960, 2927, 2899, 2858, 2831 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1714, 1663 (*t* C=O), 1586, 1555, 1424 (*t* C=C), 1460 (*δ ip* NH), 1249 (*δ sim* Si-CH<sub>3</sub>), 1081 (*t as* C-O-C), 863, 835 (*γ* Si-CH<sub>3</sub>), 776 (*δ oop* C-H).

**Anal.:** calculated for C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>SSi: C: 47.11 %, H: 5.12%, Cl: 16.36%, N: 6.46%, O: 11.07%, S: 7.40%, Si: 6.48%; Found: C: 47.53%, H: 5.43%, N: 6.39%, S: 7.62%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 358.9 (6) [M-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>, 141.9 (23) [C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>ClS]<sup>+</sup>, 73.0 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>.

**HRMS (FAB):** calculated for C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>SSi: 433.0576, [M]<sup>+</sup> Found: 433.0588.

#### 4.9.16. Synthesis of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,1,4})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 124 mg (3.27 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.34 mmol) of 6-chloro-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,1}) and 494 mg (1.72 mmol) of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25**{4}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (1:3, v/v) as eluent. 136 mg (0.34 mmol, 99%) of 1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,1,4}) were obtained as a white solid, mp 98-100 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 9.29 (br s, 1H, N-H), 7.24 (m, 3H, Ph), 7.09 (m, 1H, Ph), 5.53 (s, 2H, C7-H), 3.60 (m, 2H, C8-H), 2.05 (s, 3H, C22-H), 0.86 (m, 2H, C9-H), 0.01 (s, 9H, C10-H).

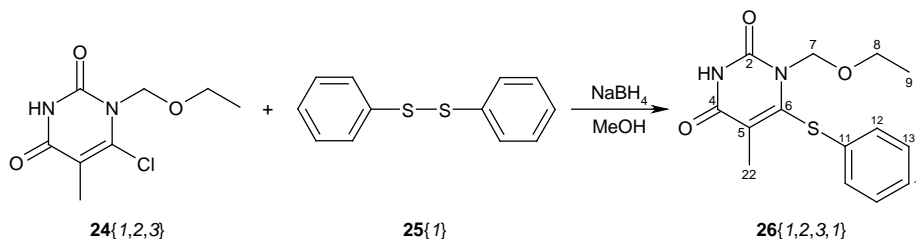
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.2 (C4), 150.8 (C2), 145.2 (C6), 135.4 (C13)\*\*, 134.7 (C11)\*\*, 130.6 (C12)\*, 127.4 (C15)\*, 127.3 (C16)\*, 125.7 (C14)\*, 120.3 (C5), 74.5 (C7), 66.8 (C8), 18.1 (C9), 14.0 (C22), -1.3 (C10).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3155 (*t* N-H), 3018 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2953, 2923, 2894, 2862, 2837 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1715, 1693 (*t* C=O), 1591, 1575, 1426 (*t* C=C), 1461 (*δ ip* NH), 1250 (*δ sim* Si-CH<sub>3</sub>), 1086 (*t as* C-O-C), 836, 755 (*γ* Si-CH<sub>3</sub>), 772 (*δ oop* C-H), 677 (*δ* C=C).

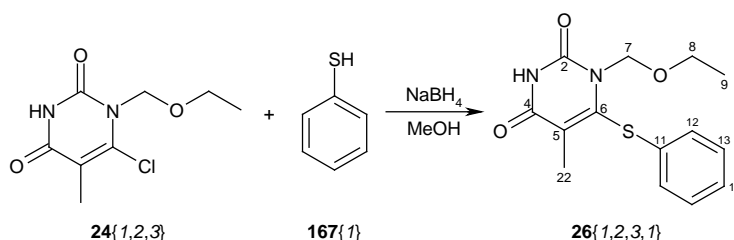
**Anal.:** calculated for C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>SSi: C: 51.18%, H: 5.81%, Cl: 8.89%, N: 7.02%, O: 12.03%, S: 8.04%, Si: 7.04%; Found: C: 51.43%, H: 5.78%, N: 7.21%, S: 8.26%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 325.0 (44) [M-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>, 281.0 (10) [M-C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>OSi]<sup>+</sup>, 108.0 (3) [C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>S]<sup>+</sup>, 73.0 (13) [C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>Si]<sup>+</sup>.

#### 4.9.17. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(phenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,1})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 165 mg (4.36 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.47 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,3}) and 500 mg (2.29 mmol) of diphenyl disulfide (**25**{1}). The residue was washed with hexane to give 102 mg (0.35 mmol, 76%) of 1-ethoxymethyl-6-(phenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,1}), as a white solid, mp 132-133 °C.



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 1.98 g (52.1 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 30 mL of MeOH, 600 mg (2.74 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,3}) and 3.0 g (2.80 mL, 27.4 mmol) of thiophenol (**167**{1}). The residue was washed with hexane to give 708 mg (2.41 mmol, 88%) of 1-ethoxymethyl-6-(phenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,1}), as a white solid, mp 132-133 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.56 (br s, 1H, N-H), 7.30 (m, 5H, Ph), 5.57 (s, 2H, C7-H), 3.61 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 2.06 (s, 3H, C22-H), 1.17 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.3 (C4), 151.0 (C2), 146.2 (C6), 132.7 (C11), 129.6 (C13), 127.9 (C12), 127.2 (C14), 119.8 (C5), 74.7 (C7), 64.8 (C8), 15.0 (C9), 14.0 (C22).

**NOESY (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): (Ph, C7-H), (Ph, C22-H), (C7-H, C8-H).

**IR (film):  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>):** 3178 (*t* N-H), 3049 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2977, 2928, 2881, 2824 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1708, 1680 (*t* C=O), 1582 (*t* C=C), 1441 ( $\delta$  *ip* NH), 1094 (*t* *as* C-O-C), 853 ( $\delta$  *oop* NH), 742 ( $\delta$  *oop* C-H), 689 ( $\delta$  C=C).

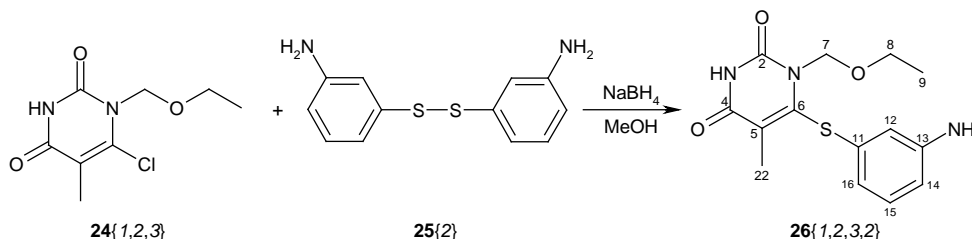
**Anal.:** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: C: 57.52%, H: 5.52%, N: 9.58%, O: 16.42%, S: 10.97%; Found: C: 57.82%, H: 5.59%, N: 9.49%, S: 10.89%.

**MS (70 eV, EI): *m/z* (%) =** 291.9 (64) [M]<sup>+</sup>, 246.8 (26) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 232.8 (100) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 109.0 (74) [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>S]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI-TOF):** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub>S: 315.0774, [M+Na]<sup>+</sup>, Found: 315.0785.



#### 4.9.18. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil (26{1,2,3,2})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 495 mg (13.1 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 15 mL of MeOH, 300 mg (1.37 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,3}) and 1.70 g (6.87 mmol) of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25**{2}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (2:1, v/v) as eluent. 159 mg (0.52 mmol, 38%) of 1-ethoxymethyl-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,2}) were obtained as a white solid, mp 143-144 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.49 (br s, 1H, N-H), 7.08 (t, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, C15-H), 6.54 (m, 3H, C12-H, C14-H, C16-H), 5.52 (s, 2H, C7-H), 3.73 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.60 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 2.07 (s, 3H, C22-H), 1.17 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

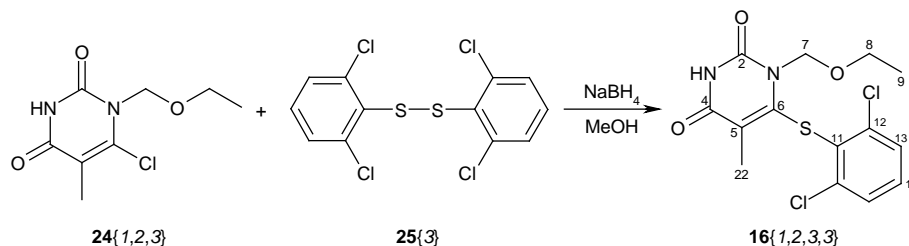
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.4 (C4), 151.0 (C2), 147.5 (C6), 146.1 (C13), 133.4 (C11), 130.4 (C15), 119.9 (C5), 117.6 (C16), 114.0 (C12), 113.5 (C14), 74.6 (C7), 64.8 (C8), 15.1 (C9), 14.0 (C22).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3463, 3372 (t NH<sub>2</sub>), 3151 (t N-H), 3014 (t Csp<sup>2</sup>-H) 2977, 2923, 2878, 2820 (t Csp<sup>3</sup>-H), 1703, 1646 (t C=O), 1591 (t C=C), 1482, 1450, 1420 (δ NH), 1093 (t as C-O-C), 893, 854 (δ NH), 764 (δ oop C-H), 682 (δ C=C).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 307.1 (26) [M]<sup>+</sup>, 248.0 (59) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S: 307.0990, [M]<sup>+</sup>, Found: 307.0988.

#### 4.9.19. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,3})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but at reflux and carried out by using 165 mg (4.36 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.46 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,3}) and 815 mg (2.29 mmol) of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25**{3}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and chloroform (1:9, v/v) as eluent. 115 mg (0.32 mmol, 70%) of 1-ethoxymethyl-6-(2,6-dichlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,3}) were obtained as a white solid, mp 206-207 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 9.41 (br s, 1H, N-H), 7.39 (m, 2H, C13-H), 7.24 (m, 1H, C14-H), 5.78 (s, 2H, C7-H), 3.62 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 1.64 (s, 3H, C22-H), 1.23 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

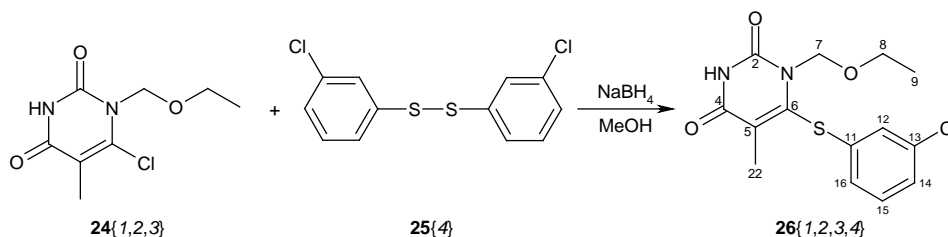
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 162.0 (C4), 150.6 (C2), 148.1 (C6), 138.5 (C12), 130.19 (C11), 130.17 (C14), 129.1 (C13), 115.7 (C5), 74.7 (C7), 64.6 (C8), 15.1 (C9), 12.9 (C22).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3158, 3089 (*t* N-H), 3016 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2969, 2916, 2885, 2835 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1705, 1665 (*t* C=O), 1585, 1555, 1425 (*t* C=C), 1463 ( $\delta$  *ip* NH), 1096 (*t* as C-O-C), 885 ( $\delta$  *oop* NH), 777 ( $\delta$  *oop* C-H).

**Anal.:** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: C: 46.55%, H: 3.91%, Cl: 19.63%, N: 7.75%, O: 13.29%, S: 8.88%; Found: C: 46.61%, H: 3.83%, N: 7.61%, S: 8.50%.

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 360.0 (17) [M]<sup>+</sup>, 325.0 (35) [M-Cl]<sup>+</sup>, 141.9 (98) [C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>ClS]<sup>+</sup>.

#### 4.9.20. Synthesis of 1-ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,4})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 165 mg (4.36 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.46 mmol) of 6-chloro-1-ethoxymethyl-5-methyluracil (**24**{1,2,3}) and 657 mg (2.29 mmol) of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25**{4}). The residue was washed with pentane to give 128 mg (0.39 mmol, 86%) of 1-ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,4}), as a white solid, mp 126-127 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.57 (br s, 1H, N-H), 7.22 (m, 3H, Ph), 7.10 (m, 1H, Ph), 5.53 (s, 2H, C7-H), 3.58 (q, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 2H, C8-H), 2.06 (s, 3H, C22-H), 1.13 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 3H, C9-H).

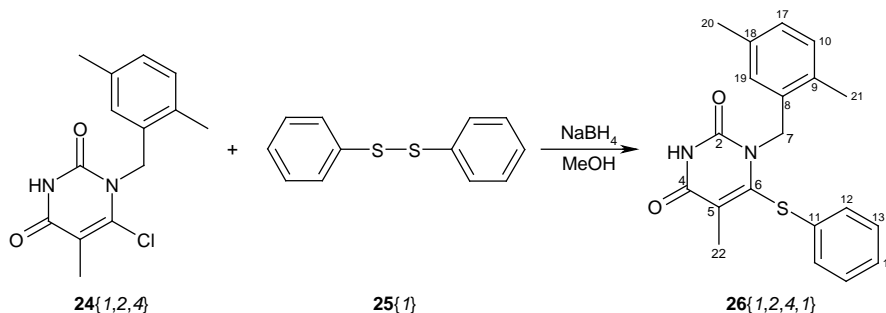
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.3 (C4), 151.0 (C2), 145.1 (C6), 135.4 (C13)\*\*, 134.6 (C11)\*\*, 130.5 (C12)\*, 127.4 (C15)\*, 127.3 (C16)\*, 125.7 (C14)\*, 120.5 (C5), 74.8 (C7), 64.9 (C8), 15.0 (C9), 14.0 (C22).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3146, 3117, 3081 (*t* N-H), 3020 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2975, 2931, 2890, 2865, 2820 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1713, 1686 (*t* C=O), 1586, 1574, 1565, 1418 (*t* C=C), 1453 (*δ ip* NH), 1094 (*t as* C-O-C), 884 (*δ oop* NH), 774 (*δ oop* C-H), 682 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: C: 51.45%, H: 4.63%, Cl: 10.85%, N: 8.57%, O: 14.69%, S: 9.81%; Found: C: 51.38%, H: 4.49%, N: 8.44%, S: 9.65%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 326.0 (100) [M]<sup>+</sup>, 267.0 (33) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 143.0 (4) [C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>ClS]<sup>+</sup>, 108.0 (48) [C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>S]<sup>+</sup>.

#### 4.9.21. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(phenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,4,1})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 129 mg (3.40 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.36 mmol) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,4}) and 390 mg (1.79 mmol) of diphenyl disulfide (**25**{1}). The residue was washed with hexane to give 101 mg (0.29 mmol, 80%) of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(phenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,4,1}), as a white solid, mp 216-217 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.69 (br s, 1H, N-H), 7.24 (m, 3H, C14-H, C12-H or C13-H), 7.09 (m, 2H, C12-H or C13-H), 7.01 (d, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, C10-H), 6.93 (d, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, C17-H), 6.52 (s, 1H, C19-H), 5.24 (s, 2H, C7-H), 2.23 (s, 6H, C20-H, C21-H), 2.11 (s, 3H, C22-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.5 (C4), 150.9 (C2), 146.7 (C6), 135.6 (C8)\*\*, 134.1 (C11), 132.3 (C18)\*\*, 131.3 (C9)\*\*, 130.2 (C10)\*, 129.6 (C13), 127.7 (C19)\*, 127.6 (C12), 127.3 (C14)\*, 124.8 (C17)\*, 119.7 (C5), 47.3 (C7), 21.3 (C20), 18.7 (C21), 14.4 (C22).

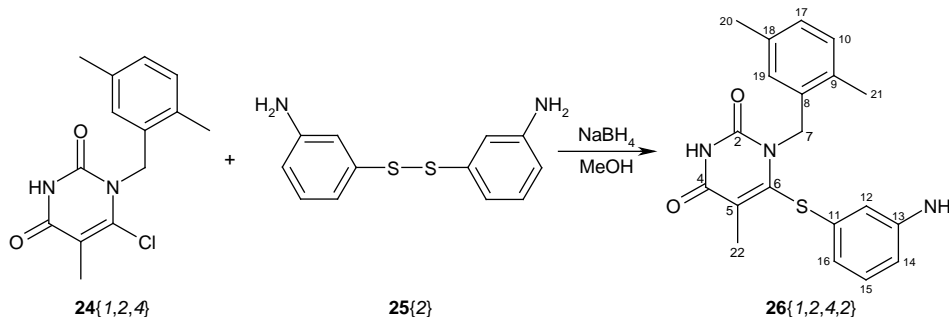
**NOESY (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): (C7-H, C13-H), (C7-H, C12-H).

**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3166 (*t* N-H), 3021 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2921, 2858, 2825 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1683 (*t* C=O), 1582, (*t* C=C), 1452 (*δ ip* NH), 855 (*δ oop* NH), 740 (*δ oop* C-H).

**Anal.:** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: C: 68.16%, H: 5.72%, N: 7.95%, O: 9.08%, S: 9.10%; Found: C: 67.85%, H: 5.69%, N: 7.94%, S: 8.90%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 352.2 (9) [M]<sup>+</sup>, 243.2 (2) [M-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>S]<sup>+</sup>, 233.2 (2) [M-C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>, 119.0 (100) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>.

#### 4.9.22. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,4,2})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 129 mg (3.40 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.36 mmol) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,4}) and 445 mg (1.79 mmol) of bis(3-aminophenyl) disulfide (**25**{2}). The residue was washed with methanol to give 102 mg (0.28 mmol, 78%) of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-aminophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,4,2}), as a white solid.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 8.47 (br s, 1H, N-H), 7.05 (m, 2H, C15-H, C10-H), 6.95 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, C17-H), 6.51 (m, 3H, C12-H, C16-H, C19-H), 6.332 (m, 1H, C14-H), 5.22 (s, 2H, C7-H), 3.70 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.25 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.24 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.13 (s, 3H, C22-H).

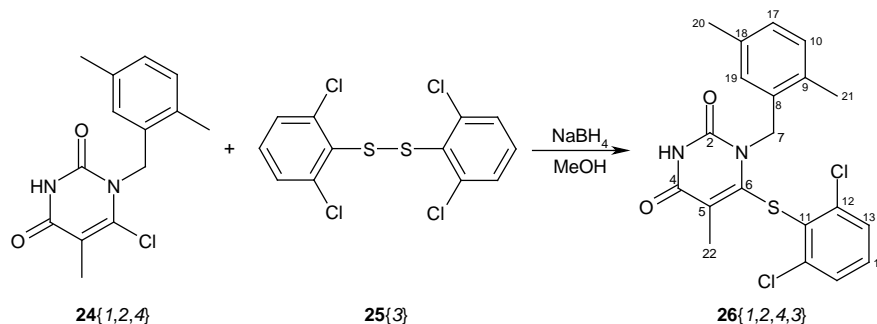
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 162.0 (C4), 150.5 (C2), 147.5 (C6), 146.8 (C13), 135.6 (C8)\*\*, 134.2 (C11), 133.0 (C18)\*\*, 131.4 (C9)\*\*, 130.4 (C15)\*, 130.3 (C10)\*, 127.7 (C19)\*, 124.8 (C17)\*, 119.6 (C5), 117.6 (C16), 114.2 (C12), 113.3 (C14), 47.3 (C7), 21.4 (C20), 18.8 (C21), 14.4 (C22).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3449, 3368 (*t* NH<sub>2</sub>), 3146 (*t* N-H), 3016 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2914, 2828 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1683 (*t* C=O), 1630, 1591 (*t* C=C), 1456, 1417 ( $\delta$  NH), 881 ( $\delta$  *oop* NH), 742 ( $\delta$  *oop* C-H), 688 ( $\delta$  C=C).

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 367.2 (30) [M]<sup>+</sup>, 248.0 (28) [M-C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>, 119.1 (100) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S: 367.1354, [M]<sup>+</sup>, Found: 367.1355.

#### 4.9.23. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(2,6-dichlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,4,3})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but at reflux for 16 h and carried out by using 129 mg (3.40 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.36 mmol) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,4}) and 637 mg (1.79 mmol) of bis(2,6-dichlorophenyl) disulfide (**25**{3}). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and chloroform (1:9, v/v) as eluent. 140 mg (0.33 mmol, 93%) of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(2,6-dichlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,4,3}) were obtained as a white solid, mp 275-276 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.37 (br s, 1H, N-H), 7.31 (m, 2H, C13-H), 7.13 (m, 1H, C14-H), 7.02 (d, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, C10-H), 6.94 (d, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, C17-H), 6.55 (s, 1H, C19-H), 5.46 (s, 2H, C7-H), 2.30 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.27 (s, 3H, C20-H or C21-H), 1.80 (s, 3H, C22-H).

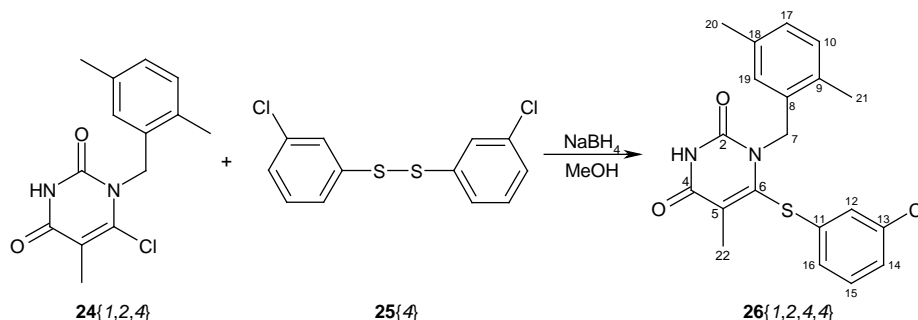
**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.1 (C4), 150.6 (C2), 148.3 (C6), 138.5 (C12), 135.7 (C8)\*\*, 133.7 (C18)\*\*, 131.4 (C9)\*\*, 130.33 (C14)\*, 130.27 (C10)\*, 129.4 (C11), 129.1 (C13), 127.9 (C19)\*, 124.7 (C17)\*, 116.1 (C5), 47.9 (C7), 21.3 (C20), 18.7 (C21), 13.5 (C22).

**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3154 (*t* N-H), 3028 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2958, 2919, 2854, 2816 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1694, 1669 (*t* C=O), 1589, 1556, 1429, 1419 (*t* C=C), 1456 (*δ ip* NH), 870 (*δ oop* NH), 779 (*δ oop* C-H), 745 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: C: 57.01%, H: 4.31%, Cl: 16.83%, N: 6.65%, O: 7.59%, S: 7.61%; Found: C: 57.27%, H: 4.70%, N: 6.43%, S: 7.25%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 176.9 (10) [C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>S]<sup>+</sup>, 119.1 (100) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>, 91.0 (15) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup>.

#### 4.9.24. Synthesis of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,4,4})



The procedure was the same as that stated above for **26**{1,1,1,1}, but carried out by using 129 mg (3.40 mmol) of NaBH<sub>4</sub>, 5 mL of MeOH, 100 mg (0.36 mmol) of 6-chloro-1-(2,5-dimethylbenzyl)-5-methyluracil (**24**{1,2,4}) and 514 mg (1.79 mmol) of bis(3-chlorophenyl) disulfide (**25**{4}). The residue was washed with hexane to give 122 mg (0.32 mmol, 88%) of 1-(2,5-dimethylbenzyl)-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,4,4}) as a white solid, mp 211-213 °C.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 8.61 (br s, 1H, N-H), 7.16 (m, 2H, C12-H, C16-H), 6.95 (m, 4H, C10-H, C17-H, C14-H, C15-H), 6.50 (s, 1H, C19-H), 5.24 (s, 2H, C7-H), 2.24 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.22 (s, 3H, C20-H or C21-H), 2.12 (s, 3H, C22-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 162.4 (C4), 150.9 (C2), 145.6 (C6), 135.7 (C13)\*\*, 135.4 (C8)\*\*, 134.0 (C11)\*\*, 133.8 (C18)\*\*, 131.3 (C9)\*\*, 130.4 (C12)\*, 130.3 (C10)\*, 127.9 (C15)\*, 127.5 (C19)\*, 127.1(C16)\*, 125.4 (C14)\*, 124.9 (C17)\*, 120.3 (C5), 47.4 (C7), 21.3 (C20), 18.7 (C21), 14.4 (C22).

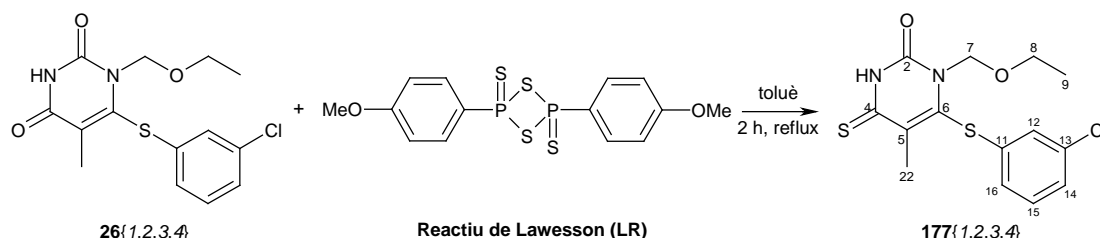
**IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3183 (*t* N-H), 3054, 3010 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2919, 2857, 2820 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1713, 1699, 1678, 1653 (*t* C=O), 1575, 1501, 1436, 1420 (*t* C=C), 1459 (*δ ip* NH), 895 (*δ oop* NH), 775 (*δ oop* C-H), 678 (*δ* C=C).

**Anal.:** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>ClS: C: 62.09%, H: 4.95%, Cl: 9.16%, N: 7.24%, O: 8.27%, S: 8.29%; Found: C: 61.83%, H: 4.90%, N: 7.12%, S: 8.51%.

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 386.0 (9) [M]<sup>+</sup>, 119.0 (100) [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>.

## 4.10. Synthesis of sulphurated HEPT

### 4.10.1. Synthesis of 6-(3-chlorophenylthio)-1-(ethoxymethyl)-3,4-dihydro-5-methyl-4-thioxopyrimidin-2(1H)-one (**177**{1,2,3,4})



To a solution of 1-ethoxymethyl-6-(3-chlorophenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,4}) (33 mg, 0.1 mmol) in toluene (1 mL) was added Lawesson's reagent (**LR**) (121 mg, 0.3 mmol) and the mixture was refluxed for 2 h. The solution was allowed to cool to room temperature and the mixture was filtered. The filtrate was evaporated *in vacuo* obtaining a yellow solid, which was dissolved in chloroform and washed with saturated NaHCO<sub>3</sub> solution (2 x 10 mL). The organic layer was dried over anhydrous magnesium sulphate, filtered and concentrated to dryness. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (1:2, v/v) as eluent. 18.8 mg (0.055 mmol, 55%) of 6-(3-chlorophenylthio)-1-(ethoxymethyl)-3,4-dihydro-5-methyl-4-thioxopyrimidin-2(1H)-one (**177**{1,2,3,4}) were obtained as a yellow solid, mp 101-103 °C.

#### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 10.23 (br s, 1H, N-H), 7.26 (m, 2H, Ph), 7.21 (m, 1H, Ph), 7.10 (m, 1H, Ph), 5.57 (s, 2H, C7-H), 3.61 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 2.30 (s, 3H, C22-H), 1.15 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm): 188.7 (C4), 148.5 (C6), 142.7 (C2), 135.5 (C13)\*\*, 134.4 (C11)\*\*, 130.7 (C12)\*, 127.7 (C15 i C16)\*, 127.1 (C5), 126.0 (C14)\*, 75.5 (C7), 65.2 (C8), 19.3 (C9), 15.0 (C22).

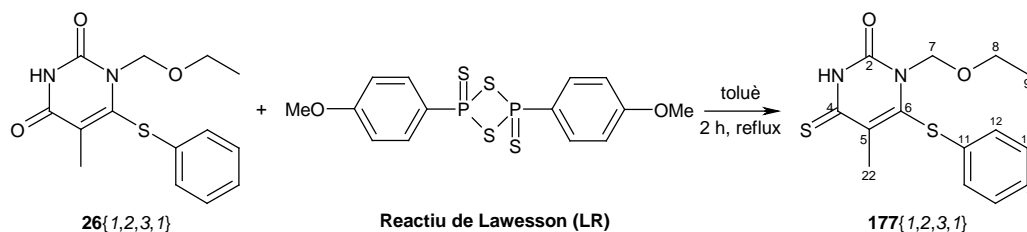
**IR (film):** ν (cm<sup>-1</sup>): 3177 (*t* N-H), 3075 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2977, 2919 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1696 (*t* C=O), 1563, 1441, 1414, (*t* C=C), 1460 (*δ ip* NH), 1117 (*t* C=S), 1062 (*t as* C-O-C), 887 (*δ oop* NH), 774 (*δ oop* C-H), 677 (*δ* C=C).

**MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 342.0 (57) [M]<sup>+</sup>, 298.0 (100) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 283.0 (61) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>: 342.0263, [M]<sup>+</sup>, Found: 342.0267.



#### 4.10.2. Synthesis of 1-(ethoxymethyl)-3,4-dihydro-5-methyl-6-(phenylthio)-4-thioxopyrimidin-2(1H)-one (**177**{1,2,3,1})



The procedure was the same as that stated above for **177**{1,2,3,4}, but warmed with microwaves (3 min at 110 °C) and carried out by using 30 mg (0.1 mmol) of 1-ethoxymethyl-6-(phenylthio)-5-methyluracil (**26**{1,2,3,1}), 1 mL of toluene and 122 mg (0.3 mmol) of Lawesson's reagent (**LR**). The residue was purified by flash column chromatography on silica gel with a mixture of ethyl acetate and hexane (1:2, v/v) as eluent. 22.0 mg (0.071 mmol, 71%) of 6-(phenylthio)-1-(ethoxymethyl)-3,4-dihydro-5-methyl-4-thioxopyrimidin-2(1H)-one (**177**{1,2,3,4}) were obtained as a yellow solid.

##### Spectroscopic data:

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 10.28 (br s, 1H, N-H), 7.28 (m, 5H, Ph), 5.59 (s, 2H, C7-H), 3.62 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, C8-H), 2.27 (s, 3H, C22-H), 1.16 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, C9-H).

**<sup>13</sup>C-RMN (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm): 188.8 (C4), 148.5 (C6), 144.2 (C2), 132.5 (C11), 129.7 (C12), 128.2 (C13), 127.5 (C14), 126.6 (C5), 75.4 (C7), 65.1 (C8), 19.3 (C9), 15.1 (C22).

**IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3188 (*t* N-H), 3084 (*t* Csp<sup>2</sup>-H), 2971, 2925, 2884 (*t* Csp<sup>3</sup>-H), 1673 (*t* C=O), 1568, 1420 (*t* C=C), 1466 ( $\delta$  *ip* NH), 1114 (*t* C=S), 1068 (*t as* C-O-C), 871 ( $\delta$  *oop* NH), 739 ( $\delta$  *oop* C-H), 688 ( $\delta$  C=C).

**MS (70 eV, EI):**  $m/z$  (%) = 308.0 (51) [M]<sup>+</sup>, 264.0 (100) [M-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O]<sup>+</sup>, 249.0 (73) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 231.1 (19) [M-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (70 eV, EI):** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>: 308.0653, [M]<sup>+</sup>, Found: 308.0660.

## Bibliography

- [1] Z. Zhang, Z. Zha, C. Gan, C. Pan, Y. Zhou, Z. Wang, M. Zhou. Catalysis and Regioselectivity of the Aqueous Heck Reaction by Pd(0) Nanoparticles under Ultrasonic Irradiation. *J. Org. Chem.*, **2006**, 71 (11), p. 4339-4342.
- [2] J. B. Dickey, A. R. Gray. Barbituric acid. *Org. Synth.*, **1938**, 18, p. 8-9.
- [3] B. Morelli. Spectrophotometric investigation of palladium(II)-2-thiobarbituric acid complexes in aqueous and aqueous ethanolic media. *Analyst (London)*, **1984**, 109 (1), p. 47-51.
- [4] Spectral Database for Organic Compounds (SDBS), **2010**, (04/10).
- [5] M. Mansurova, M. S. Koay, W. Gaertner. Synthesis and electrochemical properties of structurally modified flavin compounds. *Eur. J. Org. Chem.*, **2008** (32), p. 5401-5406.
- [6] M. Camelot. Infrared-spectroscopic investigation of pyridine addition compounds with some oxychlorides or trioxides. *Rev. Chim. Miner.*, **1969**, 6 (5), p. 853-884.

## **Conclusions**



1. S'ha dissenyat una quimioteca d'inhibidors potencials del coreceptor CXCR4 anàlegs de la *N*-(4-((3-(2-metilpiperidin-1-il)propilamino)metil)benzil)-3-(2-metilpiperidin-1-il)propan-1-amina, compost amb millor activitat anti-VIH d'una sèrie d'estructures prèviament desenvolupades en el grup i formades per un espaiador *p*-fenilbismetilènic disubstituint per sistemes heterocíclics units a una cadena alquílica lineal de longitud variable. En el disseny de la nova quimioteca, s'han mantingut els sistemes heterocíclics terminals però s'ha substituït l'espaiador *p*-fenilbismetilènic per l'espaiador *p*-fenilbisetilènic. S'han sintetitzat aquests compostos per acilació dels sistemes diamínics heterocíclics amb un derivat activat de l'àcid 1,4-fenilendiacètic seguit de posterior reducció amb dimetilmercaptà borà.
2. S'ha avaluat tant l'activitat anti-VIH dels nous compostos amb espaiador *p*-fenilbisetilènic com dels seus precursors diamida. Les diamides han presentat uns valors d'activitat d'EC<sub>50</sub> des de 2.0 µg/mL fins a valors superiors a 125 µg/mL, mentre que els nous compostos finals són, de manera general, bastant més actius amb uns valors d'EC<sub>50</sub> que van des de 0.032 µg/mL fins a valors superiors a 125 µg/mL. D'aquesta família en destaquen *N,N'*-bis(3-(pirrolidin-1-il)propil)-1,4-bis(2-aminoet-1-il)benzè, *N,N'*-bis(3-(2-pipecolin-1-il)propil)-1,4-bis(2-aminoet-1-il)benzè i *N,N'*-bis(3-(piperidin-1-il)propil)-1,4-bis(2-aminoet-1-il)benzè (EC<sub>50</sub> = 0.068 µg/mL; 0.032 µg/mL i 0.042 µg/mL respectivament), sent tots tres compostos només un ordre de magnitud menys actius que l'AMD3100 (EC<sub>50</sub> = 0.002 µg/mL).
3. La intercomparació dels valors d'activitat dels nous compostos amb espaiador *p*-fenilbisetilènic sintetitzats permet concloure que la presència d'una cadena alquílica trimetilènica entre els dos àtoms de nitrogen que uneixen l'espaiador i el sistema heterocíclic, afavoreix l'activitat front a una cadena etilènica. També es conclou que la substitució d'un espaiador 1,4-fenilbismetilènic per un espaiador 1,4-fenilbisetilènic afavoreix l'activitat millorant, fins i tot, lleugerament el valor d'activitat de la *N*-(4-((3-(2-metilpiperidin-1-il)propilamino)metil)benzil)-3-(2-metilpiperidin-1-il)propan-1-amina. Es constata també que les estructures amb 4 metilens per cada costat del grup fenil central (comptant els metilens de l'espaiador i els de la cadena alquílica que uneix l'espaiador amb l'heterocicle) mantenen els valors d'activitat respecte a les estructures formades amb un espaiador 1,4-fenilbismetilènic i una cadena alquílica trimetilènica. Per contra, en el cas de les molècules amb cinc metilens per cada costat del grup fenil central, són més actives les que contenen un espaiador 1,4-fenilbisetilènic amb una cadena alquílica trimetilènica que les que estan formades per un espaiador 1,4-fenilbismetilènic i una cadena alquílica tetrametilènica.
4. S'ha dissenyat i sintetitzat una quimioteca de compostos bispíridònics, bisglutarimídics i bispírido[2,3-*d*]pirimidínics separats per espaiadors 1,4-fenilènic, 1,4-fenilbismetilènic i 1,4-fenilènic. S'han afegit cadenes laterals hexiloxi en les posicions 2 i 5 de l'anell fenílic

central amb l'objecte d'augmentar la solubilitat d'aquests compostos. Els valors d'activitat mostren que aquesta família no té propietats anti-VIH, essent tots els compostos, a excepció del 1,4-bis(5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)benzè, tòxics o inactius a la concentració màxima assajada. El 1,4-bis(5-ciano-3,4-dihidro-6-metoxi-2-piridon-4-il)benzè presenta un valor d'activitat d' $EC_{50} = 76 \mu\text{g/mL}$ , quatre ordres de magnitud menys actiu que l'AMD3100. D'altra banda, tot i tenir indicis de la seva formació, no ha estat possible aïllar les estructures mixtes amino-piridona, amino-glutarimida i amino-pirido[2,3-d]pirimidina.

5. S'ha desenvolupat una metodologia sintètica generalitzable d'obtenció de disulfurs a partir dels seus respectius tiofenols. Emprant com agent d'oxidació el DMSO s'han obtingut els compostos amb rendiments superiors al 90%.
6. S'ha posat a punt una ruta sintètica que ha permès l'obtenció d'anàlegs d'HEPT. Mitjançant aquesta via, s'han sintetitzat 24 anàlegs d'HEPT dels quals 22 no es trobaven descrits a la bibliografia. Tot i això les condicions òptimes d'obtenció de cadascun d'ells no són completament generalitzables i ni totalment automatitzables per les següents raons:
  - a. En l'etapa de cloració dels àcids barbitúrics, no es van poder obtenir els intermedis clorats derivats dels tiobarbitúrics. En el cas de presentar un protó en posició metilènica, la ruta sintètica augmenta en un pas, ja que es passa per l'intermedi 2,4,6-tricloropirimidina.
  - b. En l'etapa d'alquilació de la posició N1, es van emprar dues metodologies diferents depenent del substituent: (i) via intermedi sililat quan es derivatitza amb clorur de metiletilèter i clorur de 2-(trimetilsilil)etoximetil i (ii) en medi DMSO/ $K_2CO_3$  quan es derivatitza amb els reactius més voluminosos, clorur de 1,5-dimetilbenzil i  $\alpha,4$ -dicloroanisol.
  - c. En l'última etapa, la incorporació dels diferents grups tiofenol en posició 6 de l'anell pirimidínic es realitza en tots els casos amb la mateixa reacció. La reacció es dona a temperatura ambient excepte en el cas d'emprar disulfur de bis(2,6-diclorofenil) que requereix de calefacció a reflux.
7. S'han trobat condicions de reacció per reduir en una etapa la ruta sintètica de formació de derivats d'HEPT fent innecessària l'obtenció de disulfurs. L'ús de  $NaBH_4$  com a base permet dur a terme la reacció de substitució en la posició C6 amb els tiofenols directament.
8. S'ha aconseguit ampliar la quimioteca d'anàlegs d'HEPT sulfurant, mitjançant el reactiu de Lawesson, la posició C4 de l'anell pirimidínic de dos dels anàlegs obtinguts.

9. S'han pogut avaluar les activitats de tots els anàlegs d'HEPT, alguns amb una notable activitat anti-VIH, destacant-ne com a més actiu de la quimioteca sintetitzada l'1-etoximetil-6-(3-clorotiofenol)-5-metiluracil amb un valor d' $EC_{50} = 0.015 \mu\text{g/mL}$ . S'ha pogut confirmar que la presència d'un substituent en posició C5 de l'anell pirimidínic és beneficiós per l'activitat anti-VIH. També es conclou que la substitució d'un àtom d'oxigen per un de sofre en la posició C4 provoca una disminució de l'activitat i un augment de la citotoxicitat. D'altra banda l'alquilació de la posició N1 amb 2-(trimetilsilil)etoximetil provoca citotoxicitat mentre que la introducció del substituent metiletilèter indueix un augment de l'activitat. Pel que fa la posició C6, el derivat 3-clorotiofenolat és el que aporta més activitat a les molècules, dos ordres de magnitud més actives que les que estan derivatitzades amb 2,6-diclorotiofenolat.