

Universidad de Granada  
Facultad de Farmacia  
Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica



TESIS DOCTORAL

**DISEÑO Y SÍNTESIS DE BENZOXAZEPINAS  
COMO FÁRMACOS ANTITUMORALES.  
INCREMENTO DE LA DIVERSIDAD ESTRUCTURAL.**

**Mónica Díaz Gavilán**

**GRANADA 2005**



Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica.  
Facultad de Farmacia.  
Universidad de Granada.

Memoria de Tesis Doctoral presentada por la Lda. **Mónica Díaz Gavilán** con objeto de obtener el grado de Doctor en Farmacia por la Universidad de Granada.

Granada, Junio de 2005.

**DIRECTORES:**

**Fdo. Antonio Espinosa Úbeda.**  
Catedrático de Química Orgánica.  
Facultad de Farmacia.  
Universidad de Granada.

**Fdo. Miguel A. Gallo Mezo.**  
Catedrático de Química Farmacéutica.  
Facultad de Farmacia.  
Universidad de Granada.

**Fdo. Joaquín Campos Rosa.**  
Prof. Titular de Química Farmacéutica.  
Facultad de Farmacia.  
Universidad de Granada.

**Fdo. Mónica Díaz Gavilán.**



## **Índice de siglas y abreviaturas**



Índice de siglas y abreviaturas.

**A**

ADDP	1,1'-(Azodicarbonil)dipiperidina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AINE	Antiinflamatorio no esteroídico
APC	Complejo promotor de la anafase
ATM	<i>Ataxia telangiectasia mutated</i> (familia de quinasas P13)
ATP	Adenosina-5'-trifosfato
ARN	Ácido ribonucleico
Asp	Ácido aspártico

**B**

ba	Banda ancha
BEAS-2B	Línea de células humanas inmortalizadas de epitelio bronquial
Bu	Butilo

**C**

c	Cuadruplete
CAK	Quinasa activadora de Cdks
CCF	Cromatografía en capa fina
Cdk	Quinasa dependiente de ciclinas
Chk	<i>Check point kinase</i>
CI <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria 50
Cip	Proteína inhibidora de quinasas
CNIO	Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas
COX	Ciclooxigenasa
CP	Cloropurina
CX-1	Línea celular de carcinoma de colon humano
Cyc	Ciclina

**D**

d	Doblete
da	Doblete ancho
dd	Doble doblete
ddd	Doble doble doblete
dddd	Doble doble doble doblete
ddN	2',3'-Didesoxinucleósido
DEAD	Dietilazodicarboxilato
DIAD	Diisopropilazodicarboxilato
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMEM	Medio de cultivo Eagle modificado por Dubelcco
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
dNTP	2'-Desoxinucleósido-5'-trifosfato
dt	Doble triplete
DRG	Genes de respuesta tardía

**E**

E	Electrófilo
ERG	Genes de respuesta temprana
EtOH	Etanol

**F**

FBS	Suero bovino fetal
FmocCl	Cloruro de 9H-9-fluorenilmetoxicarbonilo
5-FU	5-Fluorouracilo

**H**

H	Hipoxantina
HAT	Histona-acetil-transferasa
HDAC	Histona-desacetilasa
HEp-2	Línea celular de carcinoma humano de laringe
HMBC	<i>Heteronuclear multi-bond correlation</i>
HMDS	Hexametildisilazano
HMQC	<i>Heteronuclear multi-quantum correlation</i>
HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
HRMS	Espectroscopía de masas de alta resolución
HT-29	Línea celular de carcinoma de colon humano

**I**

INK4	Proteína inhibidora de Cdk4
IRF	Factor regulador de interferón

**K**

K562	Línea tumoral humana de leucemia
------	----------------------------------

**L**

LBD	Dominio de unión a ligando
LRMS	Espectroscopía de masas de baja resolución
LSIMS	Liquid Secondary Ionization Mass Spectrum
Lys	Lisina
LZ-1	Línea celular de carcinoma de pulmón humano

**M**

m	Multiplete
Me	Metilo
MeOH	Metanol
MCF-7	Línea celular de carcinoma de mama humano
MS	Espectroscopía de masas
MS EI	Espectroscopía de masas por impacto electrónico
MTBD	7-Metil-1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]-5-deceno
MX-1	Línea celular de carcinoma de mama humano



**N**

NAD	Nicotín-adenín-dinucleótido
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
<i>p</i> -NO <sub>2</sub> BzCl	Cloruro de <i>p</i> -nitrobenzoílo
NOE	Efecto nuclear Overhauser
<i>o</i> -NsCl	Cloruro de <i>o</i> -nitrobencénsulfonilo
<i>p</i> -NsCl	Cloruro de <i>p</i> -nitrobencénsulfonilo
Nu	Nucleófilo

**P**

Ph	Fenilo
PP1	Fosfatasa tipo 1
<sup>i</sup> Pr	Isopropilo
pRb	Proteína retinoblastoma
pt	Pseudotriplete

**R**

RAR	Receptor del ácido retinoico
RD	Línea celular de rabdomiosarcoma humano
RE	Receptor de estrógenos
RMN	Resonancia magnética nuclear
RXR	Receptor del retinoide X

**S**

s	Singlete
Ser	Serina
S <sub>N</sub>	Sustitución nucleófila
SRB	Sulforodamina-B

**T**

t	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente
ta	Triplete ancho
TBAF	Fluoruro de tetrabutilamonio
TBDMS-Cl	Cloruro de <i>terc</i> -butildimetilsililo
TCS	Cloruro de trimetilsililo
Thr	Treonina
TBP	Tributilfosfina
TF	Timidina fosforilasa
THF	Tetrahidrofurano
TK	Timidina quinasa
TMS	Trimetilsililo
TNF	Factor de necrosis tumoral
TPP	Trifenilfosfina
TS	Timidilato sintasa
Ts-Cl	Cloruro de tosilo o de <i>p</i> -toluénsulfonilo
<i>p</i> -TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico

**U**

UF            Uridina fosforilasa

**V**

VDR            Receptor de la vitamina D

VIH            Virus de inmunodeficiencia humana

**Índice.**



## ÍNDICE

<b>1. Introducción .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Antecedentes.....</b>	<b>7</b>
2.1. La proliferación celular y su regulación. El ciclo celular .....	7
2.2. Mecanismos celulares de defensa ante alteraciones en el ADN: Apoptosis .....	12
2.2.1. Apoptosis.....	14
2.3. Alteraciones de la proliferación y aparición de cáncer .....	15
2.4. Terapia anticancerosa.....	16
2.4.1. Terapia de diferenciación .....	17
2.4.1.1. Inhibidores de histona-desacetilasas (HDACs) .....	17
2.4.1.2. Receptores nucleares .....	20
2.4.1.2.a. Retinoides .....	20
2.4.1.2.b. Análogos de la vitamina D <sub>3</sub> .....	21
2.4.1.3. Inhibidores de quinasas dependientes de ciclina .....	22
2.4.1.3.a. Grupo 1: Inhibidores no selectivos Cdk.....	25
2.4.1.3.b. Grupo 2: Inhibidores selectivos Cdk1 y Cdk2.....	26
2.4.1.3.c. Grupo 3: Inhibidores selectivos Cdk4 y Cdk6.....	28
2.4.1.4. Inhibidores de ciclinas .....	29
2.4.1.5. Agentes citotóxicos en terapia diferenciadora .....	30
2.4.2. Terapia de inducción de apoptosis .....	31
2.4.3. Terapia citotóxica .....	31
2.4.3.1. Antimetabolitos.....	32
2.4.3.1.a. Fármacos análogos de nucleósidos .....	34
2.5. Antecedentes del grupo en terapia anticancerosa .....	35
2.5.1. Evolución estructural de los <i>O,N</i> -acetales de bases nitrogenadas.	
Actividad biológica.....	35

2.5.1.1.	Modificación de los marcadores moleculares causada por los <i>O,N</i> -acetales cíclicos de 5-FU .....	39
2.5.1.2.	Cambios morfológicos en células MCF-7 causados por los <i>O,N</i> -acetales cíclicos de 5-FU .....	40
2.5.1.3.	Modificación de los marcadores moleculares causada por los <i>O,N</i> -acetales acíclicos de 5-FU .....	41
2.5.2.	Antecedentes químicos. Preparación de compuestos <i>O,N</i> -acetálicos .....	41
2.5.2.1.	Conversión de <i>O,O</i> -acetales en <i>O,N</i> -acetales .....	42
	Bibliografía .....	46
<b>3.</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>51</b>
	Bibliografía .....	55
<b>4.</b>	<b>Parte Teórica</b> .....	<b>59</b>
4.1.	Generalidades .....	59
4.2.	Síntesis de los productos finales <i>O,O</i> -acetales derivados de benzoxazepinas (Librería 1) .....	66
4.2.1.	( <i>RS</i> )-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas sustituidas sobre <i>N</i> 1 .....	66
4.2.1.1.	Síntesis del intermedio común ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b><i>MDG-484D</i></b> ) .....	67
4.2.1.1.a.	Alquilación del nitrógeno anilínico .....	67
4.2.1.1.b.	Reacción de ciclación: Formación de los anillos 4,1-benzoxazepínicos .....	77
4.2.1.1.b.i.	Ciclación mediada por ácidos .....	77
4.2.1.1.b.ii.	Ciclación mediada por sistemas activadores del carbono bencílico .....	79
4.2.1.1.c.	Eliminación del grupo protector nitrobencénsulfonilo (2-Ns y 4-Ns). Obtención de la amina secundaria <b><i>MDG-484D</i></b> .....	80
4.2.1.2.	Síntesis de ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas diversamente sustituidas sobre <i>N</i> 1 .....	81
4.2.2.	( <i>RS</i> )-2-Metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepinas <i>N</i> 1-sustituidas .....	83

4.2.3.	Análisis espectroscópico de los compuestos <i>O,O</i> -acetálicos .....	84
4.3.	Síntesis de compuestos <i>O,N</i> -acetálicos a partir de <i>O,O</i> -acetales de tetrahydrobenzoxazepinas con grupos electrón atrayentes sobre <i>N1</i> o <i>N4</i> (Librerías 2 y 3) .....	92
4.3.1.	Consideraciones generales: Mecanismo de reacción y elección de los sustratos.....	92
4.3.2.	Regioselectividad de la reacción de formación de <i>O,N</i> -acetales .....	97
4.3.3.	Reacción de ( <i>RS</i> )-3-metoxi- <i>N</i> -nitrobenzénsulfonil-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepinas con pirimidinas, mediada por ácidos de Lewis ..	101
4.3.3.1.	Influencia del <i>O,O</i> -acetal de partida y del nucleófilo .....	106
4.3.3.1.a.	Efecto del cambio <i>O</i> → <i>N</i> . Comparación con los compuestos 1,4-benzodioxepínicos.....	106
4.3.3.1.b.	Efecto del sustituyente en <i>N1</i> y del nucleófilo .....	107
4.3.3.1.b.i.	Efecto del sustituyente sobre <i>N1</i> .....	108
4.3.3.1.b.ii.	Efecto del nucleófilo .....	111
4.3.4.	Reacción de ( <i>RS</i> )- <i>N</i> -acil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepinas con 5-FU, mediada por ácidos de Lewis .....	112
4.3.5.	Reacción de la ( <i>RS</i> )-2-metoxi-4-trifluoroacetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepina ( <b>MDG-292A</b> ) con 5-FU, mediada por ácidos de Lewis .....	115
4.3.6.	Modificación estructural de los <i>O,N</i> -acetales derivados de tetrahydrobenzoxazepinas y pirimidinas.....	116
4.3.7.	Análisis espectroscópico de los compuestos <i>O,N</i> -acetálicos derivados de pirimidinas .....	118
4.3.7.1.	<i>O,N</i> -Acetales cíclicos derivados de 5-FU y uracilo (Grupo 2.1) .....	118
4.3.7.1.a.	Estudio conformacional (experimentos NOE).....	119
4.3.7.1.b.	<i>O,N</i> -Acetales cíclicos derivados de 5-FU (Grupo 2.1.1) .....	120
4.3.7.1.c.	<i>O,N</i> -Acetales cíclicos derivados de uracilo (Grupo 2.1.2) .....	124
4.3.7.2.	<i>O,N</i> -Acetales acíclicos derivados de 5-FU y uracilo (Grupo 2.2) .....	127

4.3.8.	Reacción de ( <i>RS</i> )-3-metoxi- <i>N</i> -nitrobenzénsulfonil-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con purinas mediada por ácidos de Lewis .....	135
4.3.8.1.	Otros productos obtenidos en la reacción de <b>MDG-430A</b> y <b>MDG-206A</b> con la 6-cloropurina .....	138
4.3.8.2.	Comparación de los resultados obtenidos a partir de 6-cloropurina y a partir de pirimidinas, en las reacciones de condensación con <b>MDG-206A</b> y <b>MDG-430A</b> .....	140
4.3.9.	Reacción de la ( <i>RS</i> )-3-metoxi- <i>N</i> -(9 <i>H</i> -9-fluorenilmetoxicarbonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-791D</b> ) con purinas, mediada por ácidos de Lewis .....	141
4.3.10.	Modificación estructural de los <i>O,N</i> -acetales condensados con purinas. Sustitución del átomo de cloro en posición 6'' de los anillos de purina .....	142
4.3.10.1.	Sustitución del átomo de cloro en 6'' del anillo de purina por un grupo hidroxilo.....	143
4.3.10.1.a.	Sustitución a pH neutro e presencia de DMSO .....	143
4.3.10.1.a.i.	<i>O,N</i> -Acetales cíclicos.....	143
4.3.10.1.a.ii.	<i>O,N</i> -Acetales abiertos.....	147
4.3.10.1.b.	Sustitución en las condiciones de Vorbrüggen .....	148
4.3.10.2.	Sustitución del átomo de cloro en 6'' del anillo de purina por un grupo feniltio (Grupo 3.1.3) .....	149
4.3.11.	Análisis espectroscópico de los compuestos <i>O,N</i> -acetálicos derivados de purinas .....	150
4.3.11.1.	<i>O,N</i> -Acetales cíclicos derivados de purinas (Grupo 3.1) .....	152
4.3.11.1.a.	Diferencias espectroscópicas encontradas entre <i>O,N</i> -acetales cíclicos derivados de purinas con unión <i>N7''</i> y sus isómeros con unión <i>N9''</i> .....	156
4.3.11.1.b.	Influencia del sustituyente en 6'', sobre las características espectroscópicas de los anillos de purina .....	159
4.3.11.1.b.i.	Diferencias espectroscópicas entre los <i>O,N</i> -acetales cíclicos derivados de 6-cloropurina y las correspondientes 6-purinonas .....	159



4.3.11.1.b.ii. Características espectroscópicas de los <i>O,N</i> -acetales cíclicos derivados de 6-feniltiopurina .....	161
4.3.11.1.c. Influencia del sustituyente en <i>N1</i> sobre las características espectroscópicas de los anillos de benzoxazepina .....	161
4.3.11.2. <i>O,N</i> -Acetales acíclicos derivados de purinas (Grupo 3.2) .....	162
4.3.12. Determinación estructural del compuesto <b>MDG-884B</b> por difracción de rayos X.....	165
4.4. Resultados biológicos y discusión.....	167
4.4.1. Resultados biológicos de los compuestos <i>O,O</i> -acetálicos (Librería 1) .....	168
4.4.2. Resultados biológicos de los compuestos <i>O,N</i> -acetálicos derivados de pirimidinas (Librería 2) .....	170
4.4.3. Resultados biológicos de los compuestos <i>O,N</i> -acetálicos derivados de purinas (Librería 3) .....	172
Bibliografía .....	177
Anexo a la Parte Teórica.....	183
<b>5. Parte Experimental</b> .....	<b>205</b>
5.1. Condiciones generales.....	205
5.2. Síntesis de <i>O,O</i> -acetales de benzoxazepina (Librería 1).....	207
5.2.1. ( <i>RS</i> )-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepinas sustituidas sobre <i>N1</i> .....	207
5.2.1.1. Intermedio común: ( <i>RS</i> )-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-484D</b> ) .....	207
5.2.1.1.a. 2-( <i>terc</i> -Butildimetilsililoximetil)anilina ( <b>61</b> ) .....	207
5.2.1.1.b. <i>N</i> -[2-( <i>terc</i> -Butildimetilsililoximetil)fenil]-2-nitrobencénsulfonamida ( <b>MDG-174A</b> ) .....	207
5.2.1.1.c. <i>N</i> -[2-( <i>terc</i> -Butildimetilsililoximetil)fenil]-4-nitrobencénsulfonamida ( <b>MDG-400C</b> ) .....	208
5.2.1.1.d. <i>N</i> -[2-( <i>terc</i> -Butildimetilsililoximetil)fenil]bis(4-nitrobencénsulfonil)imida ( <b>MDG-338B</b> ).....	209

5.2.1.1.e.	<i>N</i> -[2-( <i>terc</i> -Butildimetilsililoximetil)fenil]- <i>N</i> -(2,2-dimetoxietil)-2-nitrobencénsulfonamida. ( <b>MDG-190C</b> ) .....	210
5.2.1.1.f.	<i>N</i> -[2-( <i>terc</i> -Butildimetilsililoximetil)fenil]- <i>N</i> -(2,2-dimetoxietil)-4-nitrobencénsulfonamida ( <b>MDG-408D</b> ) .....	211
5.2.1.1.g.	<i>N</i> -[2-( <i>terc</i> -Butildimetilsililoximetil)fenil]- <i>N</i> -isopropil-4-nitrobencénsulfonamida ( <b>MDG-408B</b> ).....	211
5.2.1.1.h.	<i>N</i> -(2,2-Dimetoxietil)- <i>N</i> -(2-hidroximetilfenil)-2-nitrobencénsulfonamida ( <b>MDG-198B</b> ).....	212
5.2.1.1.i.	<i>N</i> -(2,2-Dimetoxietil)- <i>N</i> -(2-hidroximetilfenil)-4-nitrobencénsulfonamida ( <b>MDG-422B</b> ).....	213
5.2.1.1.j.	( <i>RS</i> )-3-Metoxi-1-(2-nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-206A</b> ) .....	214
5.2.1.1.k.	( <i>RS</i> )-3-Metoxi-1-(4-nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-430A</b> ) .....	215
5.2.1.1.l.	<i>N</i> -(2-Clorometilfenil)- <i>N</i> -(2,2-dimetoxietil)-2-nitrobencénsulfonamida ( <b>MDG-218A</b> ).....	216
5.2.1.1.m.	<i>N</i> -(2-Clorometilfenil)- <i>N</i> -(2,2-dimetoxietil)-4-nitrobencénsulfonamida ( <b>MDG-444B</b> ).....	217
5.2.1.1.n.	( <i>RS</i> )-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-484D</b> ) .....	217
5.2.1.2.	( <i>RS</i> )-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepinas sustituidas sobre <i>N</i> . Modificación estructural del intermedio <b>MDG-484D</b> .....	218
5.2.1.2.a.	( <i>RS</i> )- <i>N</i> -Acil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepinas. Formación de carboxamidas .....	218
5.2.1.2.a.i.	( <i>RS</i> )-1-Formil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-908B</b> ).....	218
5.2.1.2.a.ii.	( <i>RS</i> )-1-Butiril-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-530B</b> ).....	219
5.2.1.2.a.iii.	( <i>RS</i> )-3-Metoxi-1-trifluoroacetil-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-540A</b> ).....	220
5.2.1.2.a.iv.	( <i>RS</i> )-1-Benzoil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-616A</b> ).....	221

5.2.1.2.a.v. (RS)-3-Metoxi-1-(4-nitrobenzoil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-946C</b> ) .....	222
5.2.1.2.a.vi. (RS)-1-(4-Aminobenzoil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-964B</b> ) .....	223
5.2.1.2.b. (RS)-N-Oxicarbonil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas. Formación de carbamatos .....	224
5.2.1.2.b.i. (RS)-1-(9H-9-Fluorenilmetiloxicarbonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-791D</b> ).....	224
5.2.1.2.c. (RS)-N-Alquil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas. Formación de aminas terciarias .....	225
5.2.1.2.c.i. (RS)-1-Bencil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-804B</b> ) .....	225
5.2.1.2.d. (RS)-N-Sulfonil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas. Formación de sulfonamidas .....	226
5.2.1.2.d.i. (RS)-1-(p-Metilbencénsulfonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-904B</b> ).....	226
5.2.1.2.d.ii. (RS)-1-(o-Aminobencénsulfonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-858B</b> ).....	227
5.2.1.2.d.iii. (RS)-1-(p-Aminobencénsulfonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-872B</b> ).....	228
5.2.1.3. Otros compuestos obtenidos en la exploración de la ruta sintética hacia <b>MDG-484D</b> .....	229
5.2.1.3.a. Acetato de 2-acetamidofenilmetilo ( <b>64</b> ) .....	229
5.2.1.3.b. 2-Acetamidobenzoato de metilo ( <b>65</b> ).....	229
5.2.1.3.c. N-(2-Aminofenilmetil)-2-(terc-butildimetilsililoximetil)anilina ( <b>MDG-478B</b> ).....	230
5.2.1.3.d. 2-Nitrobencénsulfonato de 2,2-dimetoxietilo ( <b>MDG-302A</b> ) .....	230
5.2.1.3.e. N-[2-(terc-Butildimetilsililoximetil)fenil]-2,2,2-trifluoroacetamida ( <b>MDG-237A</b> ).....	231
5.2.1.3.f. N-[2-(terc-Butildimetilsililoximetil)fenil]-N-(2,2-dimetoxietil)-2,2,2-trifluoroacetamida ( <b>MDG-320B</b> ) .....	231
5.2.1.3.g. N-(4-Etilfenil)-2,2,2-trifluoroacetamida ( <b>66</b> ) .....	232

5.2.1.3.h.	<i>N</i> -(2,2-Dimetoxietil)- <i>N</i> -(4-etilfenil)-2,2,2-trifluoroacetamida ( <b>MDG-382D</b> ) .....	232
5.2.2.	( <i>RS</i> )-2-Metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepinas sustituidas sobre <i>N</i> 4.....	233
5.2.2.1.	2-(2,2-Dimetoxietilaminometil)fenol ( <b>MDG-84A</b> ) .....	233
5.2.2.2.	<i>N</i> -(2,2-Dimetoxietil)-2,2,2-trifluoro- <i>N</i> -(2-hidroxibencil)acetamida ( <b>MDG-267A</b> ) .....	234
5.2.2.3.	( <i>RS</i> )-2-Metoxi-4-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepina ( <b>MDG-292A</b> ).....	235
5.3.	Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de <i>O,O</i> -acetales de tetrahidrobenzoxazepinas con grupos electrón atrayentes sobre <i>N</i> 1 o <i>N</i> 4 (Librerías 2 y 3) .....	236
5.3.1.	Reacción de ( <i>RS</i> )-3-metoxi- <i>N</i> -nitrobencénsulfonil-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con pirimidinas mediada por ácidos de Lewis .....	236
5.3.1.1.	Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1-( <i>p</i> -nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-430A</b> ) y el 5-fluorouracilo ( <b>MDG-612B</b> , <b>MDG-612C</b> , <b>MDG-612D</b> ) .....	236
5.3.1.2.	Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1-( <i>o</i> -nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-206A</b> ) y el 5-FU ( <b>MDG-607B</b> , <b>MDG-607F</b> , <b>MDG-607G</b> ).....	239
5.3.1.3.	Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1-( <i>p</i> -nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-430A</b> ) y el uracilo ( <b>MDG-850B2</b> , <b>MDG-850C</b> , <b>MDG-850D</b> , <b>MDG-850E</b> ) .....	242
5.3.1.4.	Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1-( <i>o</i> -nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-206A</b> ) y el uracilo ( <b>MDG-864B</b> , <b>MDG-864C</b> , <b>MDG-864D</b> ).....	245
5.3.2.	Reacción de ( <i>RS</i> )- <i>N</i> -acil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con pirimidinas mediada por ácidos de Lewis.....	247
5.3.2.1.	Reacción de la ( <i>RS</i> )-1-butanoil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-530B</b> ) con el 5-FU.....	247

5.3.2.2.	Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1-trifluoroacetil-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-540A</b> ) y el 5-FU ( <b>MDG-568D</b> ).....	248
5.3.2.3.	Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-1-benzoil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-616A</b> ) y el 5-FU ( <b>MDG-680G</b> ) .....	250
5.3.3.	Reacción de la ( <i>RS</i> )-2-metoxi-4-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepina ( <b>MDG-292A</b> ) con el 5-FU mediada por ácidos de Lewis ( <b>MDG-310A</b> y <b>MDG-310B</b> ) .....	252
5.3.4.	Modificación estructural de los <i>O,N</i> -acetales de tetrahydrobenzoxazepina y pirimidina .....	253
5.3.4.1.	Reducción de grupo nitro en derivados nitrobencénsulfonilo.....	253
5.3.4.1.a.	( <i>RS</i> )-1-[1-( <i>p</i> -Aminobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-5-fluorouracilo ( <b>MDG-930B</b> ) .....	253
5.3.4.1.b.	( <i>RS</i> )-1-[1-( <i>o</i> -Aminobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-5-fluorouracilo ( <b>MDG-878A</b> ) .....	254
5.3.4.1.c.	( <i>RS</i> )-3-[1-( <i>o</i> -Aminobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-5-fluorouracilo ( <b>MDG-892A</b> ) .....	255
5.3.4.1.d.	( <i>RS</i> )-1-{2-[2-Amino- <i>N</i> -(2-hidroximetilfenil)bencén_sulfonamido]-1-metoxietil}-5-fluorouracilo ( <b>MDG-898D</b> ) .....	256
5.3.4.2.	Eliminación del grupo protector nitrobencénsulfonilo. Obtención de aminas secundarias.....	257
5.3.4.2.a.	( <i>RS</i> )-1-(1,2,3,5-Tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il)-5-fluorouracilo ( <b>MDG-924C</b> ).....	257
5.3.4.2.b.	( <i>RS</i> )-3-(1,2,3,5-Tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il)-5-fluorouracilo ( <b>MDG-936B</b> ).....	258
5.3.4.2.c.	( <i>RS</i> )-1-[2-(2-Hidroximetilfenilamino)-1-metoxietil]-5-fluorouracilo ( <b>MDG-708B</b> ).....	259
5.3.5.	Reacción de ( <i>RS</i> )-3-metoxi- <i>N</i> -nitrobencénsulfonil-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con purinas mediada por ácidos de Lewis.....	260
5.3.5.1.	Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1-( <i>p</i> -nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina	

( <b>MDG-430A</b> ) y la 6-cloropurina ( <b>MDG-798C</b> , <b>MDG-798D</b> , <b>MDG-798E</b> ) .....	260
5.3.5.2. Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-3-metoxi-1-( <i>o</i> -nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-206A</b> ) y la 6-cloropurina ( <b>MDG-884A2</b> , <b>MDG-884B</b> , <b>MDG-884C</b> , <b>MDG-884D</b> ) .....	263
5.3.6. Reacción de ( <i>RS</i> )- <i>N</i> -oxicarbonil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepinas con purinas mediada por ácidos de Lewis.....	267
5.3.6.1. Síntesis de <i>O,N</i> -acetales a partir de la ( <i>RS</i> )-1-(9 <i>H</i> -9-fluorenilmetoxicarbonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina ( <b>MDG-791D</b> ) y la 6-cloropurina ( <b>MDG-828B</b> , <b>MDG-828C</b> , <b>MDG-828D</b> , <b>MDG-828F</b> ) .....	267
5.3.7. Modificación estructural de <i>O,N</i> -acetales de tetrahydrobenzoxazepinas y 6-cloropurina.....	270
5.3.7.1. Tratamiento de los derivados nitrobencénsulfonilo con tiofenol. Síntesis de 6-feniltiopurinas sustituidas en posición 7 .....	270
5.3.7.1.a. ( <i>RS</i> )-7-(1,2,3,5-Tetrahydro-4,1-benzoxazepin-3-il)-6-feniltio-7 <i>H</i> -purina ( <b>MDG-940C</b> ) .....	270
5.3.7.1.b. ( <i>RS</i> )-7-[1-( <i>p</i> -Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-feniltio-7 <i>H</i> -purina ( <b>MDG-958A</b> ) .....	271
5.3.7.1.c. ( <i>RS</i> )-7-[1-( <i>o</i> -Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-feniltio-7 <i>H</i> -purina ( <b>MDG-942B</b> ) .....	272
5.3.7.2. Tratamiento de derivados nitrobencénsulfonilo con SnCl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O. Síntesis de derivados aminobencénsulfonilo.....	273
5.3.7.2.a. ( <i>RS</i> )-7-[1-(2-Aminobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-cloro-7 <i>H</i> -purina ( <b>MDG-953C</b> ).....	273
5.3.7.3. Formación de 6-purinonas a partir de <i>O,N</i> -acetales conteniendo restos de de 6-cloropurina. Estudio de la cinética de cambio Cl → OH .....	274
5.3.7.3.a. <i>O,N</i> -Acetales de 6-cloro-7 <i>H</i> -purin-7-ilo.....	274
5.3.7.3.a.i. <i>O,N</i> -Acetales cíclicos.....	274
5.3.7.3.a.ii. <i>O,N</i> -Acetales acíclicos.....	276
5.3.7.3.b. <i>O,N</i> -Acetales de 6-cloro-9 <i>H</i> -purin-9-ilo.....	276
5.4. Evaluación de la actividad biológica .....	277

5.4.1. Cultivos celulares.....	277
5.4.2. Tratamiento de las células con los productos finales sintetizados: Ensayos de citotoxicidad <i>in vitro</i> .....	277
Bibliografía .....	279
<b>6. Conclusiones.....</b>	<b>283</b>
<b>7. Apéndice: Resumen en inglés de la Memoria de Tesis Doctoral.....</b>	<b>289</b>





# **1. Introducción.**

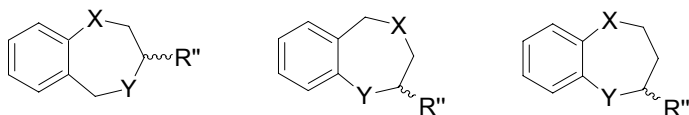


## **1. Introducción.**

El mantenimiento de la organización en los seres pluricelulares, es la consecuencia de un estricto control sobre los procesos de la división y la diferenciación celular. La progresión de la célula en el ciclo celular es el resultado del funcionamiento de un complicado engranaje molecular que mantiene una periodicidad en la sucesión de las etapas de actividad y reposo que constituyen dicho ciclo. Como consecuencia, la división celular ocurre en momentos definidos y cada tipo celular tiene la posibilidad de diferenciarse y alcanzar una funcionalidad plena. Así, la proliferación celular es la base del desarrollo de los organismos a partir de las células embrionarias y del mantenimiento de los mismos, pero es también la raíz del primero de los procesos que origina un cáncer: el crecimiento descontrolado de un grupo de células indiferenciadas.

Con el conocimiento que se ha adquirido recientemente en el área de la biología molecular, se conocen algunos aspectos de los mecanismos reguladores del ciclo celular y esto ha permitido cambiar la filosofía en la terapia anticancerosa, desde las clásicas aproximaciones citotóxicas basadas en el concepto de muerte celular, hasta novedosas terapias no dañinas cuyas dianas farmacológicas se encuentran a nivel de los reguladores del ciclo celular. Entre todas ellas, toma una posición destacada la terapia de diferenciación que pretende asegurar la supervivencia de las células, una vez eliminado en ellas el fenotipo canceroso<sup>1</sup>.

Al igual que la terapia anticancerosa, la trayectoria investigadora de nuestro grupo en este campo ha visto cómo los productos diseñados han sufrido una evolución estructural que ha venido acompañada por una mejora notable en las propiedades antiproliferativas. Así, los primeros aciclonucleósidos unidos a distintas bases



X, Y = Heteroátomos (ej. O, S, N)

**Figura 1.1.** Algunas de las estructuras generales de compuestos benzodiheteroepánicos.

nitrogenadas, dieron lugar a los derivados diheteroepánicos, ambos con actividad citotóxica, que de acuerdo con una estrategia basada en el aumento de la lipofilia, se fusionaron con anillos

de benceno para dar origen a fármacos con estructura benzodiheteroepánica. Así, se sintetizaron los primeros compuestos con dos átomos de oxígeno sobre el anillo de siete miembros y han sido éstos los que han representado el punto de partida para una nueva generación de compuestos que actúan de una manera específica sobre una fase concreta del ciclo celular y que presentan valores importantes de actividad antiproliferativa sobre células de cáncer de mama<sup>2</sup>.

Sin existir, por el momento, una diana terapéutica conocida para los compuestos sintetizados en esta Memoria, su origen se basa en el cambio isostérico de un átomo de oxígeno por nitrógeno, sobre los compuestos benzodioxepínicos preparados previamente en nuestro grupo. Así, todos los compuestos tienen en común la presencia de un núcleo cíclico o acíclico, derivado de 1,4- o 4,1-benzoxazepinas saturadas (X = N, Y = O), como se muestra en la Figura 3.1 (Objetivos). Además, presentan dos posiciones de variabilidad estructural, sobre las cuales se han combinado una serie de sustituyentes que han dado lugar a la obtención de compuestos con distintas características estructurales y estos, agrupados en librerías, han sido sometidos a evaluación biológica, proporcionando información de interés para el establecimiento de relaciones estructura-actividad.

#### **Bibliografía.**

- 1 Gómez-Vidal, J.A.; Campos, J.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Gallo, M.A.; Carrillo, E.; Espinosa, A.; Aránega, A. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2004**, *4*, 175-202.
- 2 Campos, J.; Saniger, E.; Marchal, J.A.; Aiello, S; Suárez, I.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Current Medicinal Chemistry* **2005**, *12*, 887-916.

## **2. Antecedentes.**



## **Resumen.**

La terapia anticancerosa se ha beneficiado de investigaciones recientes que profundizan en el conocimiento del ciclo celular y de su regulación. Esto ha permitido la comprensión de los íntimos procesos relacionados con la proliferación y sus posibles alteraciones. En este apartado se da una visión resumida de los mecanismos reguladores del ciclo celular y del ADN como posibles objetivos de la terapia anticancerosa. De todos ellos se expone, con mayor detenimiento, la actividad Cdk por ser una diana farmacológica en la nueva generación de compuestos no citotóxicos desarrollada por nuestro grupo. Asimismo se exponen las nuevas estrategias terapéuticas que en la actualidad dirigen la lucha contra el cáncer, principalmente los actuales “fármacos del ciclo celular”, y unas breves consideraciones de la aportación del grupo en este campo.

### **2.1. La proliferación celular y su regulación: El ciclo celular.**

Las células se reproducen duplicando su contenido y dividiéndose en dos células hijas. En especies unicelulares como las bacterias y levaduras, cada división de la célula produce un nuevo organismo y la selección natural favorece a las células que crecen y se dividen más rápidamente y a las que sobreviven más tiempo. Su proliferación únicamente se frena por la escasez de nutrientes. En especies pluricelulares la selección natural no actúa en cada célula sino en el conjunto del organismo. La división celular es necesaria para reemplazar las células perdidas por desgaste, deterioro o muerte celular programada; sin embargo, para mantener la organización en el organismo, es necesario que la proliferación esté limitada por

controles estrictos. La mayor parte del tiempo, aún en presencia de nutrientes, las células en los tejidos se hallan en estado de reposo, fuera del ciclo de división, llevando a cabo su función especializada, siendo necesaria la existencia de señales positivas específicas que pongan en marcha la etapa de proliferación celular. Estas señales son en su mayoría factores de crecimiento proteicos que se unen a receptores de membrana plasmática y las combinaciones adecuadas estimulan la proliferación en células que presenten su receptor específico. Ahora bien, nos centraremos en la célula eucariota, para la descripción del ciclo celular y de su regulación<sup>1</sup>.

El ciclo celular puede definirse como la secuencia ordenada de acontecimientos mediante los cuales la célula duplica su contenido y se divide en dos. Consiste en una serie de estadios periódicos por los que la célula atraviesa y en los que sufre determinados cambios que culminan con el momento de la división del núcleo (mitosis) y la correspondiente división celular (citocinesis) en la fase de mitosis (fase M). El espacio entre una fase M y la siguiente es conocido como interfase.

La interfase incluye una serie de etapas en las que tienen lugar, en orden riguroso, los procesos de preparación para la división celular. A cada fase M le sigue un intervalo denominado fase  $G_1$ . A continuación tiene lugar la replicación del ADN en la llamada fase S (fase de síntesis) que viene seguida de otro intervalo denominado  $G_2$ . Las fases  $G_1$  y  $G_2$  proporcionan tiempos adicionales. En la primera de ellas, la célula expresa los genes responsables de su fenotipo y aumenta su tamaño. En la segunda, comprueba la correcta replicación del ADN y se prepara para la mitosis.

Desde la fase  $G_1$ , la célula puede detener su progresión en el ciclo o entrar en un estado de reposo denominado  $G_0$  en el que las células pueden permanecer, incluso años, antes de volver a proliferar si no se dan circunstancias especiales<sup>1</sup>. El tiempo que transcurre desde el comienzo de la fase S hasta el fin de la fase M es breve y relativamente constante (12-24 h), mientras que es el periodo entre el fin de la mitosis y el de  $G_1$  el que determina las variaciones, en la duración del ciclo, para los distintos tipos celulares. Algunas células se dividen con gran frecuencia (ej. las células epiteliales intestinales, dos veces al día) y otras que lo hacen esporádicamente o incluso nunca (ej. los hepatocitos, cada uno o dos años; la mayoría de las células nerviosas o las fibras musculares esqueléticas, no se dividen).



La expresión o inhibición de los genes relacionados con la proliferación determina la evolución o la parada del ciclo celular. Por ello están regulados por un complejo sistema de control que se encarga de integrar la información de las correspondientes señales extra o intracelulares.

Esta coordinación del control del ciclo se lleva a cabo a través de proteínas **quinasas dependientes de ciclina** (Cdks, acrónimo del inglés *cyclin dependent kinases*) que fosforilan restos de serina y treonina. Su actividad depende de la asociación a ellas de otras proteínas, denominadas ciclinas (Cyc) para las que existe un ciclo de síntesis y degradación durante cada división celular. Diversos complejos Cdk/Cyc se forman y destruyen a lo largo del ciclo y su actividad, dirige el avance del mismo. La formación de estos complejos activos está principalmente regulada a nivel de la transcripción o degradación de ciclinas y la modulación de la actividad Cdk mediante fosforilación/desfosforilación o por unión de inhibidores específicos (apartado 2.4.1.3. para una descripción más amplia de la modulación de Cdks).

Durante el ciclo celular, existen puntos de control (“check points”) en los que la célula comprueba su estado y decide sobre la continuidad en el ciclo o la salida del mismo. Desde los puntos de control G<sub>2</sub>/M y M, la célula pone en marcha los procesos de división del núcleo y división celular, respectivamente. Pero el más importante sin duda es el llamado **punto de restricción** (punto R)<sup>2</sup>, en la segunda mitad de la fase G<sub>1</sub>, que resulta el principal punto de decisión para la proliferación en condiciones normales.

El punto R divide al ciclo celular en dos periodos. El correspondiente a la primera mitad de la fase G<sub>1</sub> es aquel en que la célula es capaz de responder a estímulos mitogénicos o antimitogénicos extracelulares (ej. factores de crecimiento) y el resto del ciclo celular en el que la célula es prácticamente insensible a señales externas. Una vez que la célula ha pasado por el punto R, es capaz de completar el ciclo de forma automática. Únicamente determinadas señales internas, como daños en el genoma o alteraciones serias en el metabolismo, pueden detenerla en alguna fase del ciclo celular.

La principal diferencia entre los puntos de control G<sub>2</sub>/M y M o el punto R es que, en los primeros, la célula comprueba que las etapas previas del ciclo se han ejecutado

correctamente o bien que la maquinaria metabólica y el genoma están en orden, antes de proseguir en el ciclo. Sin embargo, en el punto R la célula integra la información recibida durante la primera mitad de la fase  $G_1$ , principalmente procedente de señales extracelulares, y decide o bien completar la fase  $G_1$  y el ciclo celular o, por el contrario, detenerlo para entrar en fase  $G_0$  o en un estado postmitótico de mayor diferenciación<sup>3</sup>.

La llave que permite el paso a través del punto R parece ser la hiperfosforilación de pRb (**proteína retinoblastoma** o **supresora de tumores**), que antes de ser fosforilada actúa como represor del crecimiento por unión e inhibición de la familia de factores activadores de la expresión génica E2F, controladores de la expresión de genes esenciales para la síntesis de ADN (entre ellos cyc-A y cyc-E, que además activan la acumulación de Cyc-B, reguladora de la entrada en mitosis a través del paso por el punto de control  $G_2/M$ ). Por otro lado, el pRb hipofosforilado es un inhibidor de ARN polimerasas, por lo que interfiere con el crecimiento celular en general. La fosforilación de pRb se lleva a cabo mediante complejos Cdk/Cyc en dos etapas: la primera consiste en una fosforilación parcial mediada por complejos Cdk4/Cyc-D y Cdk6/Cyc-D; en la segunda etapa, se completa la fosforilación por la acción de complejos Cdk2/Cyc-E y Cdk2/Cyc-A. La desfosforilación de pRb se realiza mediante **fosfatasa tipo-1** (PP1, acrónimo del inglés *type-1 protein phosphatases*) cuya actividad también se mantiene inhibida por acción de los complejos Cdk/Cyc.

La actividad de las ciclinas que intervienen en la regulación del paso a través del punto R y que, por consiguiente, ponen en funcionamiento el ciclo celular, se induce por la presencia de factores de crecimiento y se reprime por factores inhibidores de la proliferación celular en la primera mitad de la fase  $G_1$ . La unión de los factores de crecimiento a receptores de membrana estimula una cascada de transducción intracelular (Ras-Raf-MAP quinasa) que activa **genes de respuesta temprana** (ERG, acrónimo del inglés *early response genes*) y éstos a **genes de respuesta tardía** (DRG, acrónimo de inglés *delayed response genes*). Entre estos últimos se encuentran los cyc-D. Los complejos Cdk-4/Cyc-D y Cdk-6/Cyc-D pueden inducir la destrucción del inhibidor de Cdk p27<sup>Cip1</sup> ayudando al paso de la célula a través del punto R. Pero además las propias ciclinas limitan su formación en la fase  $G_1$  mediante distintos mecanismos de retroalimentación negativa: Cyc-A y Cyc-B fosforilan E2F inactivándolo



Otro punto de control se halla en la fase M, entre las etapas de metafase y anafase de la mitosis. Aquí se comprueba que no haya errores en la formación del huso acromático, en el alineamiento de los cromosomas y en el reparto de cromosomas entre las dos células hijas. Los mecanismos de control son poco conocidos aunque, recientemente, se han identificado algunos proto-oncogenes implicados.

## **2.2. Mecanismos celulares de defensa ante alteraciones en el ADN: Apoptosis.**

Dado el papel del ADN como responsable de la herencia genética, es necesario que se replique con elevada fidelidad. Sin embargo, el número de lesiones espontáneas que ocurren en el mismo, en condiciones fisiológicas, es elevado. Ante la aparición de dichos errores la célula detiene el ciclo celular en cualquiera de sus puntos de control y responde mediante activación de mecanismos reparadores, cuya eficacia ante cada tipo de lesión determina el que tenga lugar la supervivencia de la célula, la parada del ciclo o la consiguiente extinción del tipo celular mediante la activación de los correspondientes mecanismos de apoptosis. De esta forma se previene la acumulación de mutaciones que pueden provocar proliferaciones anómalas de células o comportamientos aberrantes.

La activación de la apoptosis, en la mayoría de los tejidos, es consecuencia de la aparición de daños irreparables en el ADN, sin embargo, en aquellos tejidos más sensibles a la aparición de errores (ej. aquellos con mayor potencial de proliferación), ésta puede activarse además ante lesiones menores en el material genético<sup>5</sup>.

Las proteínas que reconocen los daños en el ADN pertenecen a la familia ATM (*ataxia telangiectasia mutated*) de quinasas PI3. Los distintos tipos de lesiones en el ADN activan diferentes proteínas ATM y éstas ponen en marcha cascadas de señalización a través de quinasas Chk1 y/o Chk2 (acrónimo del inglés *check point kinases*) que pueden concluir en la inducción de **genes supresores de tumores** inhibidores de la actividad Cdk4/Cyc-D y Cdk2/Cyc-E y, por tanto, inhibidores de la fosforilación de pRb. Los genes supresores de tumores son factores de transcripción que actúan activando al inhibidor de Cdk p21<sup>Cip1</sup>. El ciclo así queda detenido en la fase G<sub>1</sub>, antes del paso por el punto R. Entre los genes supresores de tumores implicados es

necesario p53 que, al ser fosforilado (bien directamente por ATM o bien a través de Chk1 o Chk2), queda estabilizado y aumentan sus niveles. Para ser efectivo, p53 necesita su asociación al **factor regulador de interferón** IRF-1 (acrónimo de inglés *interferon regulatory factor*) cuyos mecanismos de activación aún no se han esclarecido. Por otro lado, las quinasas Chk1 y Chk2 pueden inactivar las fosfatasas Cdc25, cuya función es eliminar determinados grupos fosfato inhibidores de los complejos Cyc-B/Cdc2 y Cdk2/Cyc-A activándolos para la estimulación de procesos de entrada en mitosis. De este modo, se inicia la parada del ciclo celular en el punto de control G<sub>2</sub>/M y para mantenerlo, es necesaria la presencia de p53 y p21<sup>Cip1</sup>, como se muestra en la Figura 2.2<sup>5</sup>.

Además, las proteínas ATM ponen en marcha los mecanismos reparadores de ADN mediante la activación de las correspondientes enzimas encargadas para cada uno de ellos.

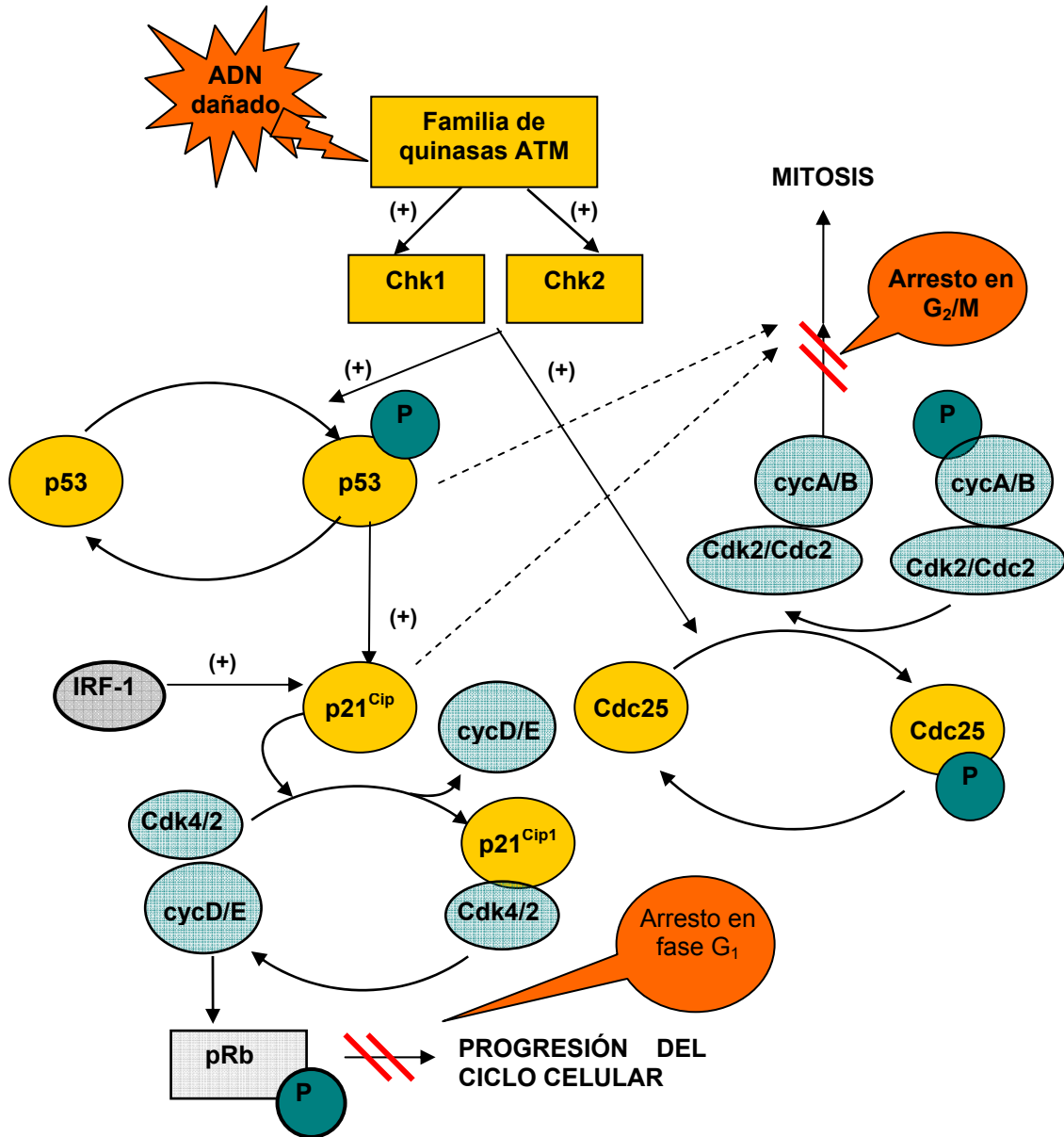


Figura 2.2. Esquema de los procesos implicados en la reparación del ADN. En amarillo, cascada de señales de parada del ciclo desencadenada por proteínas ATM.

### 2.2.1. Apoptosis.

La apoptosis es un proceso mediante el que las células con graves daños en el ADN se degradan funcional o estructuralmente y son eliminadas, permitiendo mantener la normalidad en los tejidos y protegiendo así al organismo de la persistencia de células con mutaciones potencialmente transformantes.

Los mecanismos de la apoptosis pueden activarse en cualquier fase del ciclo bien, intracelularmente al detectarse daños en el ADN o mediante la activación de programas

genéticamente definidos; o bien, extracelularmente mediante proteínas endógenas, citoquinas y hormonas, así como por agentes químicos, radiaciones, estrés oxidativo e hipoxia.

El control de la apoptosis se ha conservado a lo largo de la evolución en especies muy distintas. En mamíferos, son varias las cascadas de señales que pueden activar los mecanismos de apoptosis y éstas son distintas dependiendo del estímulo apoptótico. La mayoría de ellas converge a nivel de la activación de las proteínas efectoras que son unas proteasas denominadas caspasas. En condiciones normales, las caspasas existen como zimógenos con poca actividad que deben sufrir proteólisis para su activación. Las primeras en activarse son las caspasas iniciadoras, capaces de catalizar su propia proteólisis. Éstas, una vez activas, catalizan la proteólisis de las caspasas efectoras.

A modo de ejemplos, las señales apoptóticas iniciadas en receptores TNF (acrónimo del inglés *tumor necrosis factor* o *factor de necrosis tumoral*) están mediadas por proteínas TRADD y FADD y acaban en pro-caspasa-8. Las señales apoptóticas inducidas por eliminación de factores de crecimiento están mediadas por proteínas de la familia Bcl-2 y acaban en pro-caspasa-9. Las señales apoptóticas inducidas por daño celular están mediadas por p53/IRF-1 a través de Noxa y de proteínas de la familia Bcl-2<sup>5</sup>.

### **2.3. Alteraciones de la proliferación y aparición de cáncer.**

El Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) define cáncer como el crecimiento descontrolado y diseminación de células anormales en el organismo, que invaden y dañan tejidos u órganos. Las células tumorales escapan del control en el ciclo celular, presentan suficiencia respecto a las señales de crecimiento así como también insensibilidad frente a las señales inhibitoras del mismo, desarrollando menor capacidad de adhesión al tejido y evadiendo la muerte celular programada. Además son capaces de sostener su propia angiogénesis. En consecuencia, el resultado final es una proliferación incontrolada sin diferenciación celular.

A nivel molecular, el desarrollo neoplásico tiene su origen en la acumulación de mutaciones que producen distintas alteraciones en la regulación del ciclo celular, el procesamiento del ADN dañado, los mecanismos de apoptosis, etc.<sup>6</sup>. Los genes que intervienen en dichos procesos, ya sea como ligandos, receptores, transductores intracelulares o factores de transcripción, se denominan proto-oncogenes y sus correspondientes mutaciones oncogenes. Igualmente, los genes supresores de tumores o anti-oncogenes juegan un papel crítico en la inhibición de la proliferación celular y su mutación provoca el descontrol de la misma<sup>7</sup> (ej. p53, implicado tanto en la inducción de la apoptosis como en la regulación del ciclo celular, es determinante en la sensibilidad a la terapia anticancerosa de algunos fenotipos malignos).

#### **2.4. Terapia anticancerosa.**

En la actualidad, la investigación sobre terapia anticancerosa incluye, de forma muy general, las siguientes estrategias para la supresión farmacológica de fenotipos celulares malignos.

- Terapias de inhibición en la síntesis de ADN. Provocan la muerte celular debido a la detención del metabolismo, crecimiento y proliferación celular (terapias citotóxicas).
- Terapias que producen lesiones en el ADN, capaces de activar los procesos fisiológicos que conducen a la apoptosis.
- Terapias que actúan en el ciclo celular, sobre proteínas reguladoras o efectoras. Esta aproximación busca la detención del ciclo, principalmente en su fase G<sub>1</sub>, desde donde la célula puede proceder a su diferenciación. No se trata de producir la muerte celular sino la reversión del fenotipo maligno.

Para el éxito de la terapia anticancerosa son necesarios estudios genómicos y proteómicos de los pacientes, de modo que queden establecidos los marcadores predictivos que aconsejarán el tipo de terapia a seguir. Por otra parte, las características moleculares de los diferentes fenotipos malignos determinarán la respuesta al tratamiento<sup>7</sup>.



Actualmente el arsenal terapéutico antitumoral se está viendo enriquecido con agentes dirigidos a nuevas dianas farmacológicas. A continuación se expone un breve resumen de algunos de los enfoques que se están desarrollando en la actualidad.

#### **2.4.1. Terapia de diferenciación<sup>8</sup>.**

La terapia diferenciadora está basada en el uso de agentes capaces de revertir los fenotipos tumorales hacia formas benignas, sin potencial proliferativo, restaurando los controles del ciclo celular que se encuentran alterados en los procesos cancerosos. Una vez reestablecido el desarrollo normal del ciclo celular, es posible la diferenciación y el cese de la proliferación incontrolada<sup>8</sup>. Como ventaja frente a la estrategia citotóxica, se espera de ella una disminución de los efectos adversos colaterales en los tejidos sanos.

Los agentes inductores de la diferenciación celular desarrollados hasta el momento pertenecen a una amplia gama de estructuras químicas y ejercen su efecto a través de distintos mecanismos de acción.

##### **2.4.1.1. Inhibidores de histona-desacetilasas (HDACs)<sup>8</sup>.**

Las histonas son pequeñas proteínas que se asocian con el ADN en los cromosomas eucariotas, formando estructuras llamadas nucleosomas, en las que la doble hebra se empaqueta alrededor de histonas altamente conservadas (H3, H4, H2A, H2B y H1)<sup>1</sup>. Estos nucleosomas se repliegan y dan lugar al mayor grado de organización estructural que constituyen las fibras de cromatina nuclear. Cuando la cromatina se halla altamente compactada no se puede transcribir, debido a la inaccesibilidad de la maquinaria implicada. La participación de las histonas en la compactación de la cromatina determina su importancia en el proceso de transcripción y, por ello, puede presentarse como un objetivo terapéutico<sup>8,9</sup>.

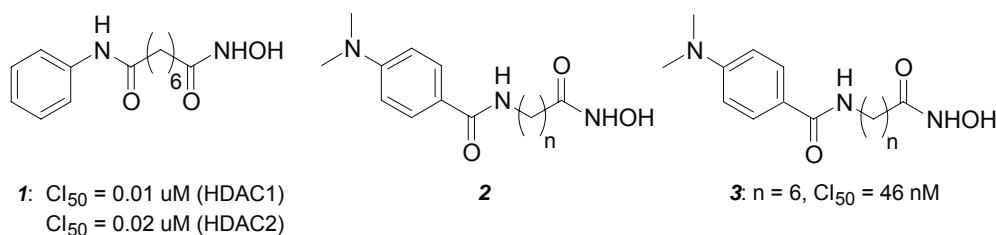
La funcionalidad de las histonas está regulada por una serie de modificaciones post-translacionales en su extremo amino. Entre ellas se incluyen procesos de acetilación/desacetilación de determinados restos de lisina, que afectan a la capacidad para formar uniones histona-ADN e histona-histona y, por tanto, a la estructura de la

cromatina. Las actividades histona-acetil-transferasa (HAT) e histona-desacetilasa (HDAC) se asocian a factores de transcripción específicos de secuencia y, dependientes de ligando (ej. RARs, véase apartado 2.4.1.2.a.), activan la transcripción de los genes diana (HAT) o la inhiben (HDAC). Existe un elevado número de isoenzimas HDAC en mamíferos, que se han dividido en tres subclases (la subclase III es dependiente de NAD), y que llevan a cabo la hidrólisis del grupo acetamido de forma zinc-dependiente<sup>12</sup>.

En diversos tipos de cáncer se ha encontrado una elevada actividad HDAC asociada a los genes implicados. Por ello se han desarrollado inhibidores de HDAC como posibles nuevos fármacos en la terapia diferenciadora y su diseño se ha realizado basándose en el mecanismo de actuación, mediante la mimetización del estado de transición de la unión del sustrato y la quelación del zinc. Estos compuestos, han demostrado capacidad de inducción a la diferenciación, presentando además actividades antiproliferativas y apoptogénicas.

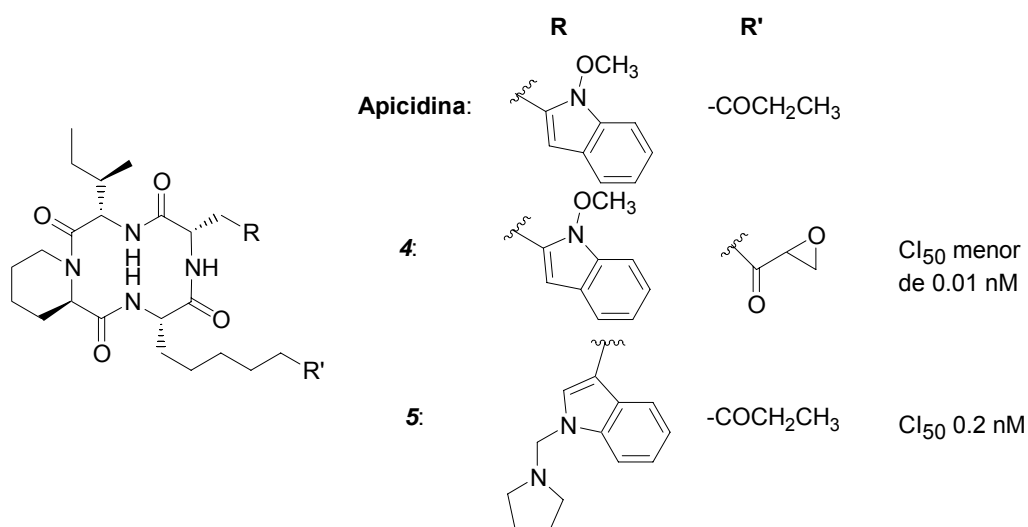
Las estructuras de los agentes inhibidores HDAC son muy diversas: ácidos grasos de cadena corta, ácidos hidroxámicos, benzamidas y tetrapéptidos cíclicos.

Los ácidos hidroxámicos presentan en común en su estructura dos grupos polares separados por un espaciador apolar, consistente éste último en una cadena formada por 5 o 6 grupos metileno. El compuesto denominado SAHA (**1**), se sintetizó con el objetivo de comprobar el efecto de un grupo fenilo hidrofóbico situado en uno de los extremos de la molécula y como resultado, la potencia inhibidora HDAC de este compuesto se sitúa en el rango nanomolar<sup>10</sup>. En el desarrollo de los ácidos hidroxámicos, ha participado esencialmente el grupo de Jung y cols.<sup>11</sup>, que han descrito la estructura general (**2**) indicada en la Figura 2.3. En ella, dos regiones, una responsable de la selectividad enzimática y otra responsable de la capacidad inhibidora, se separan mediante un espaciador. Posteriormente, se han desarrollado numerosos inhibidores basados en este modelo, un ejemplo de los cuales, es el compuesto **3**<sup>12</sup>.



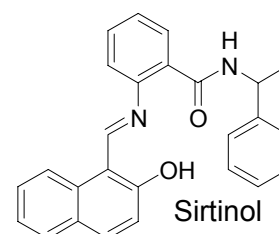
**Figura 2.3.** Estructuras de algunos ácidos hidroxámicos inhibidores HDAC.

Entre los tetrapéptidos cíclicos es destacable la apicidina (Figura 2.4). Se trata de un producto natural, aislado de *Fusarium pallidoroseum* que presenta una potente actividad inhibitoria HDAC ( $Cl_{50} = 1\text{-}2 \text{ nM}$ )<sup>13</sup>. A partir de su estructura, se han preparado modificaciones de actividad picomolar, como los compuestos **4** y **5**, que se muestran en la Figura 2.4.



**Figura 2.4.** Estructuras de la apicidina y otros tetrapéptidos cíclicos inhibidores HDAC.

Los inhibidores selectivos de las isoenzimas HDAC pertenecientes a la clase III, dependientes de NAD, mimetizan los restos de adenina o nicotinamida del cofactor NAD. Tal es el caso del sirtinol (Figura 2.5,  $Cl_{50} = 40 \mu\text{M}$ ).



**Figura 2.5**

### **2.4.1.2. Receptores nucleares<sup>8</sup>.**

#### **2.4.1.2.a. Retinoides.**

Los retinoides, análogos naturales o sintéticos de la vitamina A, intervienen en una multitud de procesos fisiológicos que incluye diferenciación celular, proliferación y apoptosis. Estas moléculas son ligandos naturales de los receptores nucleares denominados RARs (**receptores del ácido retinoico**), factores de transcripción dependientes de ligando, de los cuales se han descrito tres subtipos RAR $\alpha$ , RAR $\beta$  y RAR $\gamma$  con distribución específica en distintos tejidos<sup>15</sup>. Estos receptores activan la transcripción asociados a los receptores RXRs (**receptores del retinoide-X**) en forma de heterodímeros, en los que cada monómero presenta un dominio de unión a ligando (LBD, acrónimo del inglés *ligand binding domain*)<sup>14</sup>. El ácido 9-*cis*-retinoico se ha descrito como ligando natural de los receptores RXRs, mientras que el ácido *trans*-retinoico lo es de los receptores RARs.

Dada su capacidad para intervenir en el control de la diferenciación y la proliferación celular, los retinoides están siendo estudiados como agentes preventivos y paliativos en determinados tipos de cáncer. Como inconveniente, presentan una elevada toxicidad, consecuencia de su gran capacidad para la interacción con cualquiera de los subtipos de receptores RAR, que presentan un alto grado de homología en los dominios de unión a ligando. Por ello, la preparación de estructuras capaces de discriminar entre los distintos subtipos de receptores, se ha convertido en objetivo fundamental de estudio, aunque se ha visto dificultada por el actual desconocimiento de la estructura tridimensional de los RARs<sup>15</sup>.

En general, en los retinoides no convencionales, se ha eliminado la cadena inestable de polieno y se ha disminuido su hidrofobicidad para eliminar la toxicidad. La estructura general de las nuevas moléculas contiene una parte hidrofóbica y una carboxílica, unidas mediante un espaciador<sup>8</sup>, tal y como se recoge en la Figura 2.6, donde se muestran agonistas selectivos RAR $\alpha$  (**6-9**) o RAR $\gamma$  (**10a**)<sup>8,15</sup>.

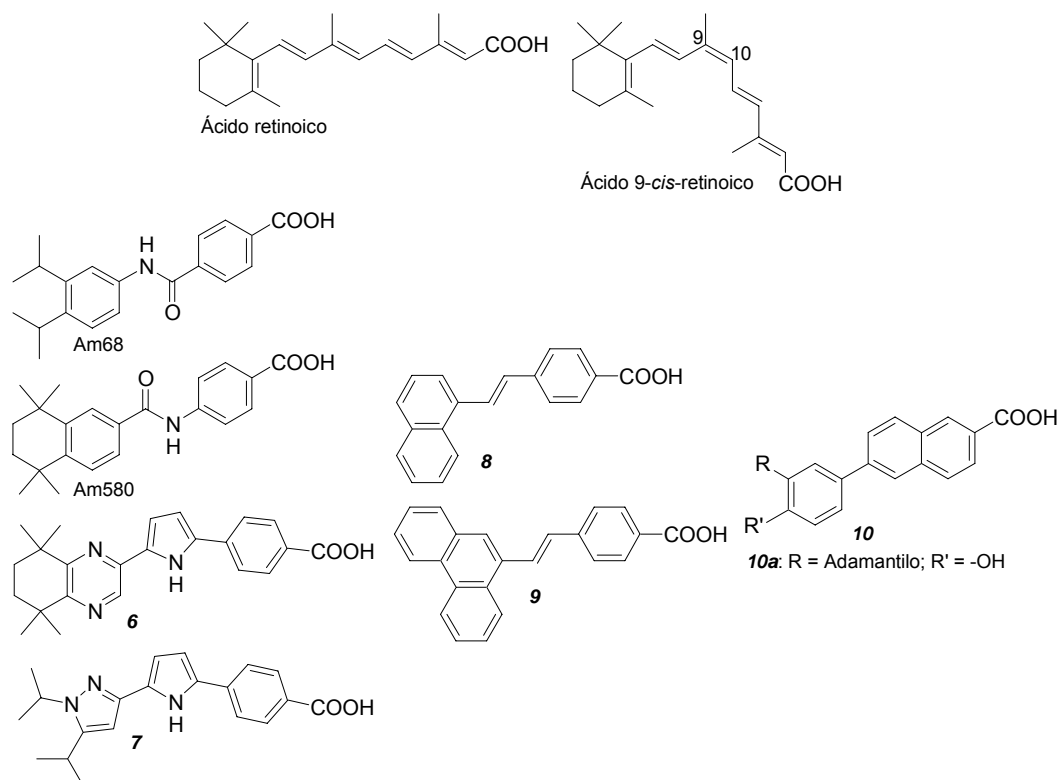


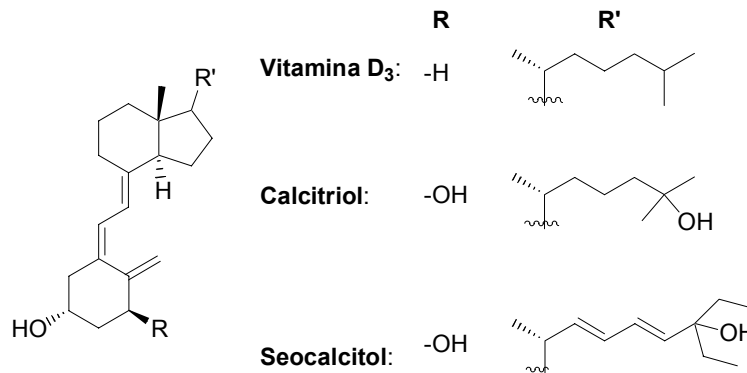
Figura 2.6. Ligandos naturales y sintéticos de los receptores RAR.

#### 2.4.1.2.b. Análogos de la vitamina D<sub>3</sub><sup>8</sup>.

El calcitriol (1 $\alpha$ ,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>) es el metabolito activo de la vitamina D<sub>3</sub>, (Figura 2.7) y el ligando natural de los receptores nucleares VDR (**receptores de vitamina D**, acrónimo del inglés *vitamin D receptors*). Éstos son factores de transcripción a través de los cuales se participa en el control del crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis, como consecuencia de la inducción de determinados inhibidores de Cdks y la perturbación en la distribución subcelular de fosfatasa. La vitamina D<sub>3</sub> es, además, sinergista de otros inductores de la diferenciación celular.

Con el objetivo de su utilización en la terapia de diferenciación se han sintetizado varios derivados de calcitriol en los que se han introducido modificaciones estructurales, en un intento de aumentar la capacidad diferenciadora y disminuir la hipercalcemia asociada a la vitamina D. Un ejemplo destacable es el seocalcitol (Figura 2.7), de 100 a

200 veces más potente que el calcitriol, en cuanto a la inducción en la diferenciación *in vivo* e *in vitro* sin apenas aumentar la calcemia.



**Figura 2.7.** Estructuras químicas de la vitamina D<sub>3</sub>, su metabolito activo (calcitriol) y el análogo sintético seocalcitol.

### 2.4.1.3. Inhibidores de quinasas dependientes de ciclina.

Las quinasas dependientes de ciclina (Cdks) son proteínas implicadas en la regulación del ciclo celular. En ellas converge una gran diversidad de señales reguladoras del crecimiento celular y su misión es integrar la información, permitiendo la progresión del ciclo o deteniéndolo. Constituyen una familia de proteínas quinasas heterodiméricas Ser/Thr que contienen una subunidad catalítica y otra subunidad para su activación mediante ciclinas (Cyc). Como característica principal, las Cdks poseen una gran flexibilidad estructural que juega un destacado papel en la regulación de su actividad<sup>16</sup>.

La activación de una Cdk tiene como consecuencia la progresión del ciclo celular a través de la etapa que regula, mientras que su inactivación detiene el ciclo celular en dicha fase. Existen distintas Cdks para el control de cada una de las etapas del ciclo celular y distintas ciclinas activadoras en cada una de esas fases. Se han descrito al menos seis tipos de ciclinas en los animales superiores (Cyc-A, B, C, D, E, F). Las Cyc-D, producidas al inicio de G<sub>1</sub>, forman complejos con Cdk4 y Cdk6 que provocan el paso de la célula a través de esta fase; se forma entonces la Cyc-E y su asociación a Cdk2 permite el paso a la fase S. En la fase S, Cdk2/Cyc-A activa el paso a G<sub>2</sub> y en caso de inhibición del complejo se produce apoptosis. Cdk1/Cyc-B promueve el paso a M

desde  $G_2^{17}$  (véase el apartado 2.1. para una descripción más amplia del papel de las Cdks en la regulación del ciclo celular).

El proceso de activación de las Cdks ocurre en dos etapas:

Etapa 1.- Activación parcial a través de la unión con una subunidad de ciclina, produciendo una reestructuración del enzima y disponiendo adecuadamente los restos necesarios en el centro activo.

Etapa 2.- Fosforilación del complejo Cdk/Cyc mediante la acción de una proteína quinasa activadora de Cdks (CAK), provocando el cambio conformacional adecuado para la estructura activa de la Cdk.

La regulación de este proceso de activación Cdk se realiza en el primer paso del mismo, ya que, mientras las Cdks son constitutivas, los niveles de ciclina varían a lo largo del ciclo celular como respuesta a estímulos externos e internos (aumentan por activación de sus promotores y disminuyen mediante proteólisis mediada por ubiquitina)<sup>8</sup>.

Se han descrito dos familias de inhibidores de Cdks, que se activan por señales antiproliferativas: Cips (**familia de proteínas inhibidoras de quinasas**), que pueden inhibir Cdks reguladoras en cualquier fase del ciclo celular e INK4s (**inhibidores de Cdk4**), que inhiben específicamente a las Cdks que actúan en la fase  $G_1$  del ciclo celular. Las proteínas Cip se unen al complejo activo Cdk/Cyc, bloqueando el centro activo enzimático, mientras que los inhibidores pertenecientes a la familia INK4 pueden unirse a la Cdk inactiva impidiendo así la unión de la correspondiente ciclina o bien, se unen al complejo Cdk-Cyc inhibiéndolo<sup>16</sup> (Figura 2.8)

Los niveles de los reguladores de Cdks, así como los de las propias Cdks, se encuentran frecuentemente alterados en procesos cancerosos. A modo de ejemplos, citaremos las Cyc-D que están amplificadas en cánceres de mama, la  $p16^{INK4a}$  que muta en, aproximadamente, un tercio de los cánceres humanos y la  $p21^{Cip1}$  que se activa a través de p53, siendo éste el gen más frecuentemente mutado en dichos procesos<sup>16</sup>. Por ello y dado que una baja actividad Cdk está normalmente asociada a la pérdida de

capacidad proliferativa celular, salida del ciclo celular y entrada en fase G<sub>0</sub> en la que la célula permanece diferenciada, los compuestos inhibidores Cdk son uno de los objetivos de la terapia diferenciadora<sup>8</sup>. Agentes que, por otro lado, podrían constituir también enfoques novedosos en el tratamiento de otras alteraciones de la proliferación como inflamación, aterogénesis y determinadas infecciones parasitarias<sup>18</sup>.

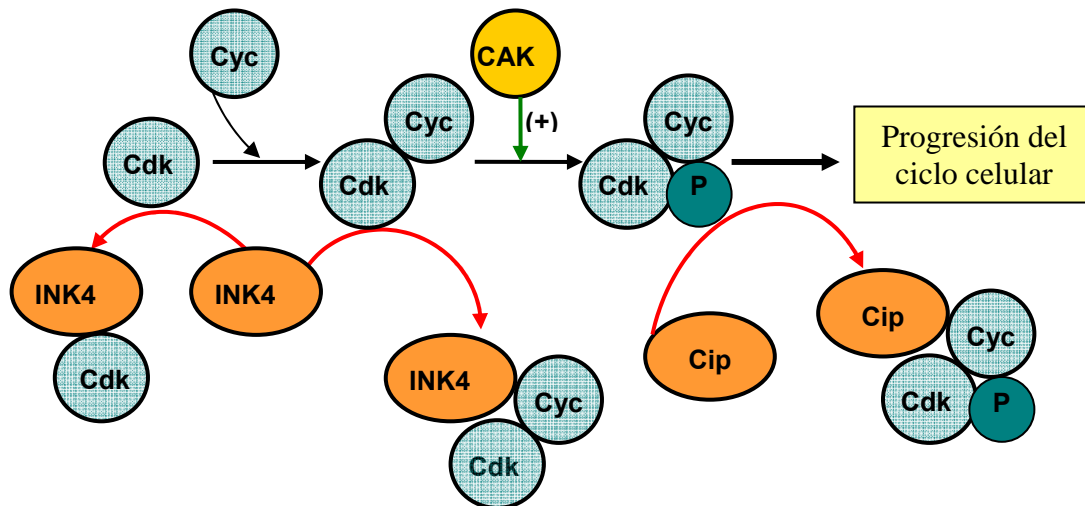


Figura 2.8. Regulación de la actividad Cdk.

Los compuestos inhibidores Cdk que se citan en bibliografía proceden de una gran variedad de fuentes pero tienen ciertas características en común: son moléculas planas, poseen heterociclos hidrofóbicos y, en su mayoría, son antagonistas competitivos del ATP (aunque también se han preparado no competitivos), capaces de establecer enlaces de hidrógeno con los grupos amino y carbonilo de Leu83 y Glu81 en la Cdk<sup>8</sup>. El descubrimiento de cabezas de serie mediante ensayo de librerías moleculares, el análisis estructural del sitio de unión del ATP a Cdk, así como también el estudio de las regiones altamente conservadas o variables de dichas proteínas, han permitido la preparación de potentes inhibidores que se han dividido en tres grandes grupos<sup>8</sup>:

- 1.- Inhibidores no selectivos de Cdk: Inhiben además otras quinasas y son compuestos naturales o sintéticos que pertenecen a una primera generación de moléculas procesadas a través de un "screening" en librerías informatizadas.
- 2.- Inhibidores selectivos de Cdk1 y Cdk2.
- 3.- Inhibidores selectivos de Cdk4 y Cdk6.



### 2.4.1.3.a. Grupo 1: Inhibidores no selectivos Cdk.

El flavonoide flavopiridol (Figura 2.9), antagonista reversible competitivo de ATP y no competitivo de los péptidos sustrato de Cdk<sup>18</sup> ( $CI_{50}$  = 0.2  $\mu$ M sobre Cdk1/Cyc-B y Cdk4/Cyc-D1 *in vitro*), con capacidad para detener el ciclo celular en los cambios G<sub>2</sub>/M y G<sub>1</sub>/S, inducir apoptosis y diferenciación celular e inhibir la angiogénesis, se descubrió en un programa de tamizado molecular o “screening”. Se ha utilizado como punto de partida para la preparación de inhibidores selectivos.

Así, estudios sobre relaciones estructura-actividad y de difracción de rayos X en el complejo cristalizado Cdk2/flavopiridol, han mostrado algunas características de la unión de este compuesto a sus dianas<sup>8,19</sup>:

- El anillo de benzopirano ocupa la posición de la purina del ATP en el lugar de unión a Cdk.
- La presencia del anillo D y la relación *cis* entre sus sustituyentes es necesaria para la actividad inhibidora Cdk. El hidroxilo en dicho anillo interacciona con Lys33 en el lugar de unión y su eliminación produce una disminución moderada de la capacidad inhibitoria. El átomo de nitrógeno y su posición deben mantenerse para conservar la actividad, ya que permite la formación de un enlace de hidrógeno N-Asp145 indispensable para la inhibición.
- El anillo C es sustituible por heterociclos (ej. piridina) sin pérdida significativa de actividad. Sobre él se han introducido grupos capaces de interactuar con residuos de aminoácidos presentes únicamente en determinados tipos de Cdk en un intento de infundir selectividad. El compuesto **11** se preparó con grupos aceptores de enlaces de hidrógeno para favorecer la interacción con Lys89 de Cdk2 ( $CI_{50}$  sobre Cdk2/Cyc-A = 30 nM;  $CI_{50}$  sobre Cdk4/Cyc-D1 = 1.87  $\mu$ M).
- Los grupos hidroxilo en posiciones 5 y 7 del núcleo de flavona son necesarios porque establecen interacciones por enlaces de hidrógeno con Glu81 y Leu83.

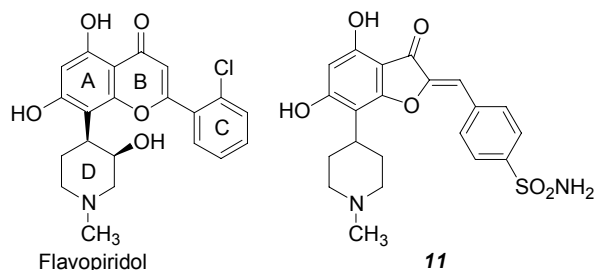


Figura 2.9. El flavonoide flavopiridol y su derivado inhibidor selectivo de Cdk-2.

### 2.4.1.3.b. Grupo 2: Inhibidores selectivos Cdk1 y Cdk2.

El conocimiento del lugar de unión del ATP a Cdk2 ha permitido el diseño de nuevas estructuras y la optimización de prototipos antagonistas competitivos, aplicando tan sólo criterios estructurales.

Schutz y col.<sup>20</sup> han sintetizado la mayoría de los inhibidores Cdk más potentes con estructura purínica. En general, han llevado a cabo la preparación de purinas 2,6,9-trisustituídas a partir de olomucina, que han resultado ser inhibidores más selectivos de Cdk1 y Cdk2 que de Cdk4 (Figura 2.10). Se han preparado 6-aminopurinas (ej. purvalanol B, con  $Cl_{50} = 6$  nM frente a Cdk1/Cyc-B, Cdk2/Cyc-A y Cdk5/p35 y con  $Cl_{50} = 9$  nM frente a Cdk2/Cyc-E; roscovitina, con  $Cl_{50} = 0.7$   $\mu$ M frente a Cdk1/Cyc-B) y 6-oxipurinas (ej. compuesto **12**,  $K_i = 5$   $\mu$ M frente Cdk1 y  $K_i = 12$   $\mu$ M frente a Cdk2).

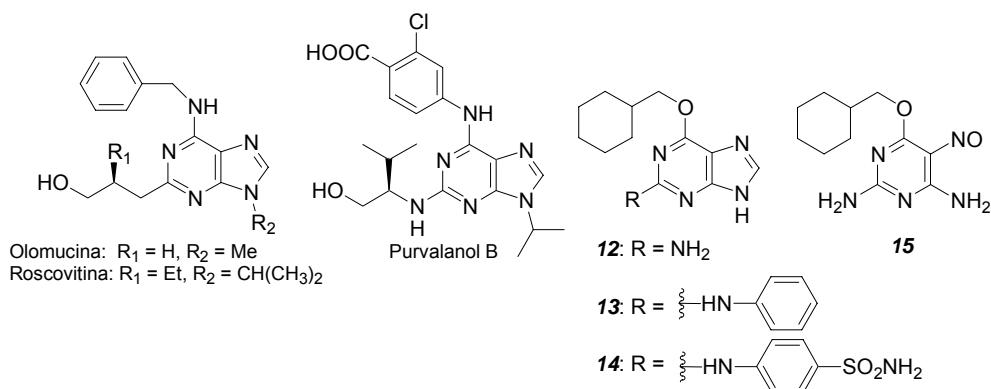


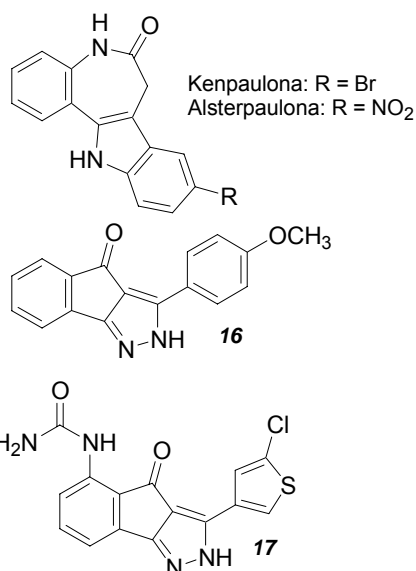
Figura 2.10. Ejemplos de estructuras inhibitoras selectivas Cdk-1 y Cdk-2.

Las interacciones que establecen estos compuestos con el sitio hidrofóbico del ATP en Cdk2 son distintas a las que realiza el propio ATP<sup>21,22</sup>:

- Un grupo hidrofóbico unido al oxígeno de las 6-oxipurinas, establece uniones con un bolsillo apolar capaz de admitir grupos relativamente voluminosos (uno de los más efectivos es el ciclohexilmetilo), determinando así la potencia inhibitoria.
- Los grupos que se unen al resto amino situado en posición 2 de las purinas, forman interacciones en la “superficie específica” de Cdk2 fuera del lugar de unión del ATP. Esta región es altamente variable entre las distintas Cdk2 por lo que estas interacciones determinan la selectividad en la inhibición, además de la potencia. Por ejemplo, en el compuesto **14** ( $K_i = 9$  nM frente a Cdk1 y  $K_i = 6$  nM frente a Cdk2), el resto anilino es capaz de establecer dos enlaces de hidrógeno con la superficie específica de Cdk2<sup>23</sup>.

Los mismos autores también han preparado pirimidinas, con actividad micromolar, que muestran actividad inhibitoria frente Cdk1 y Cdk2<sup>21,22</sup> (ej. compuesto **15**, Figura 2.10).

Las paulonas son benzazepinas que detienen el ciclo celular en G<sub>2</sub> mediante inhibición de los complejos Cdk1/Cyc-B y Cdk2/Cyc-A.



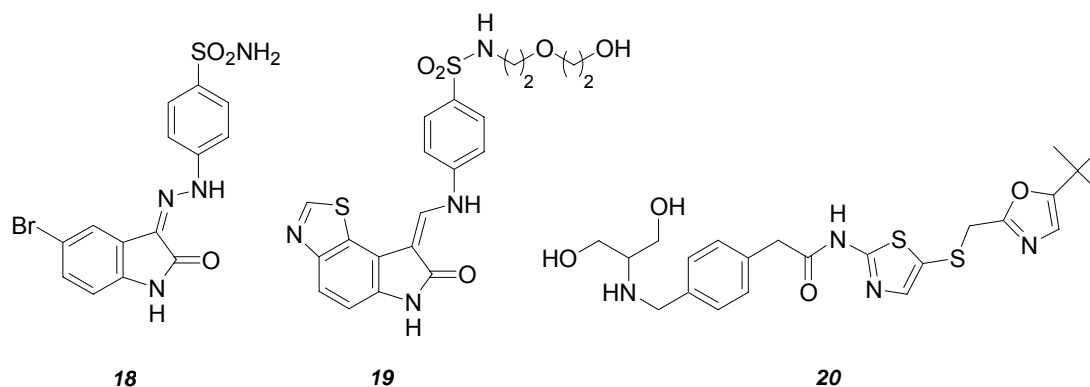
**Figura 2.11**

La kenpaulona, antagonista competitivo del ATP, se descubrió en un programa COMPARE sobre determinadas líneas tumorales, frente al flavopiridol, desarrollado por el Instituto Nacional del Cáncer en Estados Unidos (NCI, *National Cancer Institute*). La kenpaulona presenta  $CI_{50} = 0.4$   $\mu$ M frente a Cdk1/Cyc-B,  $CI_{50} = 0.7$   $\mu$ M frente a Cdk2/Cyc-A,  $CI_{50} = 7.5$   $\mu$ M frente a Cdk2/Cyc-E y es inactivo frente a Cdk4/Cyc-D1<sup>18</sup>. En ella, la presencia de un grupo atrayente de electrones en posición 9 es fundamental para la actividad. El cambio del sustituyente bromo por nitro en la alsterpaulona, incrementó considerablemente la potencia inhibitoria ( $CI_{50} = 35$  nM frente a Cdk1/Cyc-B)<sup>24</sup> (Figura 2.11).

También se han preparado derivados indenopirazólicos, que son inhibidores de Cdk2/Cyc-E y de Cdk4/Cyc-D1, de los cuales es cabeza de serie el compuesto **16** ( $CI_{50}$  = 26  $\mu$ M y 45  $\mu$ M respectivamente) y uno de los derivados más potentes, el **17** ( $CI_{50}$  = 13 y 57 nM respectivamente) (Figura 2.11)<sup>25</sup>.

En el grupo de los oxoindoles, desarrollados a partir del compuesto **18** mediante análisis estructura-actividad, se han preparado potentes inhibidores como **19** ( $CI_{50}$  = 0.54 y 12 nM frente a Cdk2 y Cdk1 respectivamente), con actividad como antagonista competitivo del ATP. No se observó variación en la actividad inhibitoria cuando se modificó la hidrazona o cuando se sustituyó el grupo amino de la sulfonamida en el compuesto **18** (Figura 2.12)<sup>26</sup>.

Otra familia de compuestos inhibidores selectivos Cdks son los 2-amino-5-tiotiazoles de los que el compuesto **20** es uno de los representantes más potentes ( $CI_{50}$  = 3 nM frente a Cdk2/Cyc-E)<sup>8</sup>.

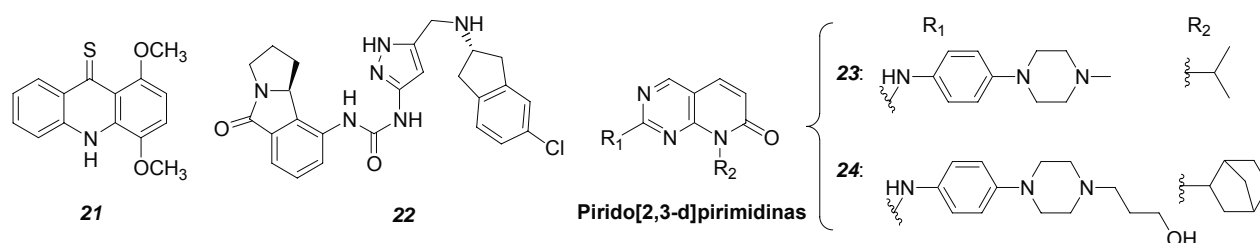


**Figura 2.12.** Algunos oxoindoles y 2-amino-5-tiotiazoles inhibidores selectivos Cdk1 y Cdk2.

#### **2.4.1.3.c. Grupo 3: Inhibidores selectivos Cdk4 y Cdk6.**

Existe un destacado interés por la parada del ciclo celular en fase  $G_1$ , momento en el que las células se hallan relajadas. Para ello es fundamental la inhibición selectiva de Cdk4 frente a Cdk1 y Cdk2. Aunque no es muy elevado el número de estructuras selectivas Cdk4 que se han desarrollado, existen ciertos compuestos destacables, que pasamos a enumerar a continuación.

Se han preparado péptidos formados por secuencias de aminoácidos presentes en las proteínas inhibitoras naturales de Cdk4 (p16<sup>INK4A</sup> y p21<sup>CIP1</sup>) y también se han sintetizado moléculas pequeñas, de las que las estructuras **21-24** son ejemplos característicos (Figura 2.13). Un ejemplo en las librerías de compuestos con estructura pirazolínica 3,5-disustituida es el compuesto **22**, en el que el nitrógeno amínico unido al pirazol forma interacciones de hidrógeno con Asp99 en Cdk4 y el grupo hidrofóbico que este nitrógeno porta es también importante para el establecimiento de interacciones con determinadas regiones apolares. En las pirido[2,3-d]pirimidinas, la selectividad Cdk4 viene determinada por los sustituyentes unidos a C2 (R<sub>1</sub>), donde se prefieren los restos aromáticos con grupos electrón donantes. La potencia inhibitoria depende del sustituyente en N8 (R<sub>2</sub>), siendo los restos voluminosos cicloalquílicos los más efectivos.



	<b>Cdk4</b>	<b>Cdk1</b>	<b>Cdk2</b>
<b>21</b>	/Cyc-D1 200 nM	>100 μM	>100 μM
<b>22</b>	2.3 nM	1.8 μM	0.5 nM
<b>23</b>	/Cyc-D 32 nM	/Cyc-B 0.7 μM	/Cyc-E 300 nM
<b>24</b>	8.0 nM	/Cyc-B >8.0 μM	/Cyc-E 200 nM

**Figura 2.13.** Estructuras inhibitoras selectivas Cdk-4 y Cdk-6 y sus Cl<sub>50</sub>.

#### 2.4.1.4. Inhibidores de ciclinas.

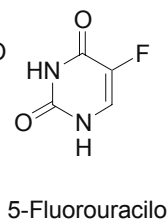
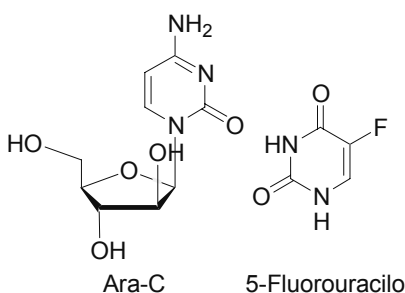
Recientemente la investigación en terapia de diferenciación ha dirigido la atención hacia los compuestos capaces de disminuir los niveles de ciclinas, bien por inhibición de su transcripción o por aumento de su degradación, con el fin último de reprimir la actividad Cdk.

Dragnev y col<sup>27</sup>. han realizado un estudio sobre la disminución de las ciclinas que participan en la fase G<sub>1</sub>. En dicho trabajo se ha observado cómo determinados agentes, como el ácido retinoico, retinoides no clásicos (ej. algunos agonistas RXR) y determinados triterpenos sintéticos (ej. ácido 2-ciano-3,12-dioxoleano-1,9-dien-28-oico) inhiben el crecimiento de células BEAS-2B (células humanas inmortalizadas de epitelio bronquial) mediante activación de la degradación dependiente de ubiquitina de Cyc-D1 y Cyc-E.

También se ha descrito cómo los fármacos antiinflamatorios no esteroídicos (AINEs) son capaces de disminuir la expresión de Cyc-D1 a través de la represión del factor de transcripción NF-κB. Éste controla, entre otros, la expresión de genes como los de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) y Cyc-D1. Takada y cols.<sup>28</sup> han obtenido valores de actividad antiproliferativa para una serie de AINEs comprendidos entre 6.09 mM (CI<sub>50</sub> para el ácido acetil salicílico) y 0.008 mM (tamoxifeno). El resveratrol, la curcumina y el celecoxib también resultaron buenos inhibidores de la proliferación (CI<sub>50</sub> entre 0.016 y 0.012 mM).

Otros autores indican que los agentes inhibidores de Cyc-D1 mejoran la eficacia de los tratamientos en tumores dependientes de estrógenos, como es el cáncer de mama, cuando se administran junto a fármacos anti-estrogénicos como el tamoxifeno. Esto es debido a que la Cyc-D1 es capaz de activar los receptores de estrógenos (RE) aunque no se conoce bien si por asociación física, o a través de su papel en la regulación del ciclo celular y, por tanto, la sobreexpresión de Cyc-D1 predice la ineficacia de los tratamientos, en este tipo de tumores<sup>29</sup>.

#### **2.4.1.5. Agentes citotóxicos en terapia diferenciadora.**



Determinados fármacos que se han utilizado tradicionalmente en la terapia citotóxica, han demostrado poseer capacidad para activar la diferenciación celular cuando se administran en bajas dosis o cuando se modifica su estructura<sup>8</sup>.

**Figura 2.14**

El antibiótico actinomicina D puede inducir cambios morfológicos y bioquímicos que convierten las células tumorales en diferenciadas. El 5-fluorouracilo (5-FU, Figura 2.14) es un antimetabolito que inhibe la timidilato sintasa, del que se ha descrito su capacidad diferenciadora frente a determinadas líneas tumorales humanas como K562 de leucemia<sup>8,30</sup>.

Por otro lado, está bien documentado el sinergismo que tiene lugar entre determinados agentes diferenciadores y algunos citotóxicos. La vitamina D<sub>3</sub> (Figura 2.7) se ha observado que potencia la acción del fármaco citotóxico ara-C para producir apoptosis (Figura 2.14)<sup>8</sup>.

#### **2.4.2. Terapia de inducción de apoptosis.**

El uso de agentes dañinos para el ADN en el tratamiento del cáncer puede activar genes supresores de tumores que provocan apoptosis y detención en el crecimiento. En este caso, la sensibilidad al tratamiento está influida por las alteraciones que puedan existir en la detección y reparación de los daños del ADN en cada tipo celular neoplásico. Así, en células ineficaces en el proceso de reparación, la acumulación de errores en el ADN puede tener como consecuencia la muerte celular pero también la conversión en un fenotipo distinto resistente al tratamiento y con potencial un metastático incrementado<sup>5</sup>.

El desarrollo de agentes preferentemente inductores de apoptosis es uno de los objetivos de la investigación antineoplásica en la actualidad.

#### **2.4.3. Terapia citotóxica.**

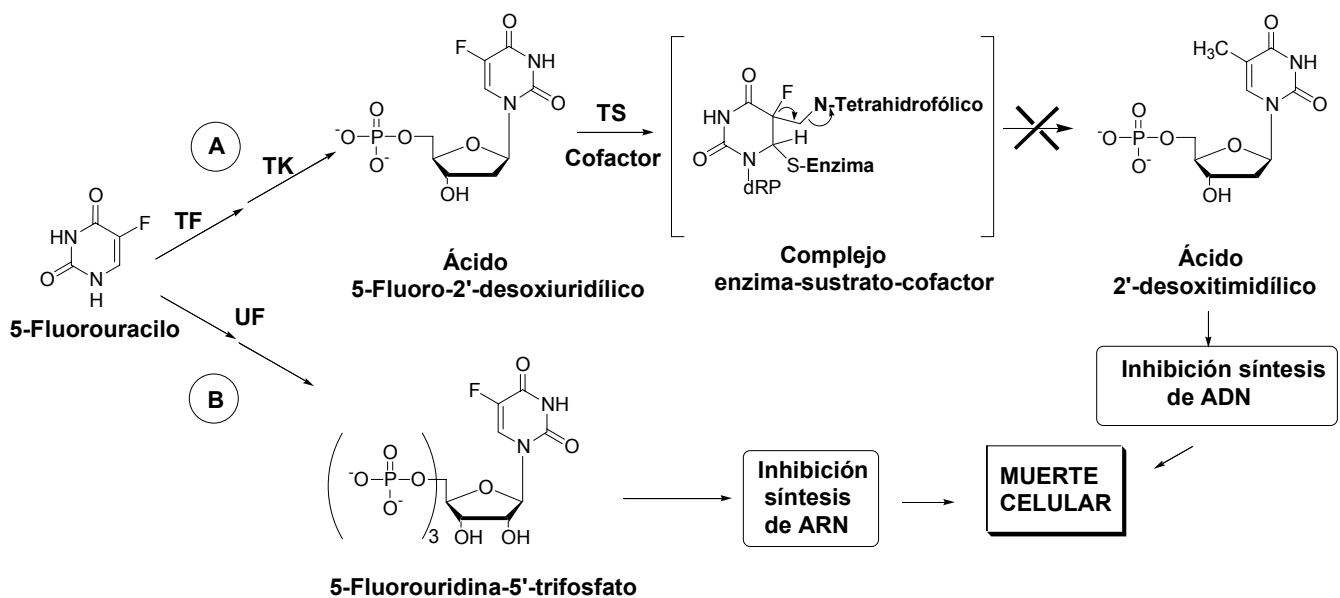
La importancia de los fármacos citotóxicos en la terapia anticancerosa es incuestionable. Hasta ahora han constituido la estrategia más efectiva para el tratamiento de los tumores, si bien su utilización conlleva una serie de efectos colaterales derivados por su capacidad para afectar también a células sanas y que, principalmente, se manifiestan en aquellos tejidos en los que la tasa de renovación

celular es mayor. Un segundo inconveniente de este tipo de terapia antitumoral es la aparición de resistencia al tratamiento<sup>8</sup>.

### 2.4.3.1. Antimetabolitos.

Los agentes antimetabolitos pertenecen a este grupo de fármacos. Su misión consiste en bloquear la síntesis de ADN mediante la inhibición de enzimas implicadas en su replicación<sup>8</sup>.

Entre ellos, el 5-FU (Figura 2.14) se utiliza en el tratamiento de tumores sólidos, especialmente en aquellos del tracto intestinal. Como antagonista competitivo del ácido 2'-desoxiuridílico, bloquea la enzima timidilato sintasa (TS) que cataliza la síntesis de timina a partir de uracilo, utilizando ácido *N*<sup>5</sup>,*N*<sup>9</sup>-metilentetrahidrofólico como cofactor dador de grupos metilo. Cuando el 5-FU se activa *in vivo* hasta ácido 5-fluoro-2'-desoxiuridílico, entra en la ruta sintética y forma un complejo enzima-fármaco-cofactor estable. La enzima queda inhibida irreversiblemente y la síntesis de ADN se detiene por falta de timina, lo que conlleva la muerte celular ("muerte atómica") (Figura 2.15)<sup>31</sup>.



TF: Timidina fosforilasa; TK: Timidina quinasa;  
TS: Timidilato sintasa; UF: Uridina fosforilasa.

**Figura 2.15.** A. Proceso de inhibición de la síntesis de ADN por 5-FU. B. Proceso de inhibición de la síntesis de ARN por 5-FU.

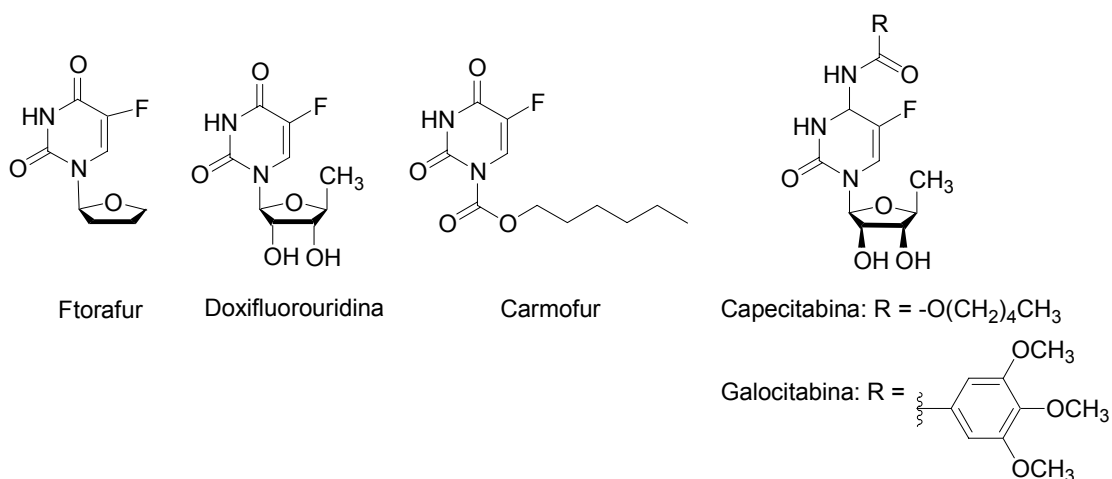


Además, el 5-FU se convierte enzimáticamente en fluorouridina y de ahí hasta 5-fluorouridina-5'-trifosfato, que se incorpora al ARN y actúa como antimetabolito análogo de uridinatrifosfato (Figura 2.15).

El incremento de la síntesis de timina en las células tumorales no es suficiente para garantizar la selectividad del 5-FU, que provoca graves efectos tóxicos derivados de su distribución en médula ósea, tracto gastrointestinal, sistema nervioso central y piel<sup>32</sup>.

Con el objetivo de aumentar la selectividad de este fármaco por los tejidos tumorales, y disminuir así sus efectos colaterales, se han diseñado numerosos derivados en los que se une a fragmentos estructurales que actúan como transportadores hasta el lugar de acción. De entre estos profármacos, se utilizan en clínica compuestos como los indicados en la Figura 2.16. Sin embargo aún es necesaria cierta mejora en su selectividad. El ftorafur o [1-(2-tetrahidrofuranil)-5-fluorouracilo], es dos veces más potente y cinco veces menos tóxico que el 5-FU.

Nuestro grupo posee un amplio historial en la preparación de compuestos considerados como profármacos de 5-FU (descripción más detallada en el apartado 2.5).



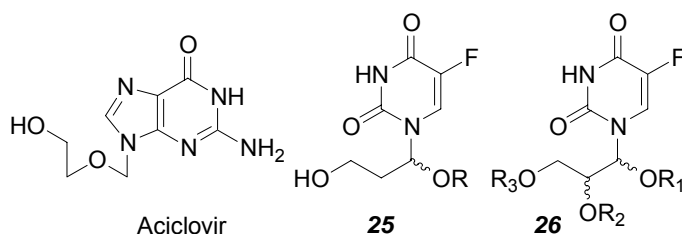
**Figura 2.16.** Estructura de algunos de los profármacos de 5-FU que se han diseñado.

### 2.4.3.1.a. Fármacos análogos de nucleósidos.

Los análogos de nucleósidos son un tipo de fármacos antimetabolitos capaces de fosforilarse hasta nucleótidos e incorporarse a la hebra de ADN por la acción de ADN-polimerasas. Una vez incorporados provocan la terminación de la cadena debido a que presentan modificaciones en el resto de azúcar. Su utilidad se ha demostrado tanto en la terapia anticancerosa como antiviral<sup>32</sup> aunque ésta se encuentra limitada por su toxicidad hepática y ósea, entre otras, así como por provocar la aparición de resistencias.

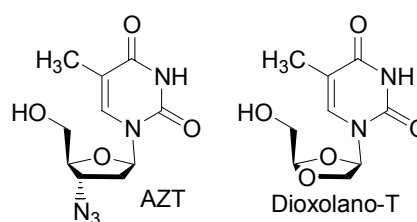
Se pueden dividir en dos grandes grupos: aciclonucleósidos y nucleósidos.

En los aciclonucleósidos o *seco*-nucleósidos, el resto del azúcar se sustituye por una cadena lineal. Su desarrollo tuvo un gran impulso a partir del éxito del aciclovir como antiherpético (Figura 2.17)<sup>33a</sup>. Se han sintetizado también aciclonucleósidos de bases no naturales como el 5-FU, de los que las estructuras **25** y **26** son ejemplos<sup>33</sup>. En esta área, nuestro grupo ha colaborado con la preparación de numerosas estructuras con actividad interesante (descripción más detallada en el apartado 2.5.)<sup>34,36</sup>.



**Figura 2.17.** El aciclovir y algunos de los aciclonucleósidos de bases no naturales que se han diseñado.

Entre los nucleósidos cíclicos son destacables los 2',3'-didesoxinucleósidos (ddNs), competidores de los 2'-desoxinucleósidos-5'-trifosfato (dNTPs), que incorporan modificaciones normalmente en los átomos de carbono 2' o 3' del azúcar, algunos incluso presentan más de un heteroátomo en el resto de carbohidrato. El AZT o 3'-azido-2',3'-didesoxitimidina y el dioxolano-T son ejemplos con



**Figura 2.18**

actividad antiviral (Figura 2.18). Los ddNs están asociados a cierta toxicidad por acción mielosupresora, anemia y neutropenia<sup>32,35</sup>.

En el campo de los ciclonucleósidos, nuestro grupo también cuenta con experiencia en la preparación de derivados oxaheteroepánicos unidos a distintas pirimidinas (apartado 2.5.).

## **2.5. Antecedentes del grupo en terapia anticancerosa.**

El desarrollo de las estructuras 4,1- y 1,4-benzoxazepánicas que se describen en esta tesis doctoral, es el resultado de una larga experiencia de nuestro grupo en la preparación de compuestos derivados de bases nitrogenadas a las que se ha unido una gran variedad de unidades estructurales, a través de enlaces glicosídicos, con el objetivo de la preparación de profármacos de agentes citotóxicos como el 5-FU o de la obtención de moléculas capaces de inducir diferenciación celular. Los últimos resultados biológicos obtenidos para estructuras no portadoras de resto 5-FU han ampliado la perspectiva y las opciones en el diseño y preparación de nuevos prototipos antitumorales.

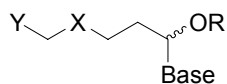
### **2.5.1. Evolución estructural de los O,N-acetales de bases nitrogenadas. Actividad biológica.**

Los primeros O,N-acetales preparados fueron aciclonucleósidos de estructura general 1-[3-(2-hidroxiethylhetero)-1-alcoxipropil]-5-fluorouracilo<sup>36</sup> (Figura 2.19). Los compuestos **27** y **28** presentaron una actividad *in vitro* superior a la del 5-FU frente a determinadas líneas tumorales. El primero de ellos, con una CI<sub>50</sub> alrededor de 22 µM, frente a células de carcinoma humano de laringe HEp-2 (aproximadamente dos veces menor que la del 5-FU). El segundo de ellos, con CI<sub>50</sub> de 9.4, 3.9 y 5.8 µM frente a las líneas tumorales CX-1 (carcinoma de colon humano), MX-1 (carcinoma humano de mama) y LZ-1 (carcinoma humano de pulmón).

Con el objetivo de incrementar la potencia e inculcar capacidad diferenciadora se estudió el efecto de la modificación de la cadena de 3-hidroxi-etoxipropilo<sup>34</sup>. Algunos

ejemplos de los compuestos así preparados se muestran en la Figura 2.19 [bloqueo de la función hidroxilo (**29**), sustitución del grupo hidroxilo por un átomo de cloro (**30**), oxidación del grupo hidroxilo a metoxicarbonilo (**31**), aumento de la lipofilia (**32**, **33**, **34**), aumento de la hidrofília (**35**, **36**), introducción de un resto adicional de 5-FU (**37**), etc].

	<b>R</b>	<b>X</b>	<b>Y</b>	<b>Base*</b>
<b>27</b>	<sup>i</sup> Pr	O	CH <sub>2</sub> OH	5-FU
<b>28</b>	<sup>i</sup> Pr	S	CH <sub>2</sub> OH	5-FU
<b>29</b>	Me	O	CH <sub>2</sub> OTs	5-FU
<b>30</b>	Me	O	CH <sub>2</sub> Cl	5-FU
<b>31</b>	Me	O	COOMe	5-FU
<b>32</b>	<sup>i</sup> Pr	O	CH=CH <sub>2</sub>	Adenina
<b>33</b>	<sup>i</sup> Pr	O	CH=CH <sub>2</sub>	Uracilo
<b>34</b>	<sup>i</sup> Pr	O	CH=CH <sub>2</sub>	5-FU
<b>35</b>	<sup>i</sup> Pr	O	CH(OH)CH <sub>2</sub> OH	5-FU
<b>36</b>	Me	O	CH(OH)CH <sub>2</sub> Cl	5-FU
<b>37</b>	Me	O	CH(OMe)5FU	5-FU

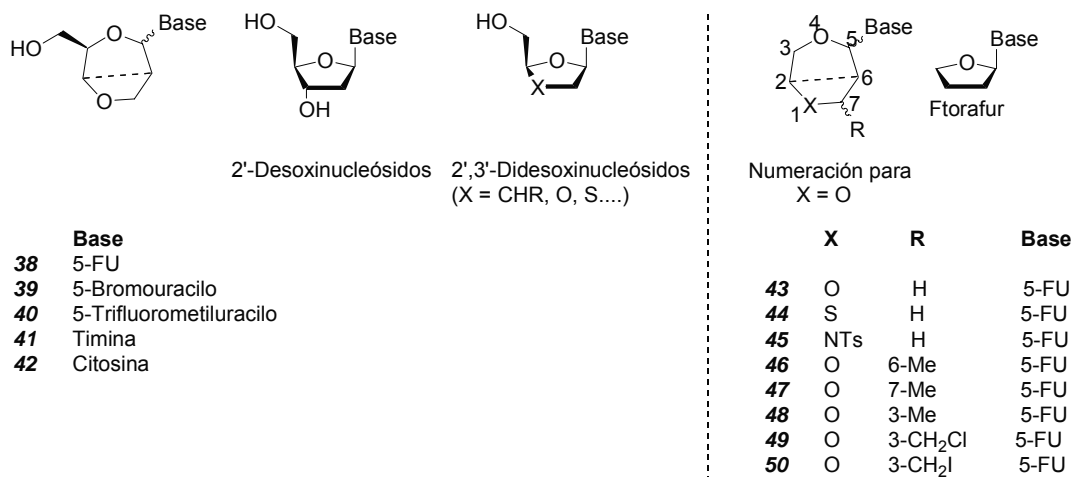


**Figura 2.19.** Estructura general y algunos de los acilonucleósidos preparados en el grupo. \*Cuando no se especifique lo contrario, las bases pirimidínicas se unen al resto carbonado a través de N1. En cuanto a las purinas se obtienen los compuestos resultantes de unión a través de N7 y de N9.

Los compuestos con grupo hidroxilo bloqueado, y por tanto no fosforilables, se diseñaron para actuar como profármacos de 5-FU. Su hidrólisis en los tejidos tumorales libera dos sustancias citotóxicas, 5-FU y acroleína. Los ensayos de actividad citotóxica de estos compuestos sobre células HT-29 (carcinoma humano de colon) mostraron como más interesante el compuesto **36** (Cl<sub>50</sub> = 70 μM) que, aún así, es ocho veces menos activo que el 5-FU. En un estudio sobre capacidad diferenciadora en cultivos de células RD (rabdiosarcoma humano), tanto **36** como 5-FU produjeron un incremento de ciertos marcadores de diferenciación (tales como desmina, α-actinina y tropomiosina) más acusado en **36** que, además, mostró menor toxicidad celular que el 5-FU.

Por otro lado, se prepararon nucleósidos en los que se introdujeron anillos diheteroepánicos como innovadoras modificaciones de los restos de azúcar. Éstos se unieron a distintas pirimidinas como 5-FU, 5-bromouracilo, 5-(trifluorometil)uracilo, timina o citosina. Así se obtuvieron las familias de compuestos 1-[3-(hidroximetil)-1,4-

diheteroepanil]pirimidinas<sup>35</sup> (**38-42**, Figura 2.20) y 1-(1,4-diheteroepanil)pirimidinas<sup>37</sup> (**43-50**). Los primeros considerados como ciclohómulos de antivirales desoxinucleósidos fosforilables en 5' (apartado 2.4.3.1.a) y los segundos como ciclohómulos de ftorafur que no pueden ser fosforilados *in vivo* (apartado 2.4.3.1).

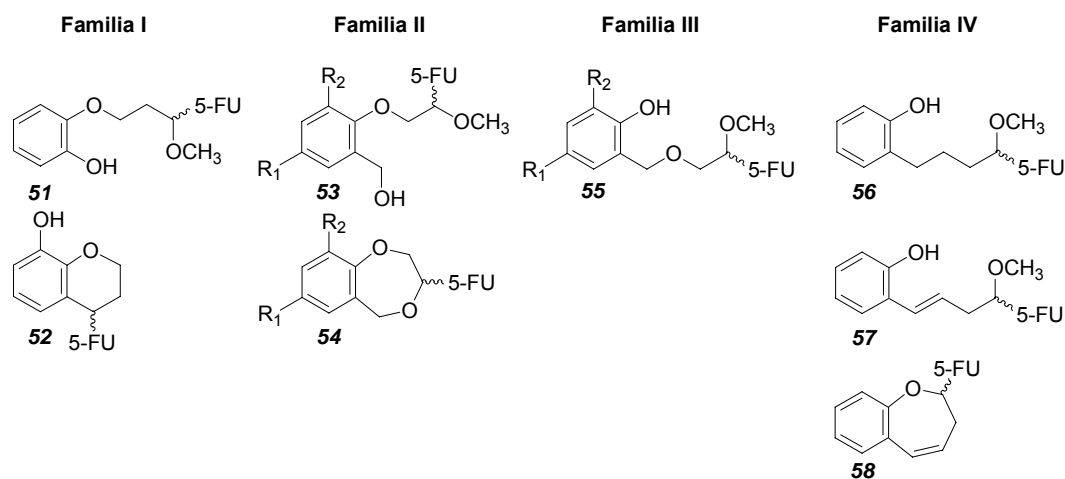


**Figura 2.20.** Estructuras generales de las (*RS*)-1-[3-(hidroximetil)-1,4-diheteroepanil]pirimidinas y (*RS*)-1-(1,4-diheteroepanil)pirimidinas desarrolladas en nuestro grupo. Comparación con sus ciclohómulos desoxinucleósidos y ftorafur, respectivamente.

Los isómeros *cis*, análogos a los nucleósidos naturales, de los 3-hidroximetil derivados (**38-42**) se aislaron mediante HPLC en fase reversa. El cambio de los restos oxolano y dioxolano de los desoxinucleósidos de referencia por 1,4-dioxepano, tuvo como consecuencia la pérdida de actividad antiviral, como se comprobó en ensayos biológicos frente a VIH-1 (III<sub>B</sub>) y VIH-2 (ROD).

Los compuestos no fosforilables actúan como profármacos del 5-FU y su actividad se debe a la liberación de éste, a través de la enzima uridina fosforilasa. Ésta es menos abundante que la timidina fosforilasa, lo que puede explicar la disminución de la actividad respecto al 5-FU. El compuesto más interesante resultó el *cis*-**49**, con una citotoxicidad moderada frente las células de cáncer de colon HT-29 *in vitro* (CI<sub>50</sub> = 30 µM, seis veces mayor que la del 5-FU). El resto de los componentes de la familia se sitúan alrededor de 100 µM. La actividad de **49** parece ser debida a una mayor labilidad del enlace hemiaminámico, debido a la electronegatividad del átomo de cloro que acelera la hidrólisis enzimática<sup>37</sup>.

Una aproximación posterior, consistió en el aumento de la lipofilia mediante la incorporación de anillos aromáticos en determinadas posiciones de estas estructuras<sup>32,38,39</sup>. Así, se prepararon varias familias de compuestos *O,N*-acetálicos análogos de los nucleósidos y acilonucleósidos anteriores (Figura 2.21).



Compuestos cíclicos				Compuestos abiertos					
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Base	Cl <sub>50</sub> (μM)		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Base	Cl <sub>50</sub> (μM)
5-FU				2.8	<b>53a</b>	H	H	5-FU	18.5
Ftorafur				3.0	<b>53b</b>	Cl	H	5-FU	18.0
<b>52</b>				69.0	<b>53c</b>	Br	H	5-FU	16.0
<b>54a</b>	H	H	5-FU	7.0	<b>53d</b>	NO <sub>2</sub>	H	5-FU	5.4
<b>54b</b>	H	H	Uracilo	5.0					
<b>54c</b>	OCH <sub>3</sub>	H	5-FU	4.5					
<b>54d</b>	H	OCH <sub>3</sub>	5-FU	22.0					
<b>58</b>	H	H	5-FU	14.0					

**Figura 2.21.** Estructuras generales de benzoderivados *O,N*-acetálicos y algunos ejemplos de los que se han preparado.

El incremento de la lipofilia, tuvo como consecuencia una disminución en los valores de Cl<sub>50</sub> frente a células humanas de carcinoma de mama MCF-7, como se desprende de la comparación entre la actividad del compuesto **43** (Figura 2.20) con una Cl<sub>50</sub> de 23 μM y la de los compuestos **54a**, **54b**, **54c** y **58** (en los que también se observa como el cambio isostérico de CH por O afecta positivamente a la actividad) (Figura 2.21) o de la comparación del análogo **27** (Figura 2.19), con Cl<sub>50</sub> superior a 70 μM, y los compuestos **53a-d** (Figura 2.21).

Sobre estos productos, se llevaron a cabo estudios de capacidad para inducir apoptosis. El paclitaxel (Taxol), con un 43% de inducción en cultivos celulares de cáncer de mama, es uno de los pocos ejemplos conocidos de inductores de apoptosis ya que la mayoría de los fármacos citotóxicos la provocan únicamente en una pequeña

fracción de las células tumorales. Cabe destacar que, entre los compuestos desarrollados en nuestro laboratorio, existen algunos que superaron el valor del paclitaxel a concentraciones iguales a las  $CI_{50}$ . Los más potentes inductores de apoptosis frente a la línea tumoral MCF-7 de cáncer de mama fueron los compuestos **52** (54.33 y 35.49% a las 24 y 48 h respectivamente), **54d** (40.08 y 46.73%), **58** (57.33 y 51.37%) y **53a** (59.90% a las 24h).

Otro hecho muy importante en la actividad de estos compuestos, que indica el avance de la investigación en el grupo hacia terapias no citotóxicas, es su capacidad para acumular células en fases del ciclo celular distintas al 5-FU y su profármaco ftorafur. Éstos últimos retienen las células en fase S, donde es inhibida la enzima timidilato sintasa, mientras que los compuestos **52**, **54a-d**, **58** y **59** (Figura 2.22) lo hacen en fase  $G_0/G_1$  (el último produce retención del 82.48% de las células en detrimento de la población en  $G_2/M$  que disminuye hasta el 5.13%) y **53b** o **53c** en fase  $G_2/M$  (en detrimento de la población en fase S). Esto indica la capacidad de dichos compuestos para ser fármacos *per se* (a excepción de **53d**, con un patrón semejante al 5-FU en la detención del ciclo celular)<sup>38</sup>.

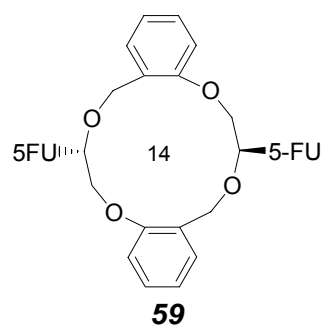


Figura 2.22

Los compuestos más activos no mostraron toxicidad alguna cuando se administraron a ratones vía intravenosa, durante un mes, dos veces a la semana (dosis de 50 mg/Kg)<sup>38</sup>. El 5-FU, sin embargo, provocó una excesiva pérdida de peso y aumento en la tasa de mortalidad tras 3 semanas.

#### 2.5.1.1. Modificación de los marcadores moleculares causada por los *O,N*-acetales cíclicos de 5-FU<sup>7</sup>.

En cuanto a los marcadores de ciclo celular, estudios de inhibición de ciclinas sobre aquellos compuestos capaces de detener el ciclo en  $G_1$  (**54a** y **59**), han mostrado como provocan una disminución de los niveles de Cyc-D1 hasta, prácticamente, hacerla desaparecer. También disminuyen la actividad Cdc-2 (**54a**, **54c** y **59**) y, por

consiguiente, la entrada en mitosis. El macrociclo **59**, además, incrementó la expresión de proteínas inhibidoras Cdk p21 y p27 hasta niveles superiores al doble que en los controles.

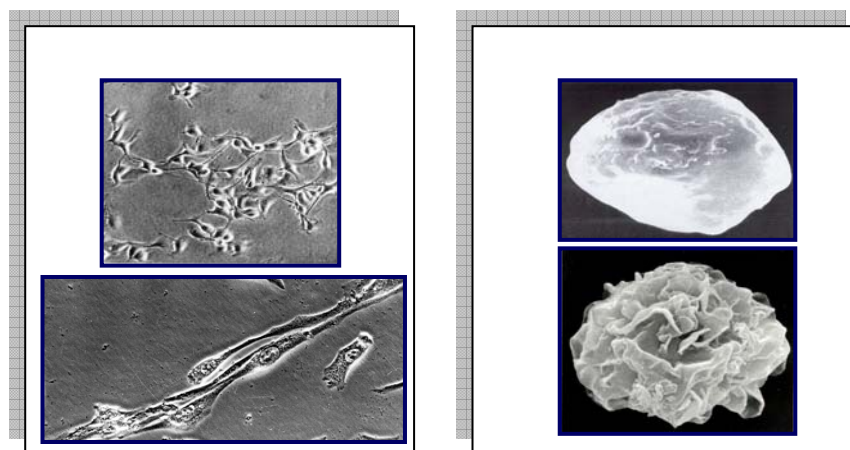
Estos efectos son contrarios a los del 5-FU, que aumenta los niveles de Cyc-D1 o Cdc-2 y acumula las células en fase S, lo que claramente indica que la actividad de estos compuestos es independiente del 5-FU.

Así, en células MCF-7, provocan un incremento de la expresión del gen supresor de tumores p53 (principalmente 5-FU y **58**) y una disminución de Bcl-2 hasta niveles normales, lo que explica la inducción de la apoptosis. El compuesto **58** es el inductor más potente. Tras su administración se ha observado, además, un aumento en los niveles de Cdc-2, cuya activación prematura es uno de los requerimientos para que la apoptosis tenga lugar.

#### **2.5.1.2. Cambios morfológicos en células MCF-7 causados por los O,N-acetales cíclicos de 5-FU<sup>7</sup>.**

Tras el tratamiento con dosis iguales a las  $Cl_{50}$ , se observaron cambios morfológicos a las 6, 24 y 48 h. En células de rhabdomyosarcoma (RD), con membrana citoplasmática lisa, escaso citoplasma, un único núcleo y elevada actividad mitótica, el tratamiento produjo la adopción de una morfología alargada, la aparición de pliegues y prolongaciones fusiformes en la membrana citoplasmática y el establecimiento de contactos entre las células. Aumentó el tamaño de éstas, el número de células multinucleares y la formación de miotubos (característica de las células musculares diferenciadas). El crecimiento pasó a producirse de forma más agrupada, en disposición paralela o en remolino.





**Figura 2.23.** A la izquierda, imágenes tomadas con microscopía óptica 40x: En la parte superior células control RD que crecen como capas irregulares formando agregados. En la parte inferior células tratadas con el compuesto **58** que crecen de forma paralela. A la derecha, imágenes tomadas con microscopía de barrido 6000x: En la parte superior, célula control RD con la membrana plasmática lisa. En la parte inferior, célula tratada con el compuesto **58** con pliegues en la membrana plasmática.

### 2.5.1.3. Modificación de los marcadores moleculares causada por los *O,N*-acetales acíclicos de 5-FU<sup>7</sup>.

Los compuestos estudiados (**53b** y **53d**) sobre células MCF-7 disminuyen la expresión Cyc-D1 y Cdc-2 e incrementan el inhibidor Cdk p21.

Estos dos compuestos alteran de forma diferente los marcadores de apoptosis. El compuesto **53b** disminuye la expresión Bcl-2 pero no modifica los niveles de p53. Sin embargo, **53d** no modifica la expresión Bcl-2 y aumenta la de p53.

### 2.5.2. Antecedentes químicos: Preparación de compuestos *O,N*-acetálicos<sup>34-39</sup>.

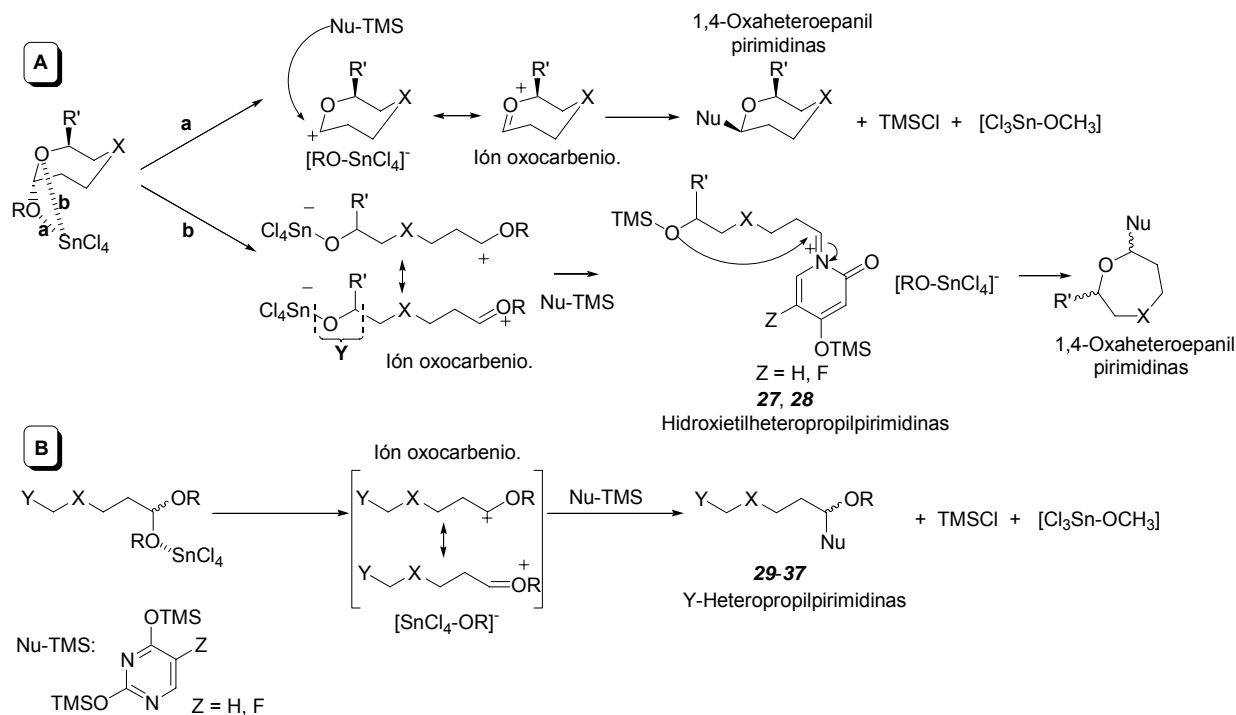
En la síntesis de las estructuras anteriormente descritas es clave la participación de los ácidos de Lewis, mediando las correspondientes etapas en la formación de acetales (ciclación hasta *O,O*-acetales o su condensación con las bases nitrogenadas hasta *O,N*-acetales).

### **2.5.2.1. Conversión de *O,O*-acetales en *O,N*-acetales.**

Esta etapa es común a todas las estructuras preparadas. En nuestro grupo se ha propuesto un mecanismo en el que la base nitrogenada silanizada es el nucleófilo que ataca al carbocatión resultante de la coordinación de un ácido de Lewis con los oxígenos del *O,O*-acetal. El proceso discurre vía  $S_N1$ , por lo que la diastereoselectividad de la reacción no está garantizada y depende de factores estéricos. El ácido de Lewis tetracloruro de estaño ( $SnCl_4$ ) ha conducido a los mejores resultados cuando se ha comparado su efecto, en esta reacción, con el de otros ácidos tales como triflato de trimetilsililo (TMSOTf), triflato de escandio [ $Sc(OTf)_3$ ] o eterato de trifluoruro de boro ( $BF_3 \cdot OEt$ ).

Los compuestos *O,N*-acetálicos cíclicos y abiertos pueden ser productos resultantes de *O,O*-acetales cíclicos o abiertos, indistintamente, dependiendo la regioselectividad de la reacción, de las condiciones en las que se desarrolle y de las características de los sustratos (tiempo de reacción, sustituyentes, etc.).

Los compuestos *O,O*-acetálicos cíclicos, tipo alcoxi-1,4-diheteroepánicos, se utilizaron como derivados de partida para la preparación de acetales abiertos con estructura general 1-[3-(2-hidroxietilhetero)-1-alcoxipropil]-5-fluorouracilo (**27**, **28**), y de compuestos cíclicos 1,4-diheteroepan-5-il-pirimidinas. La formación de productos cíclicos o abiertos depende del átomo del acetal que se disocie tras la coordinación del ácido de Lewis (Figura 2.24):

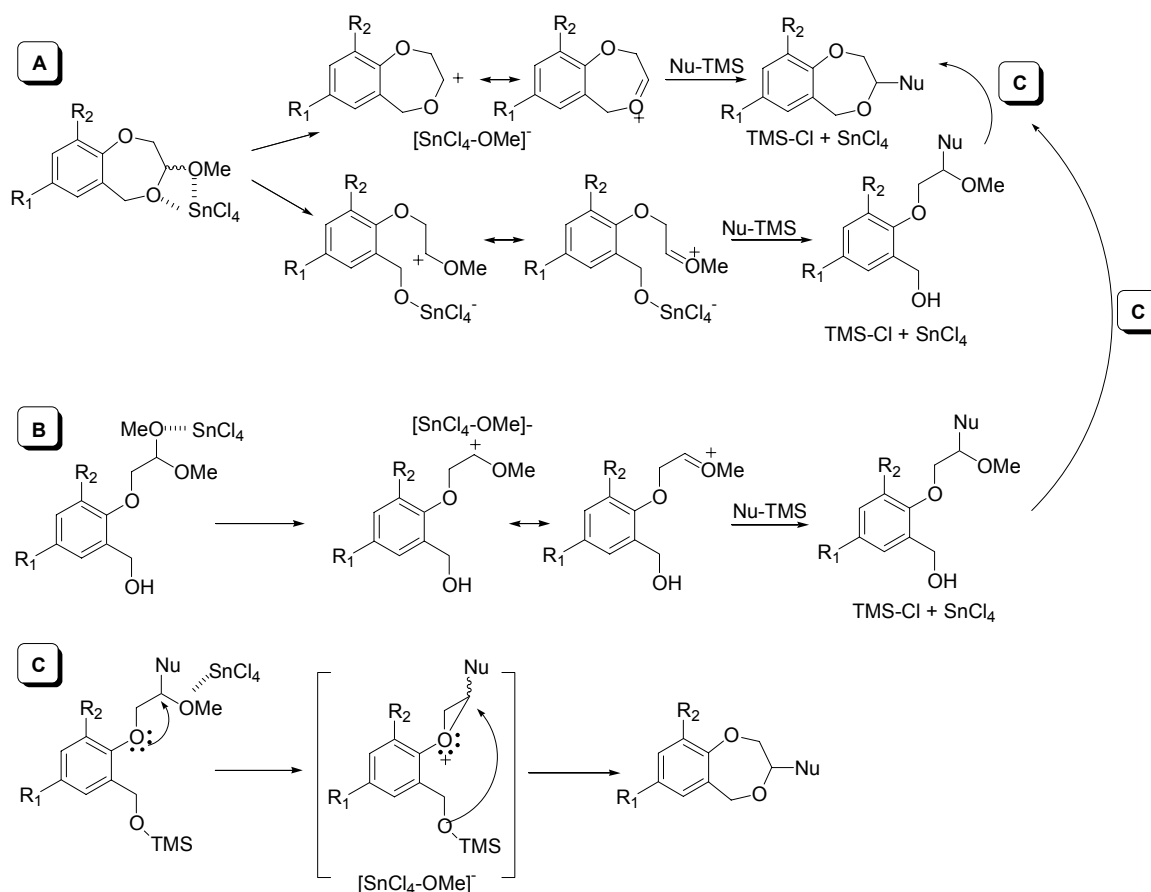


**Figura 2.24.** Procesos de formación de *O,N*-acetales a partir de *O,O*-acetales, mediados por ácidos de Lewis.

- La disociación del grupo alcóxido extracíclico forma un ión oxocarbenio cíclico (Figura: A, ruta **a**) que conducirá a la formación de *O,N*-acetales cíclicos. El contraíón se asocia al carbocatión, dirigiendo el ataque nucleófilo hacia la cara opuesta a la de salida del grupo alcóxido. De este modo se controla la diastereoselectividad. Dicho control será mayor cuanto más íntima sea la asociación del contraíón al carbocatión. Esto ocurre cuando la carga positiva está más localizada sobre el carbono y no existe excesiva participación del átomo de oxígeno, formando un ión oxocarbenio. Dicha participación depende de la densidad de carga del oxígeno, por lo que sustituyentes electronegativos vecinos a este átomo (ej. **49**) incrementarán la diastereoselectividad de la reacción.
- En el caso de que ocurra la disociación del oxígeno endocíclico del acetal se forman carbocationes abiertos. Éstos conducen a *O,N*-acetales finales abiertos a tiempos cortos y cíclicos a tiempos largos, sin control de la esteoquímica (Figura: A, ruta **b**).

Cuando Y es diferente al grupo hidroximetilo, los aciclonucleósidos finales se obtienen a partir de los correspondientes *O,O*-acetales abiertos (Figura: B) (productos 29-37).

Para los benzoderivados se describieron mecanismos análogos a los ya descritos (Figura 2.25, rutas A y B).

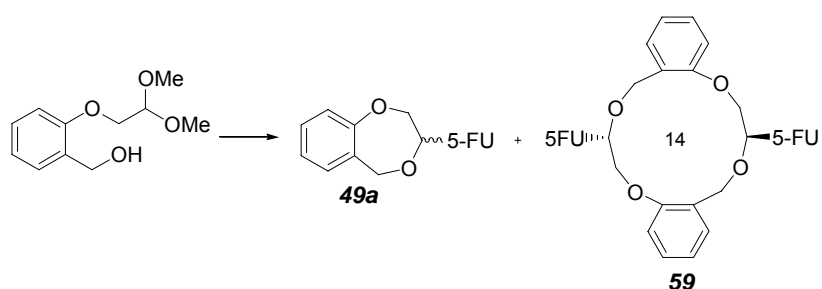


**Figura 2.25.** A y B: Procesos de formación de *O,N*-acetales a partir de *O,O*-acetales benzoderivados, mediados por ácidos de Lewis. C: Mecanismo de participación de grupo vecino en la ciclación de *O,N*-acetales.

En este caso, por primera vez se habló de una participación de grupo vecino por parte del oxígeno fenólico, que facilita la ciclación de los *O,N*-acetales abiertos (Figura 2.25, ruta C)<sup>39</sup>. El mecanismo propuesto conlleva la formación de un ión oxiranio, altamente reactivo, para el ataque por nucleófilos como el grupo hidroxilo bencílico. Para la formación del ión oxiranio es necesario que el grupo hidroxilo fenólico presente una alta densidad de carga negativa. Así, cuando  $\text{R}_1$  tiene carácter electrón donante ( $\text{OCH}_3$ ), la ciclación intramolecular se ve favorecida y el ión oxiranio estabilizado. Sin

embargo, cuando  $R_1$  es electrón atrayente (Cl, Br,  $\text{NO}_2$ ) la ciclación intramolecular es menos probable y disminuye el rendimiento de producto cíclico.

Se ha observado que la regioselectividad de la reacción depende de factores tales como el ácido de Lewis utilizado, el tiempo de reacción (tiempos mayores conducen a una mayor formación de producto cíclico) y, en estudios posteriores aún no publicados, de la temperatura.



**Esquema 2.26.** Reacción de obtención del compuesto **59** con estructura de éter corona-14.

El compuesto macrocíclico con estructura de éter corona-14 (**59**) se obtuvo tras 24 h en la reacción de formación de **49a**, a partir del correspondiente O,O-acetal abierto y 5-FU, en presencia de  $\text{SnCl}_4$  (rendimiento 7%, Esquema 2.26)<sup>39</sup>.

**Bibliografía**

- 1 Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J.D. *Biología Molecular de la Célula*, 3<sup>a</sup> ed., Omega, S.A., Barcelona, **1996**. Cap. 8, 17.
- 2 Pardee, A.B. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **1974**, *71*, 1286-1290.
- 3 Planas-Silva M.C.; Weinberg, R.A. *Curr. Opin. Cell Biol.* **1997**, *9*, 768-772.
- 4 Novák, B.; Tyson, J.J. *J. Theor. Biol.* **2004**, *230*, 563-579.
- 5 Coultas, L.; Strasser, A. *Apoptosis* **2000**, *5*, 491-507.
- 6 Las alteraciones en la respuesta celular al ADN dañado a cualquier nivel de la misma (defectos en las quinasas ATM detectoras de errores, mutaciones en enzimas reparadoras de ADN como ADN-ligasas, defectos en los efectores de las cascadas apoptóticas como proteínas Bcl-2, inactividad Chk2 o p53 que suponen una barrera crítica contra la transformación celular), las alteraciones de la regulación del ciclo celular (disminuciones en la actividad pRb, aumento de ciclinas, sobreactivación Cdk, pérdida de inhibidores de Cdk, inefectividad de p53 y p21<sup>Cip1</sup> que impide el arresto en fase G<sub>1</sub> y en el punto G<sub>2</sub>/M), las mutaciones en los genes implicados en la apoptosis, mecanismo activo de pérdida celular de los tumores, las alteraciones de la mitosis y la división nuclear (ej. aparición de aneuploidías) son determinantes críticos en el desarrollo de neoplasias.
- 7 Campos, J.; Saniger, E.; Marchal, J.A.; Aiello, S; Suárez, I.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Current Medicinal Chemistry* **2005**, *12*, 887-916.
- 8 Gómez-Vidal, J.A.; Campos, J.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Gallo, M.A.; Carrillo, E.; Espinosa, A.; Aránega, A. *Current topics in Medicinal Chemistry* **2004**, *4*, 175-202.
- 9 Strahl, B.D.; Allis, C.D. *Nature* **2000**, *403*, 41-45.
- 10 Richon, V.M.; Webb, Y.; Merger, R.; Sheppard, T.; Jursic, B.; Ngo, L.; Civoli, F.; Breslow, R.; Rifkind, R.A.; Marks, P.A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 5705-5708.
- 11 Jung, M.; Hoffmann, K.; Brosch, G.; Loidl, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1655-1658.
- 12 Remiszewski, S.W.; Sambucetti, L.C.; Atadja, P.; Bair, K.W.; Cornell, W.D.; Green, M.A.; Howell, K.L.; Jung, M.; Kwon, P.; Trogani, N.; Walker, H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 754-757.
- 13 Singh, S.B.; Zink, D.L.; Polishook, J.D.; Dombrowski, A.W.; Darkin-Rattray, S.J.; Schmatz, D.M.; Goetz, M.A. *Tetrahedron Letters* **1996**, *37*(45), 8077-8080.
- 14 Westin, S.; Kurokawa, R.; Nolte, R.T.; Wisely, G.B.; McInerney, E.M.; Rose, D.W.; Milburn, M.V.; Rosenfeld, M.G.; Glass, C.K. *Nature* **1998**, *395*, 199-202.
- 15 Charpentier, B.; Bernardon, J-M.; Eustache, J.; Millois, C.; Martin, B.; Michel, S.; Short, B. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4993-5006.
- 16 Pavletich, N.P. *J. Mol. Biol.* **1999**, *287*, 821-828.
- 17 Planas-Silva, M.D.; Weinber, R.A. *Curr. Opin. Cell Biol.* **1997**, *9*, 768-772.
- 18 Sausville, E.A.; Zaharevitz, D.; Gussio, R.; Meijer, L.; Louarn-Leost, M.; Kunick, C.; Schutz, R.; Lahusen, T.; Headlee, D.; Stinson, S.; Arbuck, S.G.; Senderovicz, A. *Pharmacol. Ther.* **1999**, *82*, 285-292.
- 19 Murthi, K.K.; Dubay, M.; McClure, C.; Brizuela, L.; Boisclair, M.D., Worland, P.J.; Mansuri, M.M.; Pal, K. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2000**, *10*, 1037-1041.
- 20 Chang, Y.T.; Gray, N.S.; Rosania, G.R., Sutherland, D.P.; Kwon, S.; Norman, T.C.; Sarohia, R.; Leost, M.; Meijer, L.; Schultz, P.G. *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 361-375.
- 21 Arris, C.E.; Boyle, F.T.; Calvert, A.H.; Curtin, N.J.; Jewsbury, P.J.; Endicott, J.A.; Gibson, A.E.; Golding, B.T.; Grant, S.; Griffin, R.J.; Johnson, L.N.; Newell, D.R.; Noble, M.E.M. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1999**, *40*, 305.

- 22 Arris, C.E.; Boyle, F.T.; Calvert, A.H.; Curtin, N.J.; Endicott, J.A.; Garman, E.F.; Gibson, A.E.; Golding, B.T.; Grant, S.; Griffin, R.J.; Jewsbury, P.; Johnson, L.N.; Lawrie, A.M.; Newell, D.R.; Noble, M.E.M.; Sausville, E.A.; Schultz, R.; Yu, W. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2797-2804.
- 23 Gibson, A.E.; Arris, C.E.; Bentley, J.; Boyle, F.T.; Curtin, N.J.; Davies, t.G.; Endicott, J.A.; Golding, B.T.; Grant, S.; Griffin, R.J.; Jewsbury, P.; Johnson, L.N.; Mesguiche, V.; Newell, D.R.; Noble, M.E.M.; Tucker, J.A.; Whitfield, H.J. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3381-3393.
- 24 a) Zaharevitz, D.W.; Gussio, R.; Leost, M.; Senderowicz, A.M.; Lahusen, T.; Kunick, C.; Meijer, L.; Sausville, E.A. *Cancer Res.* **1999**, *59*, 2566-2569. b) Schultz, C.; Link, A.; Leost, M.; Zaharevitz, D.W.; Gussio, R.; Sausville, E.A.; Meijer, L.; Kunick, C. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2909-2919.
- 25 a) Nugiel, D.A.; Etzkorn, A.; Vidwans, A.; Benfield, P.A.; Boisclair, M.; Burton, C.R.; Cox, S.; Czerniak, P.M.; Doleniak, D.; Seitz, S.P. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1334-1336. b) Nugiel, D.A.; Vidwans, A.; Etzkorn, A.; Rossi, K.A.; Benfield, P.A.; Burton, C.R.; Cox, S.; Doleniak, D.; Seitz, S.P. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5224-5232.
- 26 Bramson, H.N.; Corona, J.; Davis, S.T.; Dickerson, S.H.; Edelstein, M.; Frye, S.V.; Gampe, R.T.; Harris, P.A.; Hassell, A.; Holmes, W.D.; Huntter, R.N.; Lackey, K.E.; Lovejoy, B.; Luzzio, M.J.; Montana, V.; Rocque, W.J.; Rusnak, D.; Shewchuk, L.; Veal, J.M.; Walter, D.H.; Kuyper, L.F. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4339-4358.
- 27 Dragnev, K.H.; Pitha-Rowe, I.; Ma, Y.; Petty, W.J.; Sekula, D.; Murphy, B.; Rendi, M.; Suh, N.; Desai, N.B.; Sporn, M.B.; Freemantle, S.J.; Dmitrovsky, E. *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 2570-2577.
- 28 Takada, Y.; Bhardwaj, A.; Potdar, P.; Aggarwal, B.B. *Oncogene* **2004**, *23*(57), 9247-9258.
- 29 Kronblad, A.; Stendahl, M.; Landberg, Goeran. *PCT. Int. Appl.* **2004**, 18pp.
- 30 a) Yang, Y.W.; Chang, Y.H. *Jpn. J. Cancer Res.* **1995**, *86*, 948-955. b) Schwartz, P.M.; Barnett, S.K.; Milstone, L.M. *J. Dermatol. Sci.* **1995**, *9*, 129-135.
- 31 Avendaño, M.C. Introducción a la Química Farmacéutica, 2<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A., Madrid, **2001**. Cap. 9.
- 32 Saniger Bernal, E. Nuevos Profármacos de 5-Fluorouracilo con Restos de Dihidrobenzodioxepinos y Compuestos Relacionables con Actividad Diferenciadora Celular y Antiproliferativa. Tesis Doctoral, Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica, Universidad de Granada. Granada, **2002**.
- 33 a) Schaeffer, H.J.; Beauchamp, L.; De Miranda, P.; Elion, G.B.; Bauer, D.J.; Collins, P. *Nature* **1978**, *272*, 583. b) Harnden, M.R.; Bailey, S.; Shanks, C.T. *Eur. Pat. Appl. EP* **49**, 144 (C1 COZD239/54), **1982**; *via Chem. Abstr.* **1982**, *97*, 72384d. c) Ochi, K.; Miyamoto, K.; Miura, Y.; Mitsui, H.; Matsunaga, I.; Shindo, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 1703. d) Universidad de Granada, *Eur. Pat. Appl. WO* **91** 17,147 (C1, CO7D239/54); *via Chem. Abstr.* **1992**, *117*, 49156d.
- 34 Gómez, J.A.; Campos, J.; Marchal, J.A.; Trujillo, M.A.; Melguizo, C.; Prados, J.; Gallo, M.A.; Aránega, A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1997**, *53*(21), 7319-7334.
- 35 Trujillo, M.A.; Gómez, J.A.; Campos, J.; Espinosa, A.; Gallo, M.A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3951-3961.
- 36 Campos, J.; Pineda, M.J.; Gómez, J.A.; Entrena, A.; Trujillo, M.A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8907-8924.
- 37 Gómez, J.A.; Trujillo, M.A.; Campos, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13295-13312.
- 38 Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Suárez, I.; Aránega, A.; Choquecillo, D.; Niclós, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5457-5467.
- 39 Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8017-8026.





### **3. Objetivos.**



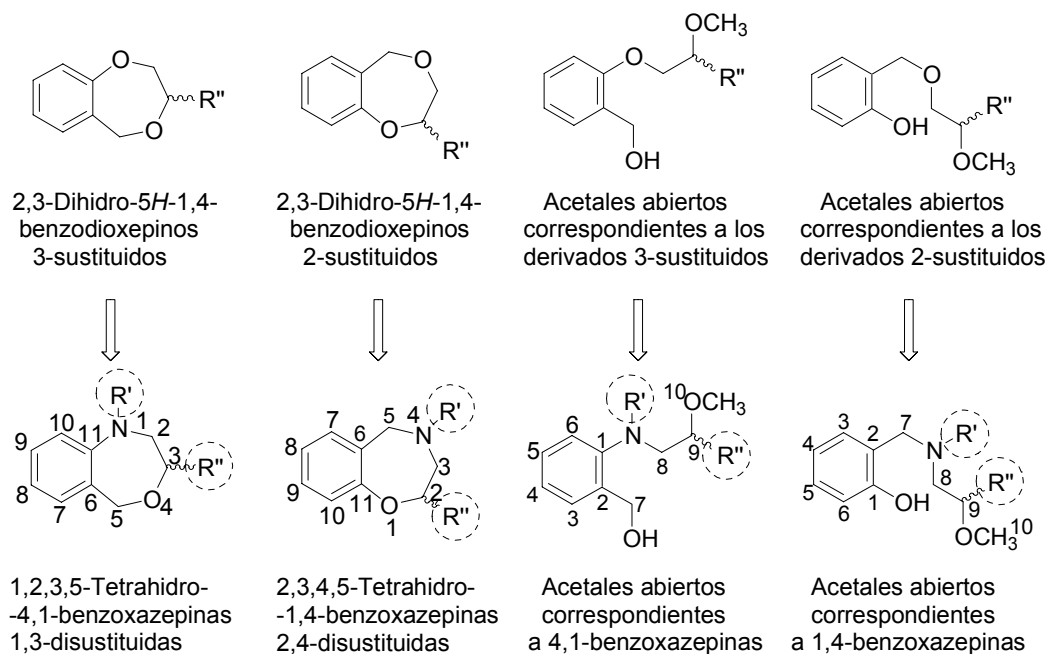
### **3. Objetivos.**

Los compuestos objeto de esta Memoria surgen del cambio isostérico de un átomo de oxígeno por nitrógeno en los anillos 1,4-benzodioxepínicos, que se han preparado previamente en nuestro grupo de investigación (Figura 3.1)<sup>1</sup> e incluyen estructuras O,O-acetálicas y O,N-acetálicas derivadas de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas o 2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepinas. Los compuestos finales se agruparán en librerías de acuerdo con sus características estructurales.

Frente al oxígeno original, el átomo de nitrógeno permite la introducción de grupos de distinta naturaleza, lo que supone un punto adicional para la variabilidad estructural de los anillos. Los sustituyentes unidos al átomo de nitrógeno se han denominado R' y aquellos unidos a la posición acetálica, R''.

Así, en esta Memoria se pretende lograr los siguientes objetivos:

**Objetivo nº 1.** Establecimiento de la ruta sintética hasta los productos finales *O,O*-acetales cíclicos y *O,N*-acetales cíclicos y sus correspondientes análogos abiertos, derivados de 1,4- y 4,1-benzoxazepinas saturadas, que se muestran en la Figura 3.1, donde también se indican las estructuras generales de los compuestos precusores y la numeración con la que se identificará cada una de las posiciones, en dichos compuestos, a lo largo de esta Memoria.



**Figura 3.1.** Estructuras generales de las 4,1- y 1,4-benzoxazepinas objetivo y de sus correspondientes análogos abiertos (parte inferior). Compuestos precusores para cada uno de estos tipos de estructuras (parte superior).

**Objetivo nº 2.** Preparación, purificación y caracterización de un grupo de productos con distintos sustituyentes  $R'$  y  $R''$ , que permitan la determinación del efecto que provocan, tanto el cambio isostérico  $O \rightarrow NH$  como la disustitución sobre el núcleo benzoheterocíclico, sobre la actividad biológica.

Objetivo 2.a. Introducción de variabilidad estructural en el sustituyente R'.

Se propone la introducción de modificaciones en R' con distinta naturaleza electrónica:

- Grupos atrayentes de electrones que eliminen el carácter básico del átomo de nitrógeno. Entre ellos, sustituyentes acilo con la consiguiente formación de carboxamidas, grupos oxicarbonilo para la formación de carbamatos y grupos sulfonilo para la formación de sulfonamidas.
- Grupo bencilo para la consecución de una amina terciaria con naturaleza básica.

En los sustituyentes R' se propone incluir, además, tanto anillos aromáticos como cadenas lineales de distinto tamaño y densidad electrónica, según se indica en la Figura 3.2.

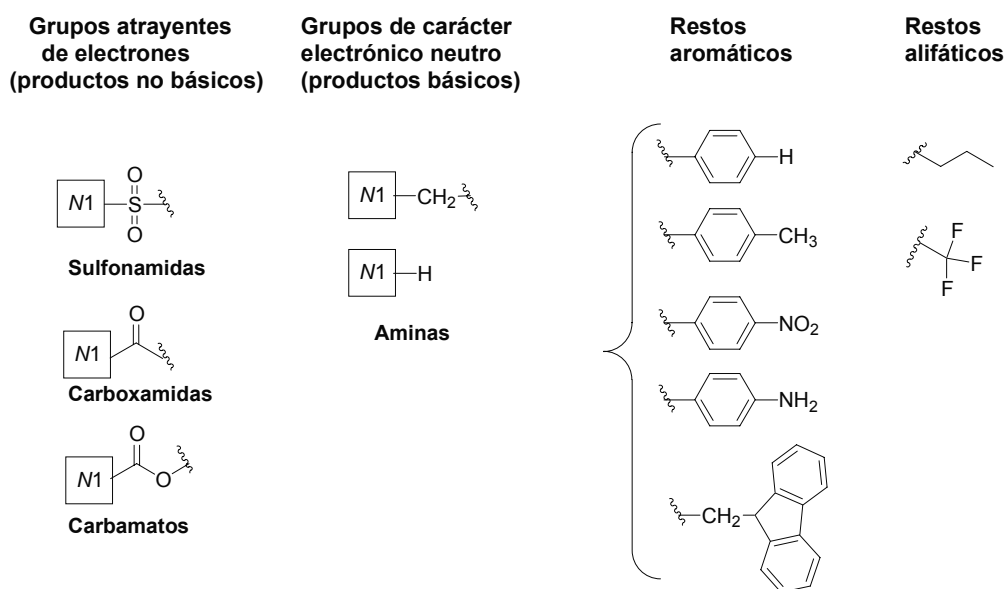


Figura 3.2. Características de los sustituyentes R'.

*Objetivo 2.b. Introducción de variabilidad estructural en el sustituyente R''.*

Como sustituyente R'' se pretende la introducción de un resto metoxilo para la formación de O,O-acetales y diferentes bases nitrogenadas púricas y pirimidínicas para la formación de los compuestos O,N-acetálicos. En consecuencia, se pretende la preparación de tres grandes grupos de compuestos, con distintos sustituyentes R'':

- Librería 1: Compuestos O,O-acetálicos (R'' = -OCH<sub>3</sub>).
- Librería 2: Compuestos O,N-acetálicos derivados de pirimidinas .
- Librería 3: Compuestos O,N-acetálicos derivados de purinas.

Estas librerías generales, estarán divididas en grupos más pequeños formados por compuestos con características estructurales comunes.

Con el objetivo de obtener información sobre el efecto que provoca la naturaleza del sustituyente R'' en la actividad biológica, se propone la utilización de las bases pirimidínicas uracilo y 5-fluorouracilo (5-FU)<sup>2</sup> y de bases púricas sustituidas en su posición 6'' con grupos de distintas características relativas a tamaño y polaridad, tales como grupos carbonilo, anillos feniltio o el átomo de cloro.

**Objetivo nº 3.** Valoración de la actividad antiproliferativa de los compuestos preparados sobre cultivos celulares de cáncer de mama humano MCF-7.

**Objetivo nº 4.** Establecimiento de las primeras relaciones estructura-actividad cualitativas para los compuestos benzoxazepínicos, que permitan orientar hacia el diseño de estructuras más potentes de cara a posibles investigaciones desarrolladas en el futuro.

**Bibliografía.**

- 1 a) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Suárez, I.; Aránega, A.; Choquecillo, D.; Niclós, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5457-5467. b) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8017-8026.
- 2 a) Campos, J.; Pineda, M.J.; Gómez, J.A.; Entrena, A.; Trujillo, M.A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8907-8924. b) Gómez, J.A.; Campos, J.; Marchal, J.A.; Trujillo, M.A.; Melguizo, C.; Prados, J.; Gallo, M.A.; Aránega, A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1997**, *53*(21), 7319-7334. c) Gómez, J.A.; Trujillo, M.A.; Campos, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13295-13312. d) Trujillo, M.A.; Gómez, J.A.; Campos, J.; Espinosa, A.; Gallo, M.A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3951-3961. e) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Suárez, I.; Aránega, A.; Choquecillo, D.; Niclós, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5457-5467. f) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8017-8026.





## **4. Parte Teórica.**

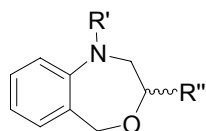


## **Resumen.**

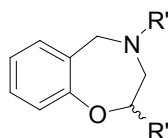
En esta Memoria se describe la preparación y caracterización de anillos 1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepínicos y 2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepínicos, o sus correspondientes modificaciones estructurales, hasta los compuestos finales *O,O*-acetálicos y *O,N*-acetálicos, que han sido ensayados como fármacos antiproliferativos frente a células tumorales MCF-7. Se discuten aquí diversos aspectos mecanísticos y se establecen las primeras relaciones estructura-actividad para este tipo de compuestos que poseen, como novedad frente a los 1,4-benzodioxepinos precursores, un átomo de nitrógeno en el sistema heterocíclico, decisivo para la introducción de variabilidad estructural y la obtención de los primeros datos sobre relaciones estructura-actividad para este tipo de compuestos.

## **4.1. Generalidades.**

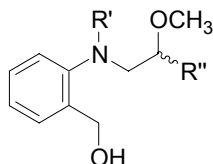
Se han preparado cincuenta y cinco productos finales, correspondientes a las estructuras generales indicadas en la Figura 4.1.



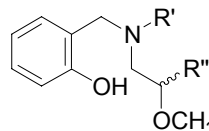
Acetales cíclicos con estructura  
1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínica



Acetales cíclicos con estructura  
2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepínica



Acetales abiertos derivados  
de 4,1-benzoxazepinas



Acetales abiertos derivados  
de 1,4-benzoxazepinas

**Figura 4.1.** Estructuras generales de los productos finales obtenidos.

En función de la naturaleza del sustituyente R'' que presentan, los compuestos finales se han agrupado en tres grandes librerías. Según el sustituyente R', los compuestos incluidos en cada una de ellas, se dividen en aminas, carboxamidas, sulfonamidas y carbamatos.

**Librería 1-** Compuestos *O,O*-acetálicos<sup>1</sup> (Tabla 4.3.).

**Librería 2-** Compuestos *O,N*-acetálicos derivados de bases pirimidínicas

**Grupo 2.1-** Compuestos cíclicos (Tabla 4.4)

**Grupo 2.1.1-** Compuestos derivados de 5-FU

**Grupo 2.1.2-** Compuestos derivados de uracilo

**Grupo 2.2-** Compuestos acíclicos (Tabla 4.5)

**Grupo 2.2.1-** Compuestos derivados de 5-FU

**Grupo 2.2.2-** Compuestos derivados de uracilo

**Librería 3-** Compuestos *O,N*-acetálicos derivados de bases purínicas

**Grupo 3.1-** Compuestos cíclicos (Tabla 4.6)

**Grupo 3.1.1-** Compuestos derivados de 6-cloropurina

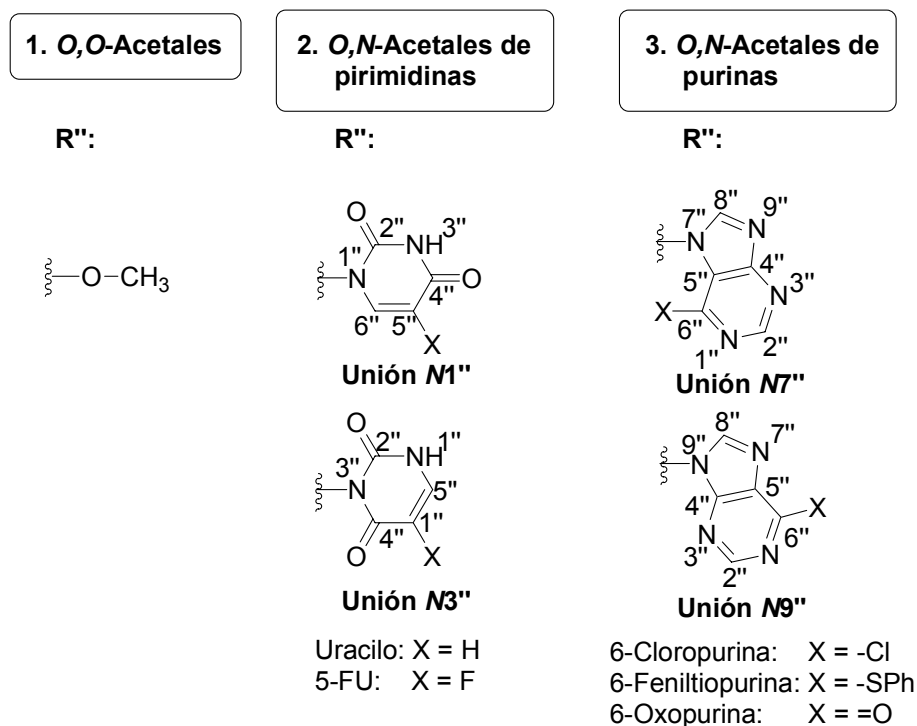
**Grupo 3.1.2-** Compuestos derivados de 6-purinona

**Grupo 3.1.3-** Compuestos derivados de 6-feniltiopurina

**Grupo 3.2-** Compuestos acíclicos (Tabla 4.7)

**Grupo 3.2.1-** Compuestos derivados de 6-cloropurina

Como se muestra en la Figura 4.2, las bases pirimidínicas utilizadas, uracilo y 5-fluorouracilo (5-FU), se han unido al núcleo de benzoxazepina a través de sus posiciones  $N1''$  y  $N3''$ . Los anillos de purina presentan sustituyentes de distinta naturaleza en su posición  $6''$  y han dado lugar a  $O,N$ -acetales mediante una unión a través de las posiciones  $N7''$  o  $N9''$ .

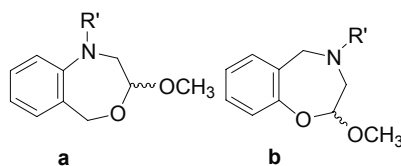


**Figura 4.2.** Clasificación de los productos finales en función del sustituyente  $R''$  que presentan.

La 6-cloropurina se ha utilizado debido a la posibilidad de sustitución que ofrece el átomo de cloro, que se ha intercambiado por agrupaciones feniltio e hidroxilo, con el claro objetivo de cubrir distintas posibilidades de tamaño y afinidad química.

Los compuestos finales que se han preparado, se detallan en las Tablas 4.3-4.7.

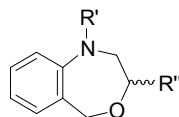
Tabla 4.3. Librería 1: Compuestos O,O-acetálicos.



	Compuesto	R'
1	MDG-484D (a)	H
2	MDG-804B (a)	Bencilo
3	MDG-908B (a)	Formilo
4	MDG-530B (a)	Butanoílo
5	MDG-540A (a)	Trifluoroacetilo
6	MDG-292A (b)	Trifluoroacetilo
7	MDG-616A (a)	Benzoílo
8	MDG-946C (a)	<i>p</i> -Nitrobenzoílo
9	MDG-964B (a)	<i>p</i> -Aminobenzoílo
10	MDG-791D (a)	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmtoxycarbonilo
11	MDG-904B (a)	<i>p</i> -Metilbencénsulfonilo
12	MDG-430A (a)	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
13	MDG-872B (a)	<i>p</i> -Aminobencénsulfonilo
14	MDG-206A (a)	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
15	MDG-858B (a)	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo

Los productos se clasifican en aminas (entradas 1-2), carboxamidas (entradas 3-9), carbamatos (entrada 10) y sulfonamidas (entradas 11-15) con estructura 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínica, **a**, o 2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepínica, **b**.

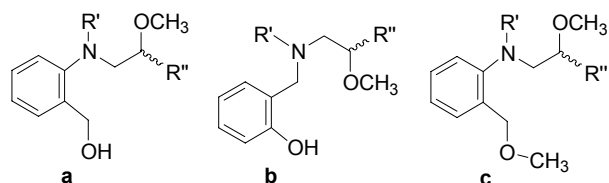
**Tabla 4.4. Librería 2:** Compuestos *O,N*-acetálicos derivados de pirimidinas.  
**Grupo 2.1:** Estructuras cíclicas.



	Compuesto	R''	R'
1	<b>MDG-924C</b>	(N1'') 5-FU	H
2	<b>MDG-936B</b>	(N3'') 5-FU	H
3	<b>MDG-612B</b>	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
4	<b>MDG-612C</b>	(N3'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
5	<b>MDG-930B</b>	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Aminobencénsulfonilo
6	<b>MDG-607B</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
7	<b>MDG-607F</b>	(N3'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
8	<b>MDG-878A</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo
9	<b>MDG-892A</b>	(N3'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo
10	<b>MDG-850B</b>	(N1'') Uracilo	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
11	<b>MDG-850C</b>	(N3'') Uracilo	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
12	<b>MDG-864B</b>	(N1'') Uracilo	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
13	<b>MDG-864C</b>	(N3'') Uracilo	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo

**Columna R'':** Grupo 2.1.1. Derivados de 5-FU con unión N1'' o N3'' (entradas 1-9). **Grupo 2.1.2.** Derivados de uracilo con unión N1'' o N3'' (entradas 10-13). **Columna R':** Los productos se clasifican en aminas (entradas 1-2) y sulfonamidas (entradas 3-13).

**Tabla 4.5. Librería 2:** Compuestos *O,N*-acetálicos derivados de pirimidinas.  
**Grupo 2.2:** Estructuras acíclicas.

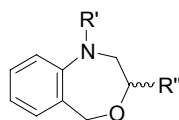


	Compuesto	R''	R'
1	<i>MDG-708B</i> (a)	(N1'') 5-FU	H
2	<i>MDG-568D</i> (c)	(N1'') 5-FU	H
3	<i>MDG-310B</i> (b)	(N1'') 5-FU	Trifluoroacetilo
4	<i>MDG-680G</i> (a)	(N1'') 5-FU	Benzoílo
5	<i>MDG-612D</i> (a)	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
6	<i>MDG-607G</i> (a)	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
7	<i>MDG-898D</i> (a)	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo
8	<i>MDG-850D</i> (a)	(N1'') Uracilo	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
9	<i>MDG-850E</i> (a)	(N3'') Uracilo	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
10	<i>MDG-864D</i> (a)	(N1'') Uracilo	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo

**Columna R'':** **Grupo 2.2.1.** Derivados de 5-FU con unión N1'' o N3'' (entradas 1-7). **Grupo 2.2.2.** Derivados de uracilo con unión N1'' o N3'' (entradas 8-10). **Columna R':** Los productos se clasifican en aminas (entradas 1-2), carboxamidas (entradas 3-4) y sulfonamidas (entradas 5-10).



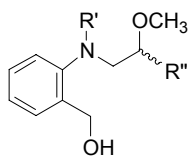
**Tabla 4.6. Librería 3: Compuestos O,N-acetálicos derivados de purinas. Grupo 3.1: Estructuras cíclicas.**



	Compuesto	R''	R'
1	<b>MDG-798D</b>	(N7'') 6-Cloropurina	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
2	<b>MDG-798C</b>	(N9'') 6-Cloropurina	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
3	<b>MDG-884B</b>	(N7'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
4	<b>MDG-884A2</b>	(N9'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
5	<b>MDG-953C</b>	(N7'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo
6	<b>MDG-828C</b>	(N7'') 6-Cloropurina	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmetoxicarbonilo
7	<b>MDG-828B</b>	(N9'') 6-Cloropurina	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmetoxicarbonilo
8	<b>MDG-798D2</b>	(N7'') 6-Purinona	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
9	<b>MDG-884B2</b>	(N7'') 6-Purinona	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
10	<b>MDG-828F</b>	(N7'') 6-Purinona	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmetoxicarbonilo
11	<b>MDG-940C</b>	(N7'') 6-Feniltiopurina	H
12	<b>MDG-958A</b>	(N7'') 6-Feniltiopurina	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
13	<b>MDG-942B</b>	(N7'') 6-Feniltiopurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo

**Columna R'': Grupo 3.1.1.** Derivados de 6-cloropurina con unión N7'' o N9'' (entradas 1-7). **Grupo 3.1.2.** Derivados de 6-purinona con unión N7'' (entradas 8-10). **Grupo 3.1.3.** Derivados de 6-feniltiopurina con unión N7'' (entradas 11-13). **Columna R':** Los productos se clasifican en sulfonamidas (entradas 1-5, 8-9 y 12-13), carbamatos (entradas 6, 7 y 10) y aminas (entrada 11).

**Tabla 4.7. Librería 3:** Compuestos *O,N*-acetálicos derivados de purinas. **Grupo 3.2:** Estructuras acíclicas.



	Compuesto	R''	R'
1	<b>MDG-798E</b>	(N9'') 6-Cloropurina	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo
2	<b>MDG-884D</b>	(N7'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
3	<b>MDG-884C</b>	(N9'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo
4	<b>MDG-828D</b>	6-Cloropurina <sup>a</sup>	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmetoxicarbonilo

<sup>a</sup>Tipo de unión de la purina no determinado.

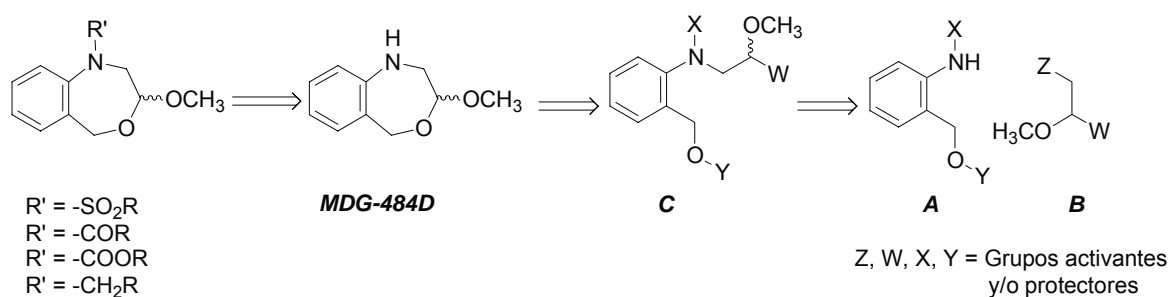
**Columna R'': Grupo 3.2.1.** Derivados de 6-cloropurina con unión a través de N7'' o N9''.

**Columna R':** Los productos se clasifican en sulfonamidas (entradas 1-3) y carbamatos (entrada 4).

A continuación se describe la síntesis de cada uno de los grupos de compuestos que constituyen las librerías descritas.

## 4.2. Síntesis de los productos finales *O,O*-acetálicos derivados de benzoxazepinas. (Librería 1).

### 4.2.1. (*RS*)-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas sustituidas sobre N1.

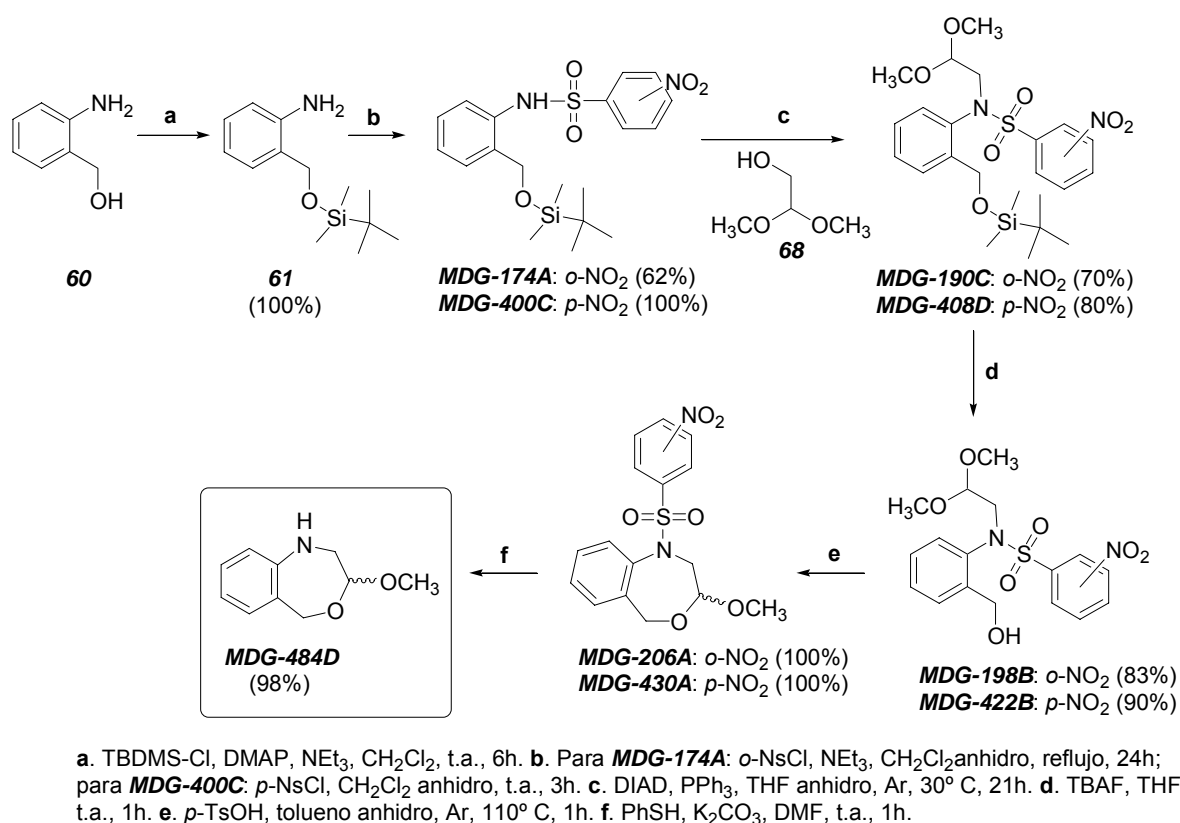


**Figura 4.8.** Esquema retrosintético para la preparación de *O,O*-acetales de 4,1-benzoxazepinas sustituidas sobre N1 (compuestos tipo **a**, Tabla 4.3).

La mayoría de las (*RS*)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas diversamente sustituidas sobre la posición 1 (estructuras tipo **a**, Tabla 4.3), se obtienen a partir del compuesto **MDG-484D**. El esquema retrosintético correspondiente, con tres etapas clave, se describe en la Figura 4.8.

#### 4.2.1.1. Síntesis del intermedio común (*RS*)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (**MDG-484D**)<sup>1</sup>.

La ruta sintética que se ha seguido para la obtención del compuesto **MDG-484D**, se expone en el Esquema 4.9 y, en los siguientes apartados, se discute cada una de las etapas que ésta incluye.

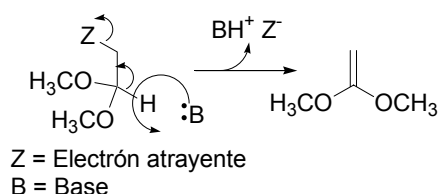


Esquema 4.9. Etapas sintéticas seguidas para la preparación de **MDG-484D**.

##### 4.2.1.1.a. Alquilación del nitrógeno anilínico.

Como se muestra en el esquema retrosintético (Figura 4.8), la primera etapa en la preparación de **MDG-484D** y de los diversos derivados *O,O*-acetálicos, es la alquilación

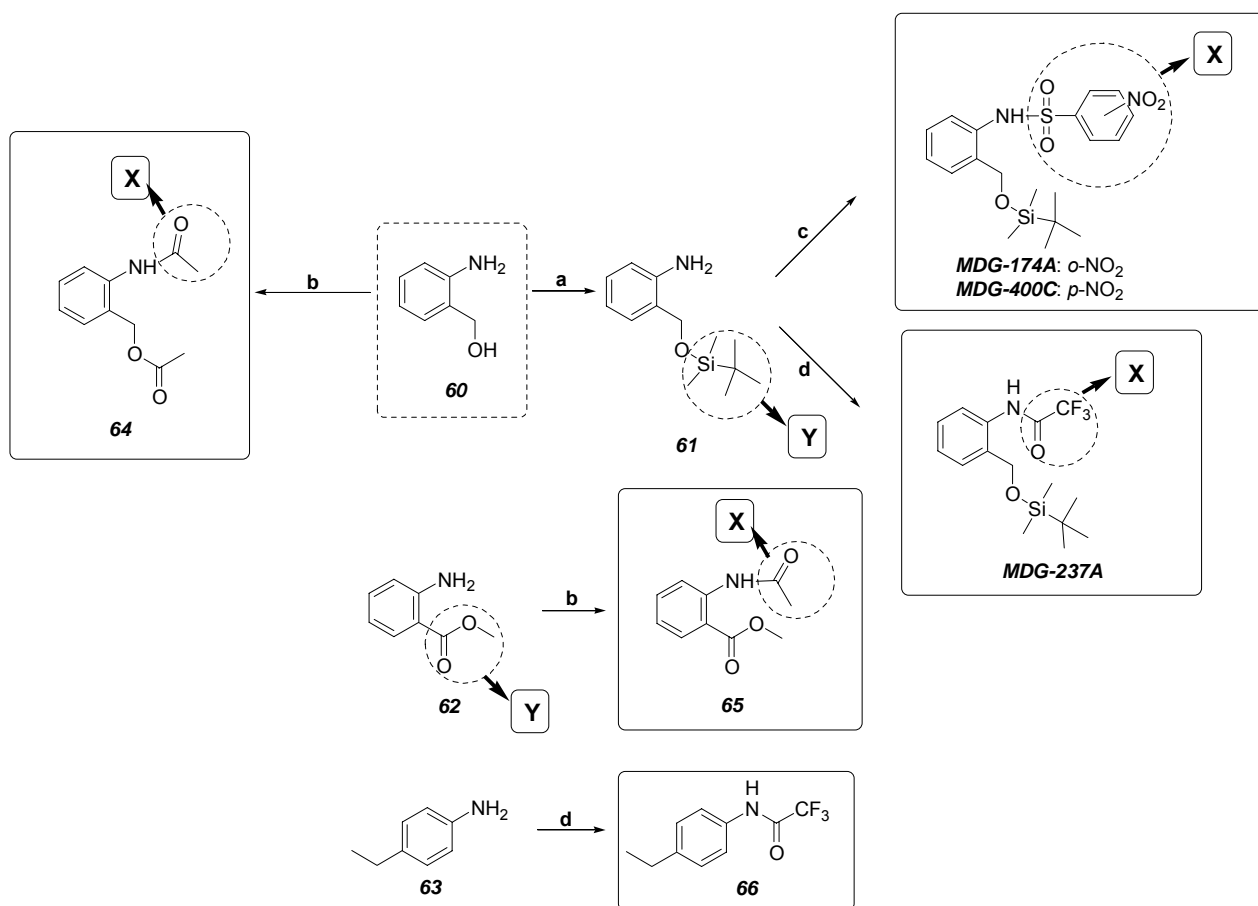
del nitrógeno anilínico del sintón **A** con un resto de 2,2-dimetoxietilo (sintón **B**). La reacción de Mitsunobu sobre los sustratos **MDG-174A** y **MDG-400C** (etapa **c**, Figura 4.9), ha sido la estrategia elegida tras la ineficacia que, en este caso, han demostrado los procedimientos convencionales de alquilación en presencia de bases. Esta ineficacia ha sido atribuida a la escasa nucleofilia del nitrógeno y a la eliminación de un protón en el centro terciario del electrófilo, como se indica en el Esquema 4.10.



**Esquema 4.10.** Proceso de eliminación sobre el centro terciario del electrófilo.

Atendiendo a diversas estrategias de alquilación, se han estudiado distintos grupos X y Z, activadores de la nucleofilia del nitrógeno y de la electrofilia del resto 2,2-dimetoxietilo.

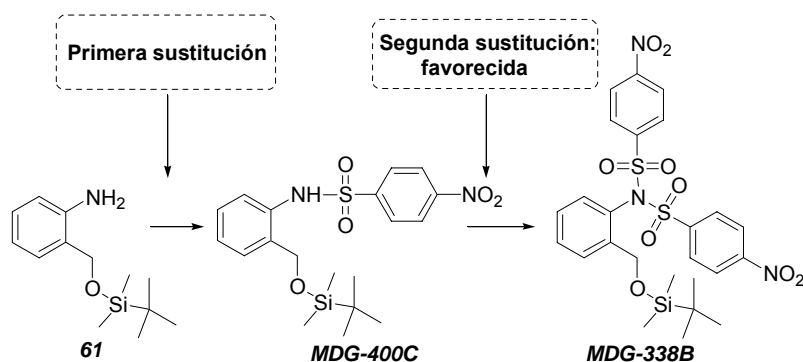
Como grupos activadores X se han introducido los restos acetilo, trifluoroacetilo, 2-nitrobencénsulfonilo (*o*-Ns) y 4-nitrobencénsulfonilo (*p*-Ns), obteniéndose así las correspondientes acetamidas **64** y **65**<sup>2</sup>, la trifluoroacetamida **MDG-237A**<sup>1</sup> y las sulfonamidas **MDG-174A**<sup>1</sup> y **MDG-400C**<sup>1</sup>. La trifluoroacetamida **66**<sup>3</sup>, se preparó con el objetivo de estudiar la influencia del grupo voluminoso *terc*-butildimetilsililo (TBDMS) en el transcurso de la reacción. Las condiciones utilizadas para la obtención de cada uno de estos compuestos se describen en el Esquema 4.11.



**Esquema 4.11.** Preparación de los compuestos de partida correspondientes al sintón **A**.

Las trifluoroacetamidas **MDG-237A** y **66** se obtuvieron empleando el reactivo de Katritzky, 1-(trifluoroacetyl)benzotriazol<sup>4</sup>.

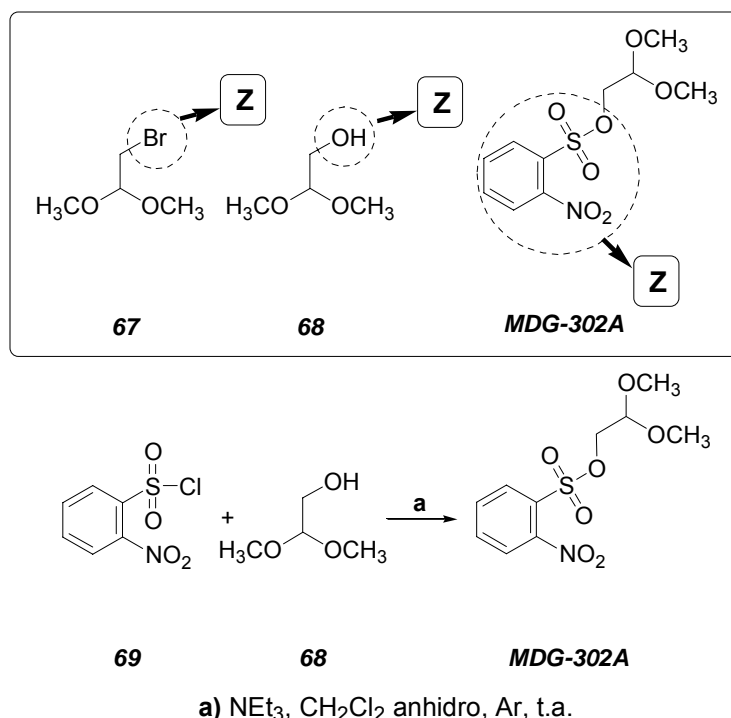
Para la formación de la sulfonamida **MDG-174A** se aplicó el procedimiento descrito por Fukuyama y cols<sup>5</sup> (1.1 equiv. de cloruro *o*-Ns, 1.5 equiv. de  $\text{NEt}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t.a). En la preparación de **MDG-400C** fue necesario disminuir hasta 0.5 el número de equivalentes de cloruro de sulfonilo utilizados, con el objeto de evitar la formación del derivado disustituido **MDG-338B**<sup>1</sup>, que se forma a partir de **MDG-400C**, debido a la elevada acidez de éste (Esquema 4.12). Para la formación exclusiva de **MDG-400C** fue necesario, además, evitar la utilización de cualquier base adicional. El impedimento estérico del grupo nitro en posición *orto* puede ser la causa por la que no se haya observado disustitución sobre **MDG-174A**.



- i. *p*-NsCl (1.1 equiv.), NEt<sub>3</sub> (1.5 equiv.), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro, t.a., 5 h. **MDG-338B** = 100%
- ii. *p*-NsCl (1.0 equiv.), NEt<sub>3</sub> (1.4 equiv.), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro, t.a., 1 h. **MDG-338B** = 53%, **MDG-400C**: 23%
- iii. *p*-NsCl (0.5 equiv.), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro, t.a., 3 h. **MDG-400C**: 100%

**Esquema 4.12.** Formación del compuesto disustituido **MDG-338B**.

Como materias primas correspondientes al sintón **B** se han utilizado los compuestos comerciales 2-bromo-1,1-dimetoxietano (**67**) o 2,2-dimetoxietanol (**68**) y se ha preparado el 2-nitrobencénsulfonato de 2,2-dimetoxietilo (**MDG-302A**)<sup>1</sup> (Figura 4.13).



**Figura 4.13.** Compuestos de partida correspondientes al sintón **B**. Preparación de **MDG-302A** a partir del cloruro de 2-nitrobencénsulfonilo (**69**) y 2,2-dimetoxietanol (**68**).

Los intentos de alquilación de los grupos amino primarios del 2-aminofenilmetanol (**60**), de su análogo protegido **61**<sup>6</sup> y del 2-aminobenzoato de metilo (**62**), por ataque del electrófilo 2-bromo-1,1-dimetoxietano (**67**) en medio básico, resultaron infructuosos. Con el mismo electrófilo y a partir de las fenilacetamidas **64** y **65**<sup>7</sup>, los resultados fueron igualmente insatisfactorios. Se han usado bases de distinta fortaleza como hidruro sódico (NaH), *n*-butillitio (*n*-BuLi), carbonato potásico (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) o las propias anilinas de partida y disolventes anhidros de distintas polaridades como dimetilformamida (DMF), tetrahidrofurano (THF) o diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

El compuesto **60** se recuperó sin reaccionar cuando se desarrolló la reacción a t.a., en presencia de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y en DMF y, sin embargo, dio lugar a un elevado número de productos no identificados, al elevar la temperatura hasta los 100 °C. La reacción a partir de **61**, a 35 °C en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, utilizando como base un exceso del propio sustrato, tuvo como consecuencia la formación del producto **MDG-478B** (15%) (Figura 4.14), resultante del desplazamiento nucleófilo de *tert*-butildimetilsilanol. A partir de las fenilacetamidas **64** y **65**, en DMF o THF, utilizando NaH o *n*-BuLi, a t.a., 40 °C o 60 °C, se obtuvieron los productos de desacetilación como consecuencia del ataque nucleófilo de las bases empleadas, sobre el grupo carbonilo.

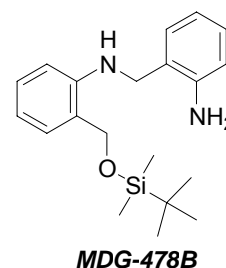
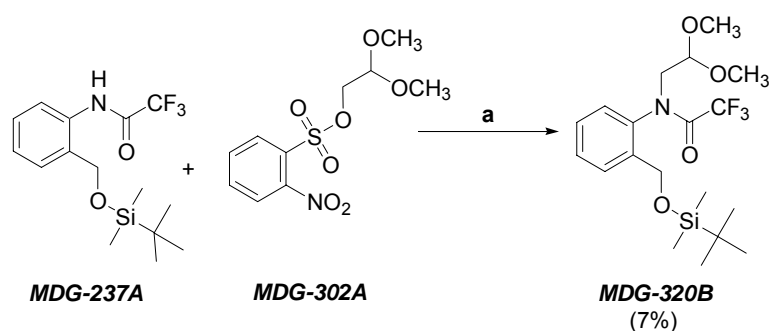


Figura 4.14.



a) MTBD, DMF anhidra, Ar, 100° C, 24 h.

Esquema 4.15. Alquilación de la feniltrifluoroacetamida **MDG-237A** con el sulfonato **MDG-302A**.

El compuesto **MDG-302A**, se ha utilizado en la reacción de alquilación de la trifluoroacetamida **MDG-237A**, en presencia de la base no nucleófila MTBD<sup>8</sup> (7-metil-

1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]-5-deceno). La capacidad saliente de la función sulfonato incrementa la reactividad del átomo de carbono que la soporta, haciéndolo susceptible de ataque por nucleófilos débiles. La reacción se desarrolló a t.a., 40 °C y 100 °C y, únicamente en este último caso, se aisló el producto alquilado, **MDG-320B**, con un escaso rendimiento (Esquema 4.15)<sup>1</sup>.

Finalmente, tras todos estos intentos fallidos, la alquilación del nitrógeno anilínico se consiguió mediante reacción de Mitsunobu utilizando como compuesto hidroxilado, el 2,2-dimetoxietanol (**68**).

La reacción de Mitsunobu permite la activación de alcoholes como agentes alquilantes en condiciones suaves y su éxito depende no tanto de la nucleofilia sino de la acidez de los nucleófilos implicados. Para estos, se ha descrito un pK<sub>a</sub> óptimo inferior a 11<sup>9</sup>, por lo que los compuestos **MDG-174A**, **MDG-400C** y **MDG-237A**, con grupos atrayentes de electrones sobre el átomo de nitrógeno, se utilizaron como sustratos. Además, se estudió el comportamiento de **66** con el objetivo de conocer la importancia del impedimento estérico que ejerce el grupo protector de hidroxilo TBDMS, en el desarrollo de la reacción [para **66**, pK<sub>a</sub> calculado = 10.06 ± 0.70; para **MDG-237A**, pK<sub>a</sub> calculado = 9.82 ± 0.70; para **MDG-174A**, pK<sub>a</sub> calculado = 7.52 ± 0.50; para **MDG-400C**, pK<sub>a</sub> calculado = 7.73 ± 0.50. Datos obtenidos de “Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software Solaris V4.67 (© 1994-2005 ACD/Labs)”].

Existe en bibliografía un elevado número de modificaciones de esta reacción, indicadas para sustratos con distinta acidez y para diferentes tipos de alcoholes<sup>9,10,11</sup>. En ellas, se consideran críticas las combinaciones de reactivos utilizadas y los procedimientos aplicados para la adición de los mismos. Mientras que en algunos casos es preferible la incorporación del azoderivado en último lugar sobre una disolución de los demás componentes<sup>9</sup>, en otros se defiende la formación del complejo entre el azoderivado y el derivado de fosfina de forma previa a la adición del ácido y el alcohol<sup>11</sup>. Otras veces, la estrategia que conduce a los mejores resultados, es la adición del derivado de fosfina en último lugar<sup>13b,12</sup>. En cuanto al tipo de reactivos a utilizar, los trialquilderivados de fosfina, más nucleófilos y los azoderivados de estructura general



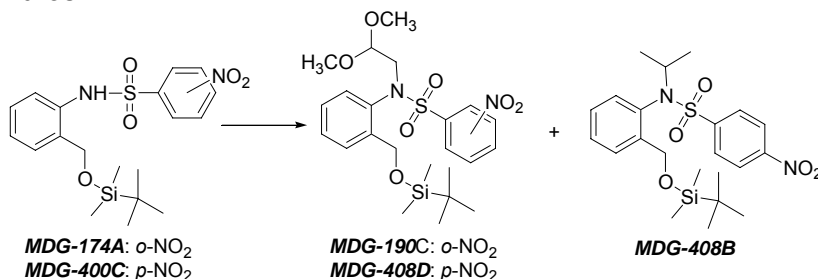
$R_2N-CO-N=N-CO-NR_2$ , se aconsejan para los sustratos poco ácidos ( $pK_a$  superior a 11)<sup>9,13</sup>.

Las distintas combinaciones de reactivos (TPP/DIAD, TBP/ADDP, TPP/ADDP\*) que se han ensayado para la alquilación de **MDG-174A**, **MDG-400C**, **MDG-237A** y **66** así como los distintos procedimientos de adición de los mismos, se describen en las Tablas 4.16 y 4.17.

---

\***Abreviaturas.** TPP: trifenilfosfina; TBP: tributilfosfina; DIAD: diisopropilazodicarboxilato; ADDP: 1,1'-(azodicarbonil)dipiperidina.

**Tabla 4.16.** Condiciones utilizadas para la alquilación de nitrobencénsulfonamidas con 2,2-dimetoxietanol (**68**), mediante reacción de Mitsunobu. En todos los casos, las reacciones se desarrollaron en atmósfera inerte (Ar) y se utilizaron disolventes anhidros.



	Sustrato	Azoderivado	PR <sub>3</sub>	Temperatura/ Tiempo	Disolvente	Orden adición	Producto
1	<b>MDG-174A</b>	DIAD (1.2) <sup>a</sup>	TPP (1.2)	30 °C/21 h	THF	A	<b>MDG-190C</b> (70%)
2	<b>MDG-174A</b>	DIAD (1.2)	TPP (1.2)	t.a./24 h	THF	A	<b>MDG-190C</b> (19%)
3	<b>MDG-174A</b>	DIAD (1.2)	TPP (1.2)	40 °C/24 h	THF	A	<b>MDG-190C</b> (40%)
4	<b>MDG-400C</b>	DIAD (1.2)	TPP (1.2)	30 °C/21 h	THF	A	<b>MDG-408D</b> (80%)
5	<b>MDG-400C</b>	DIAD (1.2) <sup>c</sup>	TPP (1.2)	30 °C/18 h	THF	A	<b>MDG-408B</b> (38%) <b>MDG-408D</b> (31%)
6	<b>MDG-400C</b>	ADDP (1.5) <sup>b</sup>	TBP (1.5)	30 °C/90 h	THF	B	<b>MDG-400C</b>
7	<b>MDG-400C</b>	ADDP (1.5)	TBP (1.5)	30 °C/81 h	THF	B	<b>MDG-400C</b>
8	<b>MDG-400C</b>	ADDP (1.5) <sup>b</sup>	TBP (1.5)	30 °C/23 h	Tolueno	B	<b>MDG-400C</b>
9	<b>MDG-400C</b>	ADDP (1.5) <sup>b</sup>	TBP (1.5)	60 °C/24 h	Tolueno	B	<b>MDG-400C</b>

**Método A:** Adición del azoderivado a -20 °C sobre una disolución de los demás componentes, preparada a t.a.

**Método B:** Adición de PR<sub>3</sub> y azoderivado, en este orden y a 0 °C, sobre una disolución del alcohol y la amida, preparada a t.a.

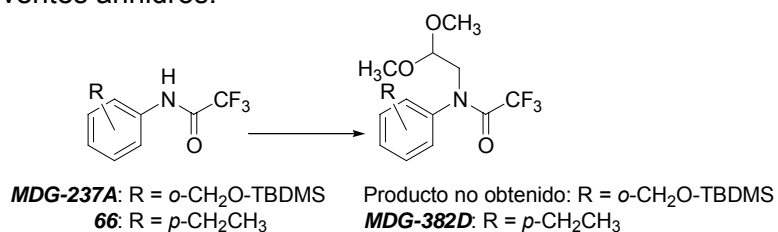
PR<sub>3</sub>: Derivado de fosfina.

<sup>a</sup> Número de equivalentes utilizados para 1.0 equiv. de sustrato de partida. Los equivalentes del alcohol coinciden con los del azoderivado y PR<sub>3</sub>, excepto en los casos en que se indique lo contrario.

<sup>b</sup> Utilización de 1.0 equiv. de 2,2-dimetoxietanol.

<sup>c</sup> Utilización de 4.3 equiv. de 2,2-dimetoxietanol.

**Tabla 4.17.** Condiciones utilizadas para la alquilación de trifluoroacetamidas (1.0 equiv.) con 2,2-dimetoxietanol (**68**), mediante reacción de Mitsunobu. En todos los casos, las reacciones se desarrollaron en atmósfera inerte (Ar) y se utilizaron disolventes anhidros.



	Sustrato	Azoderivado	PR <sub>3</sub>	Temperatura/ Tiempo	Disolvente	Orden adición	Producto
1	<b>MDG-237A</b>	DIAD (1.2) <sup>a</sup>	TPP (1.2)	30 °C/20 h	THF	A	<b>MDG-237A</b>
2	<b>MDG-237A</b>	DIAD (1.2)	TPP (1.2)	40 °C/24 h	THF	A	Eliminación TBDMS
3	<b>MDG-237A</b>	DIAD (1.5)	TPP (1.5)	30 °C/16 h	THF	C	<b>MDG-237A</b>
4	<b>66</b>	DIAD (1.5)	TPP (1.5)	30 °C/22 h	THF	C	<b>66</b>
5	<b>66</b>	DIAD (1.5)	TPP (1.5)	30 °C/47 h	THF	A	<b>66</b>
6	<b>66</b>	DIAD (1.5)	TPP (1.5)	reflujo/22 h	THF	A	<b>MDG-382D</b> (8%)
7	<b>66</b>	ADDP (1.5) <sup>b</sup>	TBP (1.5)	60 °C/24 h	Tolueno	B	<b>66</b>
8	<b>66</b>	ADDP (1.5)	TBP (1.5)	30 °C/81 h	THF	B	<b>66</b>
9	<b>66</b>	ADDP (1.5)	TBP (1.5)	35 °C/14 h	THF (desgasificado con Ar)	C	<b>66</b>
10	<b>66</b>	ADDP (1.5)	TBP (1.5)	60 °C/17 h	THF (desgasificado con Ar)	D	<b>66</b>
11	<b>66</b>	ADDP (2.0)	TPP (2.0)	30 °C/14 h 50 °C/8 h	THF (desgasificado con Ar)	A	<b>66</b>

**Métodos A y B:** Como descritos en Tabla 4.16.

**Método C:** Adición de la amida y el alcohol, en este orden, a 0 °C, sobre una disolución de PR<sub>3</sub> y azoderivado, preparada a -20 °C.

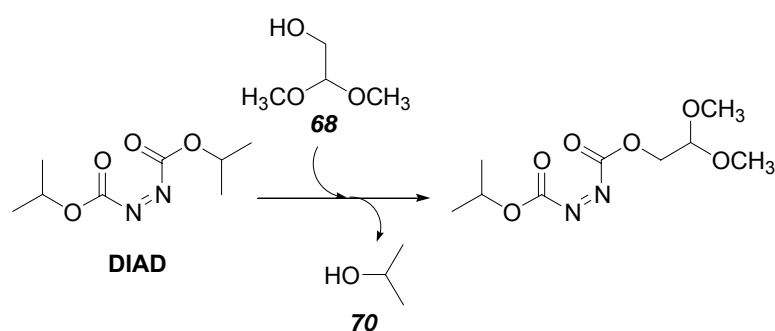
**Método D:** Adición de azoderivado y PR<sub>3</sub>, en este orden, a -20 °C, sobre una disolución de la amida y el alcohol, preparada a t.a.

<sup>a</sup> Número de equivalentes utilizados para 1.0 equiv. de sustrato de partida. Los equiv. del alcohol coinciden con los del azoderivado y PR<sub>3</sub>, excepto en los casos en que se indique lo contrario.

<sup>b</sup> Utilización de 1.0 equiv. de 2,2-dimetoxietanol.

Para la alquilación de las sulfonamidas, las reacciones en presencia de trifenilfosfina (TPP) y diisopropilazodicarboxilato (DIAD) descritas por Fukuyama y cols.<sup>14</sup> dieron buenos resultados, observándose una gran dependencia del rendimiento con la temperatura de reacción (Tabla 4.16, filas 1-4). En la obtención de **MDG-190C**, éste alcanzó un máximo de 70% a 30 °C y disminuyó al aumentar la temperatura, lo que se ha atribuido a la labilidad del grupo protector TBDMS en el sistema THF/TPP/DIAD (como se desprende de los resultados obtenidos para la reacción indicada en la fila 2 de la Tabla 4.17). Otras combinaciones de reactivos como TBP/ADDP<sup>15</sup> no condujeron a formación de productos.

La utilización de un exceso de alcohol en la alquilación de las sulfonamidas (4.3 equiv. para 1.0 equiv. de **MDG-400C**) tuvo como consecuencia la formación de **MDG-408B** (Tabla 4.16, fila 5). Como posible causa se ha propuesto una transesterificación entre **68** y el DIAD que provocaría la liberación de isopropanol al medio de reacción (Esquema 4.18)<sup>1</sup>. Un caso similar se ha descrito en bibliografía, a partir de dietilazodicarboxilato (DEAD)<sup>16</sup>.



**Esquema 4.18.** Transesterificación entre DIAD y 2,2-dimetoxietanol (**68**) con liberación de isopropanol (**70**).

De igual modo, sobre la trifluoroacetamida **66**, la combinación TPP/DIAD resultó la única efectiva aunque, en este caso, fue necesario elevar la temperatura más allá de 40 °C, para conseguir la formación del producto alquilado, **MDG-382D**, aunque con bajo rendimiento (Tabla 4.17, filas 4-6). La alquilación de **MDG-237A** no fue posible a t.a. y dada la labilidad del grupo protector TBDMS a 40 °C en el sistema TPP/DIAD/THF, tampoco pudo llevarse a cabo a alta temperatura. La ineficacia de ambas trifluoroacetamidas como sustratos de Mitsunobu puede deberse a una acidez insuficiente, siendo descartable la existencia de un impedimento estérico del grupo

TBDMS en posición *orto*. Aún así, existen numerosas referencias de alquilación de trifluoroacetamidas aromáticas<sup>9a,9b,11,17</sup>.

Para todas las combinaciones de reactivos de Mitsunobu y sobre todos los sustratos que se han ensayado, el método A (adición del azoderivado en último lugar sobre una disolución a -20 °C, de los demás componentes) ha sido el único eficaz.

#### **4.2.1.1.b. Reacción de ciclación: Formación de los anillos 4,1-benzoxazepínicos.**

La formación de anillos 4,1-benzoxazepínicos a partir de los compuestos abiertos **MDG-190C** y **MDG-408D** tiene lugar mediante un ataque nucleófilo intramolecular. En dos tipos de aproximaciones, el papel nucleófilo puede jugarlo el grupo hidroxilo desprotegido o bien uno de los átomos de oxígeno de la agrupación acetálica. En el primero de los casos la reacción está mediada por ácidos, mientras que, en el segundo, es necesaria la utilización de sistemas activadores del carbono bencílico como electrófilo.

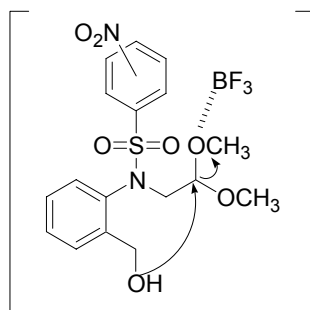
Ambas estrategias se han aplicado en esta Memoria, pero únicamente el ataque nucleófilo del grupo hidroxilo libre, ha permitido la formación de los anillos (etapa e del Esquema 4.9).

##### **4.2.1.1.b.i. Ciclación mediada por ácidos.**

El medio ácido juega un papel activador de la electrofilia del carbono acetálico, incrementando la capacidad saliente de los grupos metoxilo y facilitando, por tanto, el ataque nucleófilo del grupo hidroxilo bencílico.

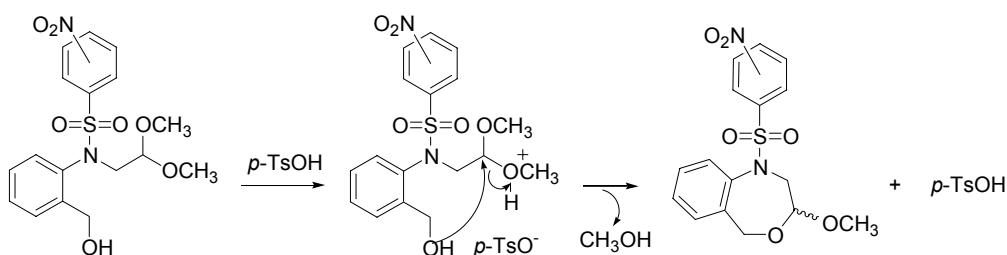
En una primera aproximación y siguiendo el procedimiento aplicado a los 1,4-benzodioxepinos<sup>37</sup> precedentes a los compuestos aquí preparados, se utilizó un ácido de Lewis, eterato de trifluoruro de boro (BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>), como activador de la reacción. La coordinación del ácido a uno de los oxígenos acetálicos, debilita el enlace C-O y facilita el ataque del hidroxilo<sup>24</sup> (Figura 4.19). Esta ciclación se desarrolla con buen rendimiento

pero tiene lugar muy lentamente, llegando los tiempos de reacción incluso a 7 días, durante los cuales, el sistema debe mantenerse en oscuridad y bajo atmósfera inerte. El ácido de Lewis se utiliza de forma estequiométrica.



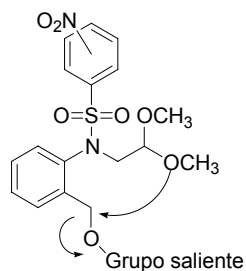
**Figura 4.19.** Ataque nucleofilo intramolecular mediado por  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ .

La protonación de los grupos metoxilo, debida al uso de ácidos de Bronsted, igualmente promueve el ataque nucleofilo sobre la posición acetálica. Al sustituir el eterato de trifluoruro de boro por el ácido *p*-toluensulfónico (*p*-TsOH) en cantidad catalítica, los tiempos de reacción se acortaron en gran medida manteniéndose los buenos rendimientos (las reacciones catalizadas por el ácido *p*-toluensulfónico se desarrollaron en 2 h con rendimiento cuantitativo) (Figura 4.20).



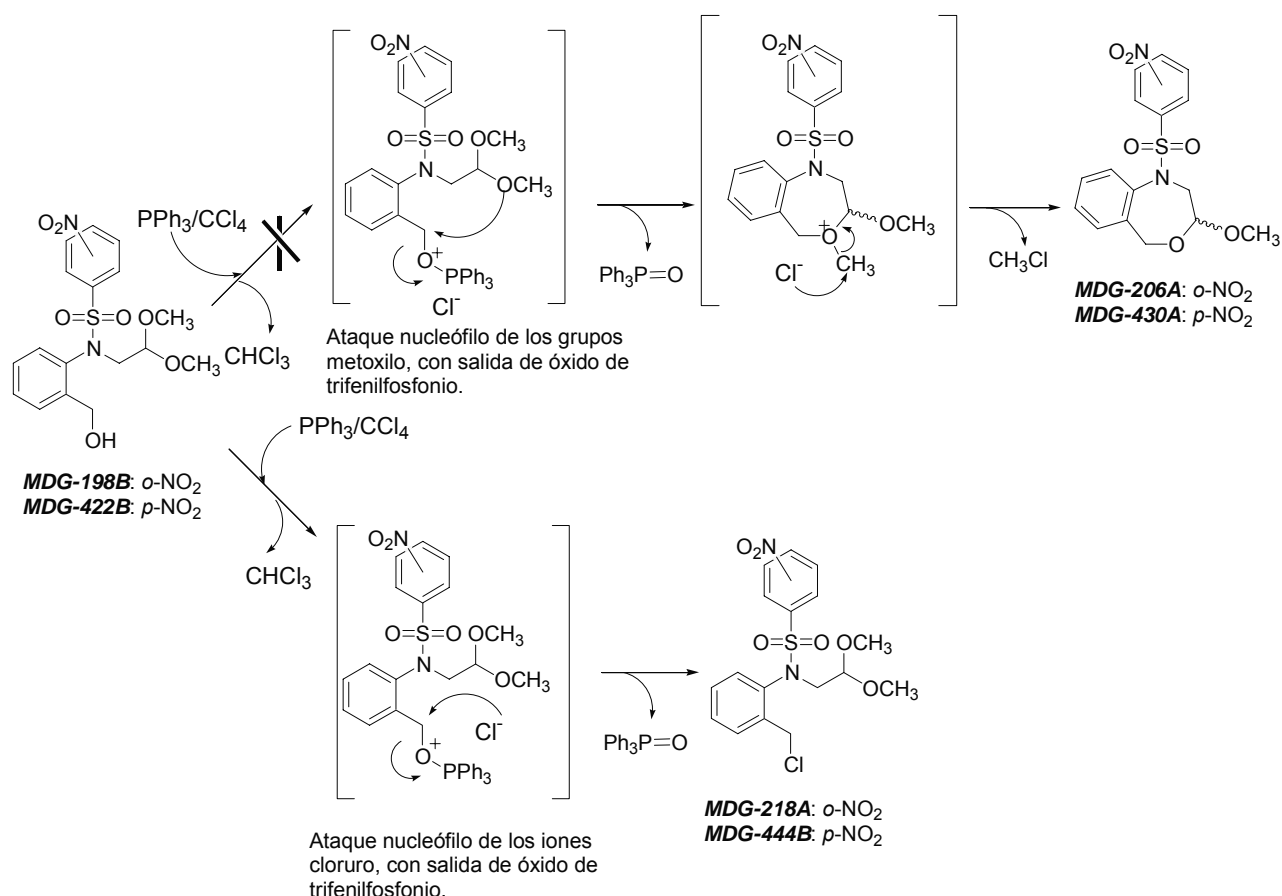
**Figura 4.20.** Ataque nucleofilo intramolecular mediado por *p*-TsOH.

#### 4.2.1.1.b.ii. Ciclación mediada por sistemas activadores del carbono bencílico.



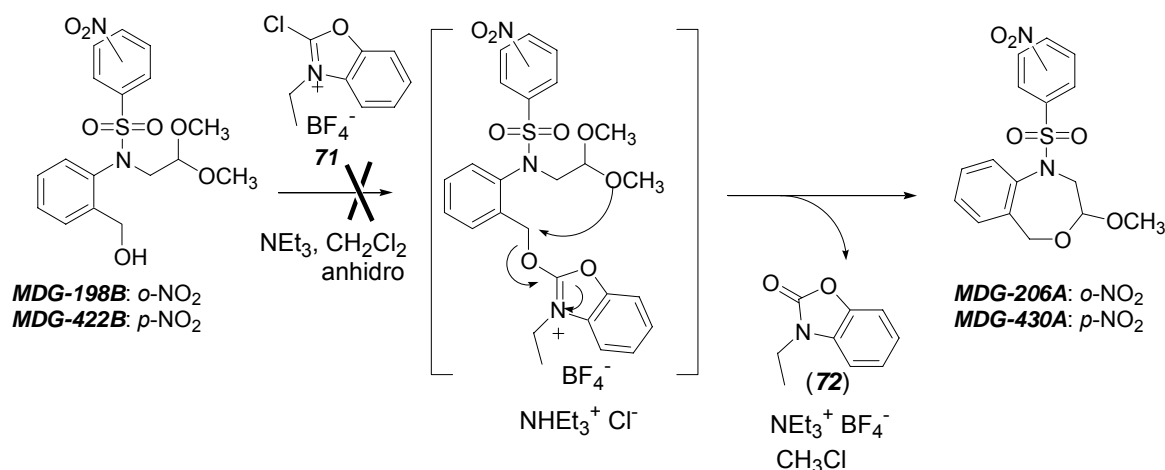
Se ha intentado la ciclación de los compuestos **MDG-198B** y **MDG-422B** en condiciones neutras, mediante la unión al carbono bencílico, de un buen grupo saliente. Así, se ha transformado en un derivado de trifenilfosfonio<sup>18</sup> y en un derivado de benzoxazolio<sup>19</sup>.

Para el primero de los casos se ha utilizado el sistema TPP/CCl<sub>4</sub>. Sin embargo, en lugar del proceso de ciclación esperado (indicado en el Esquema 4.21), tuvo lugar la sustitución del grupo hidroxilo por cloro y, tras 30 min a 105 °C, se aislaron los productos **MDG-218A** y **MDG-444B**, cuya formación esta mediada por el ataque nucleófilo de los iones cloruro generados a partir del disolvente (Esquema 4.21).



**Esquema 4.21.** En la parte superior, proceso de ciclación esperado, que no tuvo lugar. En la parte inferior, proceso de sustitución de hidroxilo por cloro y formación de los compuestos **MDG-218A** y **MDG-444B**.

De forma análoga, el uso de derivados de benzoxazolio (**71**) daría lugar a la formación de una posición bencílica reactiva, de la que el ataque nucleófilo del grupo metoxilo desplazaría una benzoxazolona estable (**72**), como se muestra en el Esquema 4.22. Sin embargo, tras 53 h de agitación a t.a. bajo atmósfera inerte, se recuperó el producto de partida.



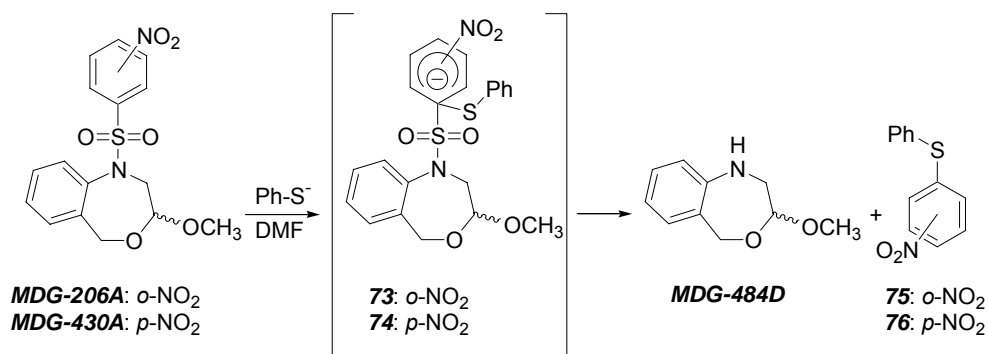
**Esquema 4.22.** Proceso de ciclación esperado, mediado por tetrafluoroborato de 2-cloro-3-etil-1,3-benzoxazolio, que no tuvo lugar.

La ineficacia de estos métodos, podría deberse a la existencia de cierta restricción conformacional en los compuestos **MDG-198B** y **MDG-422B**, de la que se han encontrado evidencias espectroscópicas (véase Apartado 4.2.3 sobre análisis espectroscópico), que podría dificultar la aproximación de los oxígenos acetálicos a la posición bencílica.

#### 4.2.1.1.c. Eliminación del grupo protector nitrobencénsulfonilo (2-Ns y 4-Ns). Obtención de la amina secundaria **MDG-484D**.

La reacción de eliminación de los grupos protectores 2-Ns y 4-Ns se ha llevado a cabo en presencia del nucleófilo tiofenol, en las condiciones descritas por Fukuyama y cols.<sup>5</sup> Dichos autores, describen el desarrollo de la reacción a través de la formación de los complejos de Meisenheimer **73** y **74**, indicados en el Esquema 4.23. El producto de eliminación, **MDG-484D**, se obtuvo con rendimiento cuantitativo.





**Esquema 4.23.** Mecanismo para la eliminación del grupo protector nitrobenzénsulfonilo, descrito por Fukuyama y cols.<sup>5</sup>

#### 4.2.1.2. Síntesis de (*RS*)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas diversamente sustituidas sobre *N1*.

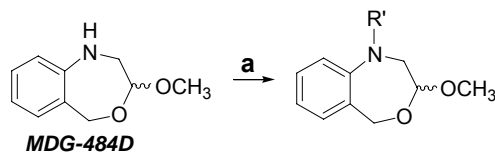
Se han preparado los *O,O*-acetales finales que se muestran en la Tabla 4.3 y que incluyen carboxamidas, sulfonamidas, carbamatos y aminas terciarias.

La mayoría de estos compuestos se han obtenido a partir de **MDG-484D**, por reacción de éste con los correspondientes electrófilos R'X. Se ha encontrado que las condiciones idóneas para estas reacciones de sustitución de *N1* han sido muy diversas dependiendo de la reactividad de los electrófilos implicados. Un resumen de las mismas se muestra en la Tabla 4.24.

Los demás derivados se han obtenido por modificación de las benzoxazepinas ya sustituidas en *N1*, como se indica en la Tabla 4.25. La reducción de grupos nitro en **MDG-206A**, **MDG-430A** y **MDG-946C** utilizando SnCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, dieron lugar a **MDG-858B**, **MDG-872B** y **MDG-964B** respectivamente.

La preparación de **MDG-484D**, **MDG-206A** y **MDG-430A** se ha descrito en el Apartado 4.2.1.1.

**Tabla 4.24.** Resumen de las condiciones aplicadas para la introducción de sustituyentes sobre N1 en el intermedio **MDG-484D**.



a. R'X, base.

	Electrófilo (R'X)	Base	Disolvente	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	Tiempo de reacción	Producto	R'
1	DMF	NaH	DMF anhidro	t.a.	70 °C	16 h	<b>MDG-908B</b> (36%)	Formilo
2	Cloruro de butanoílo	NEt <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> anhidro	0 °C	t.a.	17 h	<b>MDG-530B</b> (69%)	Butanoílo
3	Anhídrido trifluoroacético	NEt <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> anhidro	0 °C	t.a.	18 h	<b>MDG-540A</b> (79%)	Trifluoroacetilo
4	Cloruro de benzoílo	NEt <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> anhidro	0 °C	0-5 °C	3 h	<b>MDG-616A</b> (Cuantit.)	Benzoílo
5	Cloruro de <i>p</i> -nitrobenzoílo	NaH	THF anhidro	0 °C	t.a.	18 h	<b>MDG-946C</b> (58%)	<i>p</i> -Nitrobenzoílo
6	Fmoc-Cl <sup>a</sup>	NaH	THF anhidro	t.a.	30 °C	8.5 h	<b>MDG-791D</b> (85%)	Fmoc
7	Bromuro de bencilo	NaH	THF anhidro	-10 °C	60 °C	12 h	<b>MDG-804B</b> (18%)	Bencilo
8	<i>p</i> Ts-Cl <sup>b</sup>	NEt <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> anhidro	0 °C	35 °C	21 h	<b>MDG-904B</b> (26%)	<i>p</i> Ts

T<sub>1</sub>: Temperatura de adición del electrófilo.

T<sub>2</sub>: Temperatura de reacción

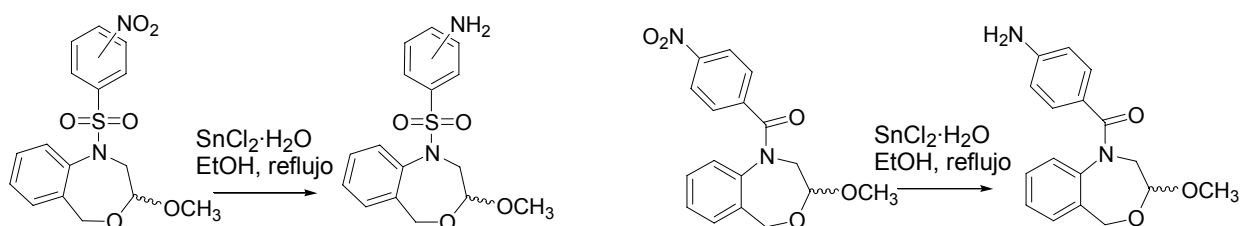
<sup>a</sup> Cloruro de 9*H*-9-fluorenilmetoxicarbonilo.

<sup>b</sup> Cloruro de *p*-toluénsulfonilo.

El compuesto **MDG-908B** se obtuvo como producto no deseado cuando se llevaron a cabo las reacciones de preparación de **MDG-946C** y **MDG-904B** en DMF. Cuando una disolución de **MDG-484D** (1.0 equiv.) en DMF se agitó durante 16 h a 70 °C en presencia de hidruro sódico (NaH, 1.0 equiv.) y cloruro de *p*-toluénsulfonilo (*p*-TsCl, 3.0 equiv.), no se obtuvo el producto tosilado (**MDG-904B**), sino el producto de formilación **MDG-908B** (36%). Cuando el *p*-TsCl se substituyó por cloruro de *p*-nitrobenzoílo (*p*-NO<sub>2</sub>BzCl, 3.0 equiv), se obtuvo un 18% de **MDG-908B** junto con un 9% de **MDG-946C**, tras 25 h a 70 °C.

Los intentos de acilación de **MDG-484D** con *p*-NO<sub>2</sub>BzCl (2.0 equiv.) o con FmocCl (2.0 equiv.) en presencia de NEt<sub>3</sub> (3.0 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>20</sup>, no tuvieron éxito y se recuperó el producto de partida. Los mejores resultados se lograron utilizando NaH como base y formando la sal de la benzoxazepina de forma previa a la adición de los cloruros.

**Tabla 4.25.** Productos obtenidos por modificación de O,O-acetales sustituidos sobre N1 (reducción de grupos nitro).



Sustrato	Producto final
<b>MDG-206A</b> ( <i>o</i> -NO <sub>2</sub> )	<b>MDG-858B</b> (86 %) ( <i>o</i> -NH <sub>2</sub> )
<b>MDG-430A</b> ( <i>p</i> -NO <sub>2</sub> )	<b>MDG-872B</b> (57 %) ( <i>p</i> -NH <sub>2</sub> )

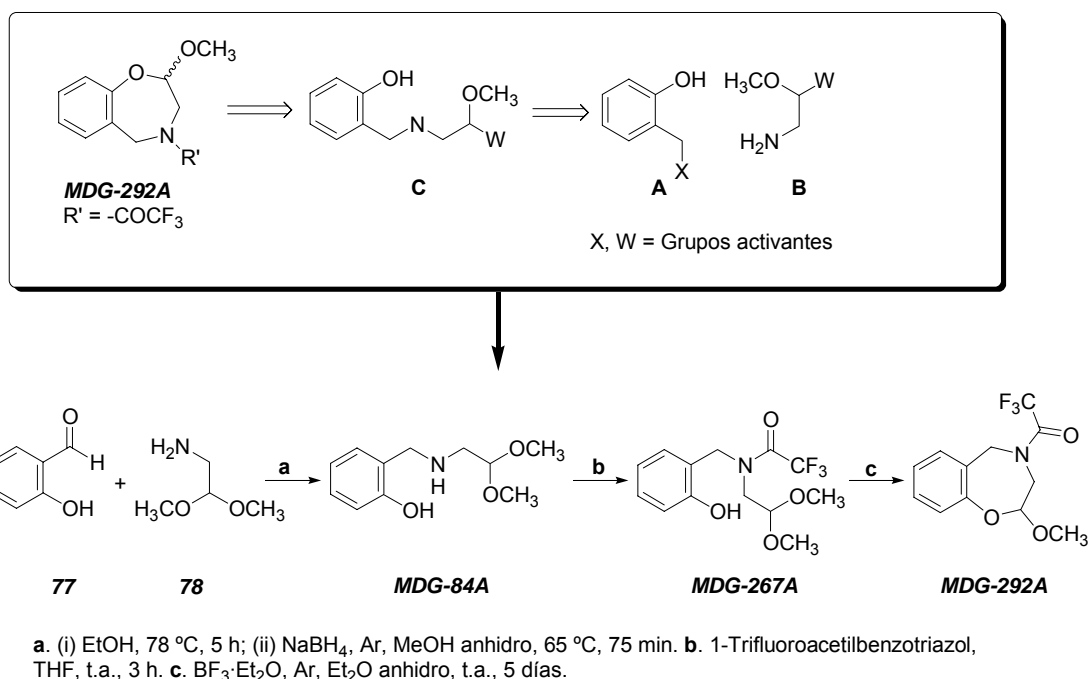
Sustrato	Producto final
<b>MDG-946C</b> ( <i>p</i> -NO <sub>2</sub> )	<b>MDG-964B</b> (67 %) ( <i>p</i> -NH <sub>2</sub> )

#### 4.2.2. (*RS*)-2-Metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepinas N1-sustituidas.

El compuesto **MDG-292A** es el punto de partida para la obtención de las distintas (*RS*)-2-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepinas sustituidas sobre N4 (estructuras tipo **b**, Tabla 4.3).

El esquema retrosintético y la ruta sintética que se ha desarrollado, se plantean en el Esquema 4.26. Ésta consiste en una aminación reductora (etapa **a**) a partir de 2-hidroxibenzaldehído (**77**, correspondiente al sintón A) y 2,2-dimetoxietilamina (**78**, correspondiente al sintón B), seguida de la trifluoroacetilación del nitrógeno (etapa **b**) y la ciclación (etapa **c**) hasta la (*RS*)-2-metoxi-4-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepina (**MDG-292A**). La aminación reductora y la trifluoroacetilación, ésta última utilizando el reactivo de Katritzky (1-trifluoroacetilbenzotriazol)<sup>4</sup>, permitieron la incorporación de los fragmentos de 2,2-dimetoxietilo y trifluoroacetilo sin necesidad de

utilizar bases en presencia del grupo fenólico ácido. El resto trifluoroacetilo se usó ante la necesidad de proteger la amina **MDG-84A** para la etapa de ciclación que se desarrolla en medio ácido. La fácil eliminación del mismo permite la variación estructural sobre *N4*.



**Esquema 4.26.** Retrosíntesis planteada para la preparación de (*RS*)-2-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepinas (recuadrada) y ruta sintética que se ha seguido.

#### 4.2.3. Análisis espectroscópico de los compuestos *O,O*-acetálicos.

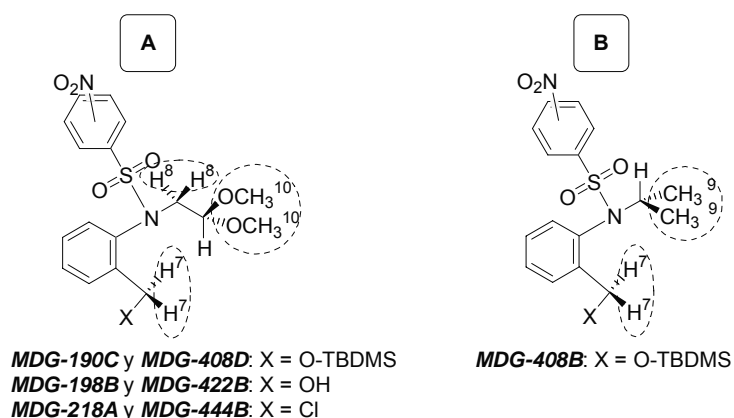
A continuación se exponen las principales características y los efectos observados en los espectros de resonancia magnética nuclear de protones (<sup>1</sup>H-RMN) y carbono (<sup>13</sup>C-RMN) de los compuestos *O,O*-acetálicos finales y de sus correspondientes intermedios en la ruta sintética.

##### 1.- Fenómenos de restricción rotacional.

Algunos de los intermedios *O,O*-acetálicos de estructura abierta, presentan hidrógenos o carbonos diastereotópicos, lo que refleja cierta restricción conformacional que hace que estos compuestos se comporten como estructuras rígidas. Estos intermedios son:

- Aquellos con alguna de las estructuras generales **A** o **B** indicadas en la Tabla 4.27 (*N*1 trisustituido por un resto bencénsulfonilo, un resto alquilo y un anillo aromático con un sustituyente en posición *orto*). A modo de ejemplo, el espectro  $^1\text{H-RMN}$  de **MDG-422B** se muestra en la Figura A.1 del Anexo a la Parte Teórica.

**Tabla 4.27.** Características espectroscópicas ( $^1\text{H-RMN}$ ,  $\text{CDCl}_3$ , t.a.) de los hidrógenos diastereotópicos en los *O,O*-acetales abiertos. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios (Hz).



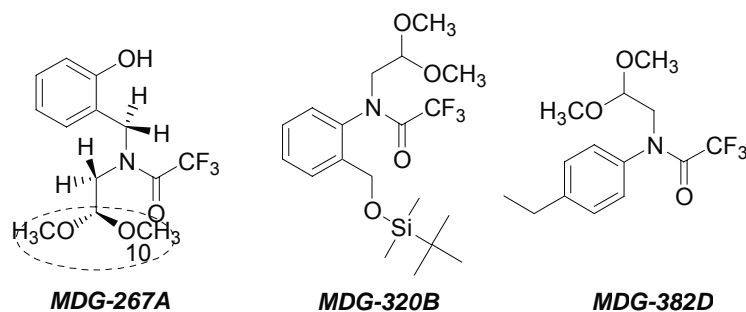
	$^1\text{H-RMN}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	H-7a		H-7b		H-8a		H-8b		H-9a		H-9b		H-10a	H-10b
		$\delta$	$J_{7-7}$ $J_{7-\text{OH}}$	$\delta$	$J_{7-7}$ $J_{7-\text{OH}}$	$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{9-8}$	$\delta$	$J_{9-8}$	$\delta$	$\delta$
1	<b>190C</b>	4.85	14.3	4.56	14.3	3.92	14.6	3.71	14.6	-	-	-	-	3.30	3.23
		<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>dd</b>	5.8	<b>dd</b>	5.3	-	-	-	-	<b>s</b>	<b>s</b>
2	<b>408D</b>	4.99	14.4	4.93	14.4	3.84	14.0	3.41	14.1	-	-	-	-	3.32	3.15
		<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>dd</b>	5.5	<b>dd</b>	5.7	-	-	-	-	<b>s</b>	<b>s</b>
3	<b>198B</b>	4.89	12.4	4.65	12.4	4.29	14.5	3.46	14.5	-	-	-	-	3.37	3.14
		<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>dd</b>	5.9	<b>dd</b>	5.3	-	-	-	-	<b>s</b>	<b>s</b>
4	<b>422B</b>	4.94	12.4	4.69	12.4	4.01	13.9	3.24	14.0	-	-	-	-	3.38	3.09
		<b>dd</b>	6.7	<b>dd</b>	7.2	<b>dd</b>	5.9	<b>dd</b>	5.6	-	-	-	-	<b>s</b>	<b>s</b>
5	<b>218A</b>	4.86	12.6	4.59	12.6	4.05	14.6	3.69	14.6	-	-	-	-	3.34	3.28
		<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>dd</b>	5.8	<b>dd</b>	5.2	-	-	-	-	<b>s</b>	<b>s</b>
6	<b>444B</b>	5.04	12.8	4.73	12.8	3.93	14.1	3.42	14.2	-	-	-	-	3.36	3.19
		<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>dd</b>	5.3	<b>dd</b>	5.8	-	-	-	-	<b>s</b>	<b>s</b>
7	<b>408B</b>	4.90	15.0	4.85	15.0	-	-	-	-	1.13	6.7	1.00	6.8	-	-
		<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	-	-	-	-	<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	-	-

**Tabla 4.28.** Características espectroscópicas ( $^{13}\text{C}$ -RMN,  $\text{CDCl}_3$ , t.a.) de los carbonos diastereotópicos en los *O,O*-acetales abiertos descritos en la figura anterior. Los desplazamientos químicos  $\delta$  se expresan en partes por millón (ppm).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )		$\delta$ (ppm)			
		$\text{CH}_3$ -9a	$\text{CH}_3$ -9b	$\text{CH}_3$ -10a	$\text{CH}_3$ -10b
1	190C	-	-	53.58	52.72
2	408D	-	-	53.77	52.50
3	198B	-	-	53.23	52.22
4	422B	-	-	53.38	51.75
5	218A	-	-	53.66	53.28
6	444B	-	-	ND	ND
7	408B	1.13	1.00	-	-

ND: Dato que no se ha determinado.

- En el intermedio *O,O*-acetálico abierto **MDG-267A**, los protones H-10 (grupos metoxilo), son diastereotópicos (véase espectro  $^1\text{H}$ -RMN en Anexo a la Parte Teórica, Figura A.3, **b**). Este fenómeno no es observable en las trifluoroacetamidas trisustituidas **MDG-320B** o **MDG-382D**.



**Figura 4.29.** Estructura de los *O,O*-acetales abiertos **MDG-267A** (mediante círculos punteados se indican los hidrógenos diastereotópicos), **MDG-320B** y **MDG-382D**.

Por otro lado, en los espectros  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -RMN registrados a t.a., de aquellos compuestos que presentan agrupaciones carboxamida trisustituidas, son observables las señales correspondientes a cada uno de los rotámeros a través del enlace  $\text{CO-N}^{1,21}$ . En algunos casos, la duplicidad de las señales aún persiste en espectros registrados a alta temperatura (ej. **MDG-946C** y **MDG-616A**), mientras que en otros, basta  $80\text{ }^\circ\text{C}$  para

la coalescencia de los picos (véase espectro del compuesto **MDG-267A**, Figura A.3, **a** y **b** en Anexo a la Parte Teórica).

Se ha utilizado la ecuación de Eyring<sup>22</sup> para el cálculo de la energía libre de activación ( $\Delta G_c$ )\* de los protones bencílicos H-7 en el compuesto **MDG-267A**. El valor obtenido, 18.5 Kcal/mol, a la temperatura de coalescencia ( $T_c$ , 80 °C), es similar a la barrera de rotación a través del enlace CO-N en la *N,N*-dimetilacetamida<sup>23</sup>.

En la descripción de los espectros RMN de las carboxamidas, los confórmeros minoritarios se han indicado con el superíndice <sup>m</sup>.

## 2.- Otra información conformacional:

En los compuestos cíclicos benzoxazepínicos, la disposición *cis* y *trans* de los protones H-2 respecto al protón H-3, se ha determinado a partir de las constantes de acoplamiento H2-H3. Los protones H-2 situados en posición *trans* respecto a H-3, se han llamado H-2 $\alpha$  y aquellos situados en posición *cis*, H-2 $\beta$  (para la constante de acoplamiento  $J_{2\alpha-3\beta}$  se han encontrado valores comprendidos entre 6.1 y 8.8 Hz, mientras que para la constante  $J_{2\beta-3\beta}$  oscilan entre 2.1 y 3.5 Hz, Tabla 4.31). La cara de la molécula hacia la que se dispone el protón acetálico H-3 se ha denominado cara  $\beta$ , mientras que la opuesta ha sido llamada  $\alpha$  (véase espectro de **MDG-484D**, Figura A.4 en Anexo a la Parte Teórica).

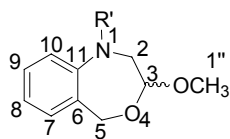
En las Tablas 4.30-4.33 se exponen los datos espectroscópicos correspondientes a los átomos de hidrógeno y carbono en los anillos 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínicos y 2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepínicos.

---

\* La constante  $k_c$  y  $\Delta G_c$  a la temperatura de coalescencia  $T_c$  se calcularon utilizando las ecuaciones de Gutowsky (1) y Eyring (2), respectivamente.  $\Delta\nu$  es la diferencia en los desplazamientos químicos de los dos confórmeros a t.a.

$$(1) k_c = \frac{\Pi(\Delta\nu)}{\sqrt{2}}; \quad (2) \Delta G_c = 191.2T_c(10.32 + \log T_c - \log k_c)$$

**Tabla 4.30.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , t.a), para los compuestos O,O-acetálicos con estructura 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínica. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios (Hz).

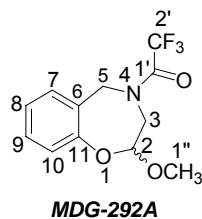


$^1\text{H-RMN}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	H-2 $\alpha$		H-2 $\beta$		H-3 $\beta$		H-5 $\alpha$ , H-5 $\beta$				H-1''
	$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\alpha-3\beta}$	$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\beta-3\beta}$	$\delta$	$J_{3\beta-2\alpha}$ $J_{3\beta-2\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$
1 <b>484D</b>	3.41 <b>dd</b>	13.9 7.2	3.25 <b>dd</b>	14.0 3.5	4.78 <b>dd</b>	7.2 3.5	5.20 <b>d</b>	14.3 -	4.33 <b>d</b>	14.3 -	3.48 <b>s</b>
2 <b>908B</b>	3.73 <b>ba</b>	- -	3.73 <b>ba</b>	- -	4.84 <b>dd</b>	6.4 3.1	5.10 <b>d</b>	14.6 -	4.41 <b>d</b>	14.6 -	3.47 <b>s</b>
3 <sup>m</sup> <b>908B</b>	3.73 <b>ba</b>	- -	3.73 <b>ba</b>	- -	4.70 <b>pt</b>	3.3 2.8	5.02 <b>d</b>	13.6 -	4.25 <b>d</b>	13.7 -	3.47 <b>s</b>
4 <b>530B</b>	2.70 <b>dd</b>	13.6 8.8	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	4.49 <b>d</b>	14.1 -	ND ND	ND ND	3.49 <b>s</b>
5 <sup>m</sup> <b>530B</b>	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	4.15 <b>da</b>	13.0 -	ND ND	ND ND	3.43 <b>s</b>
6 <b>540A</b>	4.91 <b>dd</b>	13.8 1.4	3.06 <b>d</b>	13.8 -	4.72 <b>m</b>	ND ND	5.21 <b>d</b>	13.3 -	4.18 <b>d</b>	13.2 -	3.44 <b>s</b>
7 <sup>m</sup> <b>540A</b>	2.85 <b>dd</b>	13.0 8.2	4.72 <b>m</b>	ND ND	4.72 <b>m</b>	ND ND	4.72 <b>m</b>	ND ND	4.56 <b>d</b>	14.0 -	3.51 <b>s</b>
8 <b>904B</b>	3.87 <b>da</b>	12.5 -	3.74 <b>ba</b>	- -	4.67 <b>pt</b>	4.3 3.6	4.43 <b>d</b>	13.7 -	4.09 <b>d</b>	13.7 -	3.37 <b>s</b>
9 <b>206A</b>	3.90 <b>ba</b>	- -	3.75 <b>ba</b>	- -	4.74 <b>dd</b>	ND ND	4.86 <b>d</b>	13.6 -	4.42 <b>d</b>	13.8 -	3.39 <b>s</b>
10 <b>858B</b>	3.92 <b>da</b>	13.6 -	3.57 <b>ba</b>	- -	4.60 <b>dd</b>	6.1 2.1	4.71 <b>d</b>	13.5 -	4.29 <b>d</b>	13.5 -	3.39 <b>s</b>
11 <b>430A</b>	4.17 <b>ba</b>	- -	3.68 <b>da</b>	13.4 -	4.67 <b>dd</b>	ND ND	4.25 <b>d</b>	13.6 -	3.99 <b>d</b>	13.8 -	3.29 <b>s</b>
12 <b>872B</b>	3.89 <b>da</b>	14.6 -	3.63 <b>ba</b>	- -	4.67 <b>dd</b>	5.8 2.4	4.49 <b>d</b>	13.7 -	4.15 <b>d</b>	13.7 -	3.39 <b>s</b>
13 <b>804B</b>	3.45 <b>dd</b>	14.9 8.0	3.19 <b>dd</b>	14.9 3.4	4.72 <b>dd</b>	8.0 3.4	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	3.40 <b>s</b>

<sup>m</sup> Confórmeros minoritarios en las carboxamidas. ND: Dato no determinado.



**Tabla 4.31.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , t.a), para el compuesto *O,O*-acetálico con estructura 2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepínica, **MDG-292A**. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios.



$^1\text{H-RMN}$ ( $\text{CDCl}_3$ )		H-3 $\alpha$		H-3 $\beta$		H-2 $\beta$		H-5 $\alpha$ , H-5 $\beta$		H-1''		
		$\delta$	$J_{3\alpha-3\beta}$ $J_{3\alpha-2\beta}$	$\delta$	$J_{3\beta-3\alpha}$ $J_{3\beta-2\beta}$	$\delta$	$J_{2\beta-3\alpha}$ $J_{2\beta-3\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$
1	292A	4.04	15.1	3.52	ND	4.79	7.1	4.91	14.4	4.35	14.5	3.61
		da	-	m	ND	d	2.2	d	-	d	-	s
2	<sup>m</sup> 292A	4.40	13.9	3.52	ND	4.73	7.8	4.73	ND	4.57	15.5	3.59
		da	-	m	ND	dd	2.3	d	-	d	-	s

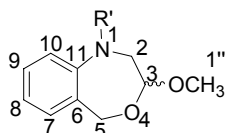
<sup>m</sup>Confórmero minoritario. ND: Dato no determinado.

Las 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con un resto arilacilo sobre la posición *N1*, presentan, a t.a., señales de resonancia en forma de banda ancha y, debido a esto, no se han incluido en la tabla los compuestos **MDG-616A**, **MDG-946C**, **MDG-964B** y **MDG-791D**. Cuando sus espectros se registran a alta temperatura, la resolución de las señales mejora (véase espectro  $^1\text{H-RMN}$  de **MDG-791D** a 100 °C, Figura A.5 en Anexo a la Parte Teórica). Las benzoxazepinas sustituidas sobre *N1* con restos arilsulfonilo (filas 8-12, Tabla 4.30) muestran también señales en forma de banda ancha para los hidrógenos H-2 e, igualmente, el compuesto **MDG-908B** (filas 2 y 3, Tabla 4.30), con un grupo formilo sobre la posición *N1*.

El efecto atrayente de electrones del sustituyente unido a *N1* se manifiesta en el desapantallamiento de las señales H-2, que se desplazan hacia campos más bajos al aumentar la importancia del mismo, como ocurre con los restos nitrobenzénsulfonilo o trifluoroacetilo (véanse filas 6,7,9 y 11 de la Tabla 4.30 y la Tabla 4.31). Las constantes geminales  $J_{2\alpha-2\beta}$  alcanzan sus mayores valores en los compuestos donde *N1* es una amina (filas 1 y 13, Tabla 4.30). Excepto para el confórmero minoritario de **MDG-540A**, en todos los compuestos en los que se han asignado H-2 $\alpha$  y H2 $\beta$ , el primero resuena a campos más bajos que el segundo.

El desplazamiento químico del hidrógeno acetálico ha mostrado valores muy constantes en todos los compuestos, al igual que lo han hecho los protones bencílicos H-5.

**Tabla 4.32.** Datos obtenidos mediante  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , t.a), para los compuestos O,O-acetálicos con estructura 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínica. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm).

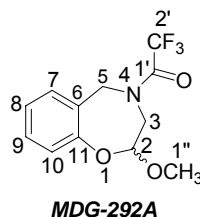


$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )		$\delta$ (ppm)			
		C-2	C-3	C-5	C-1''
1	<b>484D</b>	50.38	102.28	63.99	55.28
2	<b>804B</b>	64.70- 55.37	101.64	64.70- 55.37	55.25
3	<b>908B</b>	47.32	99.78	63.19	55.75
4	<sup>m</sup> <b>908B</b>	ND	ND	ND	52.91
5	<b>530B</b>	50.71	102.67	66.05	56.28
6	<sup>m</sup> <b>530B</b>	48.94	99.03	61.58	55.09
7	<b>540A</b>	51.27	98.56	61.30	55.24
8	<sup>m</sup> <b>540A</b>	52.90	102.24	66.32	56.44
9	<b>616A</b>	50.47	101.54	64.60	55.74
10	<sup>m</sup> <b>616A</b>	ND	ND	ND	ND
11	<b>946C</b>	ND	101.89	ND	54.10
12	<sup>m</sup> <b>946C</b>	ND	ND	ND	55.81
13	<b>904B</b>	54.37	101.68 (ba)	65.11 (ba)	56.18
14	<b>206A</b>	54.36	101.00 (ba)	64.00 (ba)	55.58
15	<b>858B</b>	65.23 o 53.37	101.41	65.23 ó 53.37	55.66
16	<b>430A</b>	53.73	99.36 (ba)	62.75 (ba)	54.79
17	<b>872B</b>	53.34	101.16	64.68	54.43

<sup>m</sup>Confórmersos minoritarios en las carboxamidas. ND: Dato no determinado.

En algunos casos, los rotámeros minoritarios de las carboxamidas están en proporciones tan bajas que no se pudieron registrar sus señales de  $^{13}\text{C}$  (ej. rotámeros  $^m\text{MDG-908B}$ ,  $^m\text{MDG-616A}$ , y  $^m\text{MDG-946C}$ , filas 4, 10 y 12 de Tabla 4.32).

**Tabla 4.33.** Datos obtenidos mediante  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , t.a), para el compuesto O,O-acetálico con estructura 2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepínica, **MDG-292A**. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm).



$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )		$\delta$ (ppm)			
		$\text{CH}_2\text{-3}$	$\text{CH-2}$	$\text{CH}_2\text{-5}$	$\text{CH}_3\text{-1''}$
1	<b>292A</b>	51.51 o 49.85	102.93	51.51 o 49.85	56.53
2	$^m\text{292A}$	51.19 o 50.42	102.39	51.19 o 50.42	56.63

Las principales diferencias en los espectros  $^{13}\text{C}$ -RMN de las trifluoroacetamidas **MDG-292A** (Tabla 4.33) y **MDG-540A** (Tabla 4.32, filas 7 y 8), se observan en los desplazamientos químicos de los carbonos acetálicos (C-2 o C-3, respectivamente) y bencílicos (C-5).

En cuanto a las 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas, los espectros  $^{13}\text{C}$ -RMN de algunas de las que presentan restos arilacilo sobre  $N1$ , muestran señales en forma de banda ancha a t.a. y, por ello, **MDG-964B** y **MDG-791D** no están incluidos en la tabla. El registro de los espectros  $^{13}\text{C}$ -RMN a alta temperatura, permitió la resolución de las señales (véase espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN de **MDG-791D** a 100 °C, Figura A.6 en Anexo a la Parte Teórica). Las benzoxazepinas con sustituyentes  $N1$ -metilbencénsulfonilo y  $N1$ -nitrobencénsulfonilo (filas 13, 14 y 16 de Tabla 4.32) presentan señales en forma de banda ancha para los carbonos C-3 y C-5; sin embargo, esto no ocurre en las benzoxazepinas con el grupo aminobencénsulfonilo unido a  $N1$ .

Los valores de mayor desapantallamiento en el carbono C-2 corresponden a las sulfonamidas (filas 13-17 de Tabla 4.32), como consecuencia de la mayor capacidad atrayente de electrones del grupo amino- o nitrobencénsulfonilo, frente a los restos acilo. Los carbonos C-3 y C-5 presentan desplazamientos químicos muy similares en todos los compuestos.

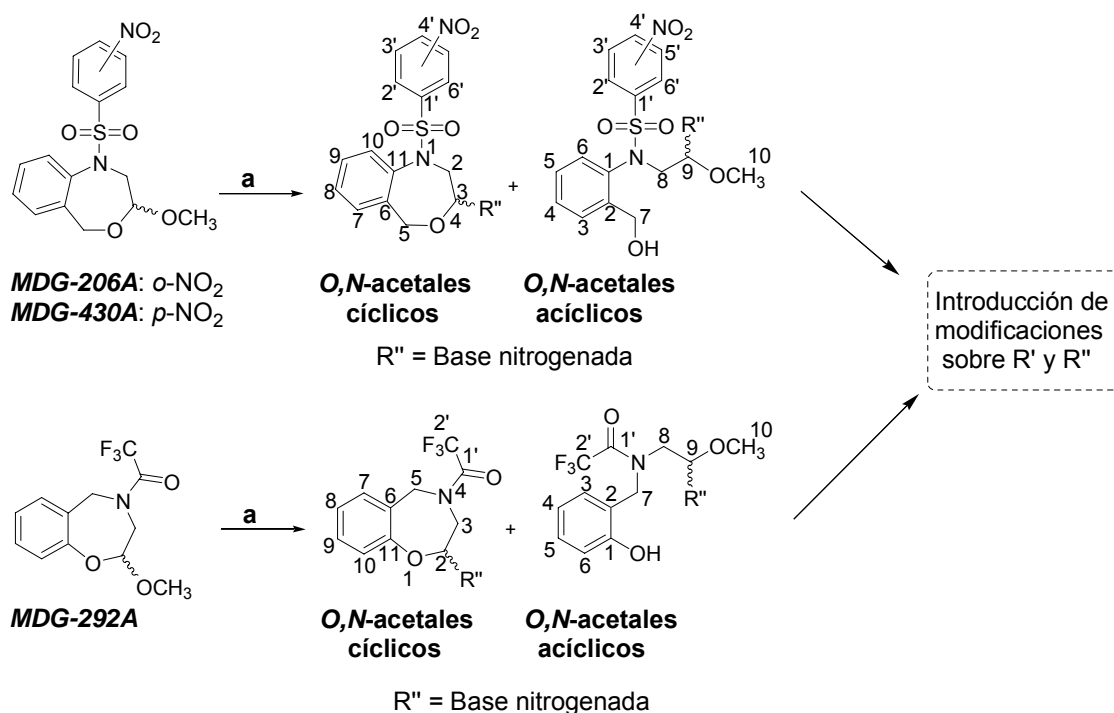
Al comparar los compuestos **MDG-540A** y **MDG-530B** (filas 5-8 de Tabla 4.32) entre sí, se puede observar como, en general, los desplazamientos químicos de los átomos de carbono del conformero mayoritario **MDG-540A** se corresponden con los valores del conformero minoritario de **MDG-530B**, y viceversa.

### **4.3. Síntesis de compuestos *O,N*-acetálicos a partir de *O,O*-acetales de tetrahidrobenzoxazepinas con grupos electrón atrayentes sobre *N1* o *N4* (Librerías 2 y 3).**

#### **4.3.1. Consideraciones generales: Mecanismo de reacción y elección de los sustratos.**

Los compuestos *O,O*-acetálicos con los grupos *o*-Ns (**MDG-206A**), *p*-Ns (**MDG-430A**), Fmoc (**MDG-791D**) y trifluoroacetilo (**MDG-292A**) como sustituyentes R' (véase la Tabla 4.3), han sido los sustratos de partida para la preparación de las librerías de compuestos *O,N*-acetálicos derivados de pirimidinas y purinas (Tablas 4.4-4.7).

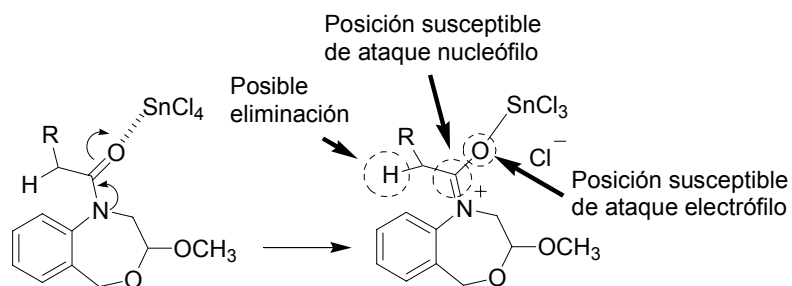
La síntesis de los compuestos *O,N*-acetálicos se ha llevado a cabo mediante la reacción de Vorbrüggen (etapa **a**, Esquema 4.34), en la que los *O,O*-acetales precursores se han condensado con bases nitrogenadas silanizadas, a través de un ataque nucleófilo de éstas últimas mediado por ácidos de Lewis. De esta reacción han resultado los *O,N*-acetales cíclicos (Grupos 2.1 y 3.1, Tablas 4.4 y 4.6) y abiertos (Grupos 2.2 y 3.2, Tablas 4.5 y 4.7) que se han sometido a modificación estructural. Los *O,O*-acetales escogidos como sustratos, han resultado los más idóneos estructuralmente y para ellos se han optimizado las condiciones de la reacción.



a) Base nitrogenada, HMDS, TCS, ácido de Lewis, CH<sub>3</sub>CN.

**Esquema 4.34.** Etapas en la preparación de los O,N-acetales finales.

Como requisitos de los sustratos O,O-acetálicos, se ha considerado la inexistencia en los mismos de grupos básicos (dada la mediación de un ácido de Lewis en el desarrollo de la reacción) y la facilidad para la posterior modificación estructural de los productos. Así, se descartaron las aminas y se eligieron O,O-acetales con grupos atrayentes de electrones sobre N1 o N4. De entre estos, igualmente se descartaron las amidas carboxílicas, ya que los grupos carbonilo son silanizables y constituyen centros de coordinación con el ácido de Lewis, consumiendo parte de los reactivos y dando lugar a la formación de productos secundarios, como se indica en la Figura 4.35. Los resultados obtenidos a partir de las amidas **MDG-530B** (con hidrógenos en α respecto al grupo carbonilo), **MDG-540A** (con un grupo carbonilo áltamente electrófilo) y **MDG-616A**, fueron insatisfactorios (véase apartado 4.3.4 para una descripción más amplia de los productos obtenidos).



**Figura 4.35.** Coordinación del ácido de Lewis al grupo carbonilo y reactividad del complejo.

Así, se han elegido las sulfonamidas **MDG-206A** y **MDG-430A** para la preparación de los productos finales derivados de 4,1-benzoxazepinas y la única 1,4-benzoxazepina disponible, **MDG-292A**, como sustrato para la condensación con las bases nitrogenadas. El carbamato **MDG-791D** también se ha utilizado y ha conducido a la obtención de resultados satisfactorios.

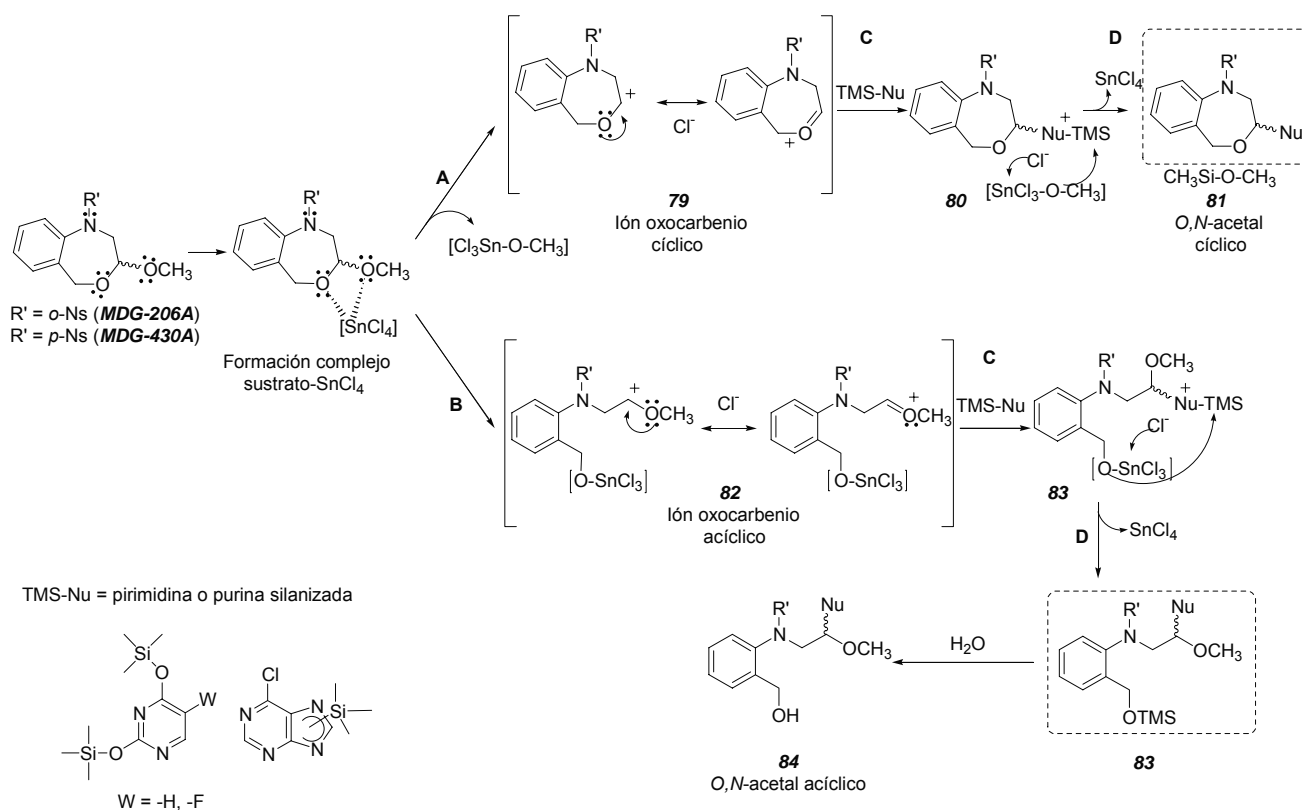
Aún así, los compuestos **MDG-206A** y **MDG-430A** incluyen en sus estructuras algunas agrupaciones con elevada densidad electrónica sobre determinados átomos, como son el grupo nitro o el sulfonilo. Los efectos que estos han tenido sobre el desarrollo de la reacción se comentarán más adelante (apartado 4.3.3.1).

Las bases nitrogenadas utilizadas, la 6-cloropurina y las pirimidinas 5-fluorouracilo (5-FU) y uracilo, permiten la evaluación de la capacidad de los compuestos finales para actuar como fármacos *per se*, mediante comparación de las actividades biológicas que inculca cada una de ellas. La 6-cloropurina, además, constituye una herramienta útil para la introducción de variabilidad estructural por sustitución del átomo de halógeno.

Como reactivos de silanización se han utilizado HMDS y TCS, ambos en cantidades estequiométricas y, como ácido de Lewis, el tetracloruro de estaño  $\text{SnCl}_4$ , con el que se han logrado los mejores resultados.

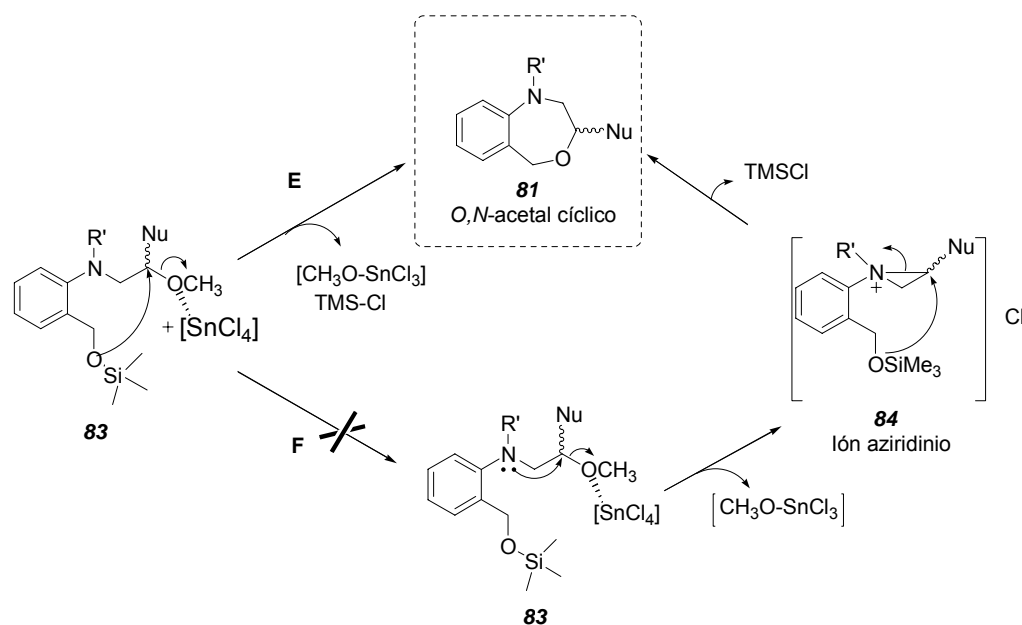
De la reacción de condensación con bases nitrogenadas, se han obtenido *O,N*-acetales cíclicos y abiertos, correspondientes a las uniones a través de *N1''* y *N3''* de las pirimidinas o *N7''* y *N9''* en las purinas.

El mecanismo por el que tiene lugar la formación de *O,N*-acetales a partir de *O,O*-acetales, mediada por ácidos de Lewis, ha sido ampliamente descrito en bibliografía<sup>24,25,26,28</sup>. Los ácidos de Lewis, mediante coordinación con los átomos de oxígeno, son activadores de la posición acetálica para el ataque por nucleófilos. La silanización de las bases nitrogenadas aumenta su capacidad nucleófila y mejora su solubilidad, de modo que son capaces de atacar la posición acetálica activada. Como se describió en el Apartado 2.5.2.1 (Antecedentes), nuestro grupo ha propuesto un mecanismo  $S_N1$  para la formación de *O,N*-acetales a partir (*RS*)-3-metoxi-2,3-dihidro-5*H*-1,4-benzodioxepinos y pirimidinas<sup>24</sup>, que es aplicable a las (*RS*)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas y a las (*RS*)-2-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepinas, como se muestra en la Figura 4.36 (aquí, el ácido de Lewis se representa como  $SnCl_4$  ya que es éste el que ha proporcionado los mejores resultados). El proceso cursa via la formación de iones oxocarbenio cíclicos y acíclicos del sustrato, que darán lugar a los *O,N*-acetales con las mismas características estructurales.



**Figura 4.36.** **A.** Disociación del oxígeno acetálico exocíclico. **B.** Disociación del oxígeno acetálico endocíclico. **C.** Ataque nucleófilo de la base nitrogenada sobre los iones oxocarbenio para dar *O,N*-acetales. **D.** Silanización del oxígeno benzílico aumentando su capacidad nucleófila.

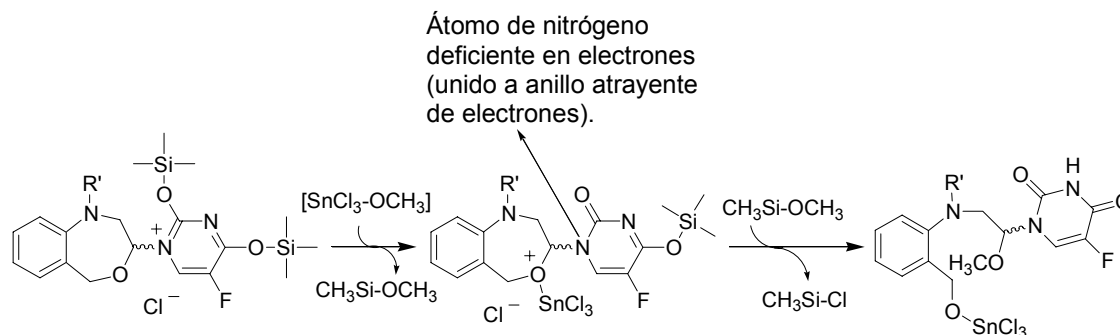
Además, los *O,N*-acetales cíclicos pueden obtenerse a partir de *O,N*-acetales abiertos mediante ataque nucleófilo intramolecular del oxígeno bencílico. Promoviendo este proceso, se describió una participación de grupo vecino protagonizada por el átomo de oxígeno O1 de los correspondientes anillos 1,4-benzodioxepinos iniciales (Figura 2.25, ruta **C**, en Antecedentes). En el caso de las *N1-Ns*-benzoxazepinas, el proceso de ciclación por ataque intramolecular debe ocurrir sin la mediación de *N1*, dada la naturaleza atrayente de electrones del grupo *Ns* (Esquema 4.37, rutas **F** y **E**).



**Esquema 4.37.** E. Ataque intramolecular del oxígeno bencílico silanizado sobre la posición acetálica sin participación de grupo vecino. F. Ataque intramolecular del oxígeno bencílico silanizado sobre la posición acetálica con participación de grupo vecino (no ocurre cuando  $R' = Ns$ ).

Por otro lado, se ha descrito el proceso contrario, consistente en la apertura de *O,N*-acetales cíclicos catalizada por ácidos de Lewis (TMSOTf,  $SnCl_4$ ,  $BF_3 \cdot OEt_2 \dots$ ) en disolventes como  $CH_2Cl_2$  y  $CH_3CN$ , incluso a baja temperatura<sup>24a,b,27,28</sup>. El proceso, que tiene lugar sobre compuestos con un átomo de nitrógeno acetálico exocíclico unido a un grupo atrayente de electrones, significaría en nuestro caso, la apertura de los productos finales como se muestra en el Esquema 4.38 (el proceso se ha representado con un compuesto *O,N*-acetálico derivado de 5-FU pero es extensible a las demás bases nitrogenadas).





**Esquema 4.38.** Proceso de apertura de *O,N*-acetales por ataque nucleófilo mediado por ácidos de Lewis, en posiciones acetálicas especialmente electrófilas.

#### 4.3.2. Regioselectividad de la reacción de formación de *O,N*-acetales.

Existen muchos factores que afectan a la regioselectividad de la reacción de formación de *O,N*-acetales a partir de *O,O*-acetales mediada por ácidos de Lewis. Los más destacables son los que se deben a las características estéricas de los reactivos implicados, la nucleofilia de cada una de las posiciones de la base nitrogenada, la fortaleza del ácido de Lewis y la naturaleza del disolvente de la reacción.

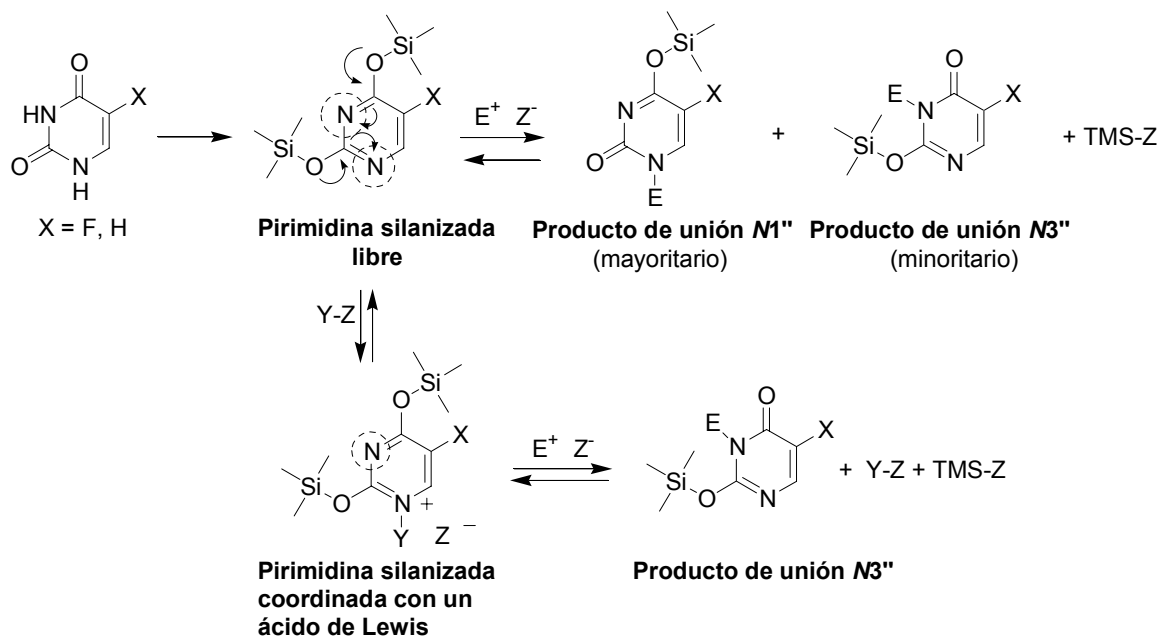
La posición de la base nitrogenada a través de la cual se establece la unión al carbono acetálico depende de factores estéricos y electrónicos. La base silanizada atacará a los iones carbenio a través de su posición más nucleófila, excepto cuando ésta se halle especialmente impedida desde el punto de vista estérico. Por otro lado, esta posición más rica en electrones podrá actuar como punto de coordinación de un ácido de Lewis lo suficientemente fuerte o en concentración elevada, formándose un complejo  $\sigma$  reversible en el que la posición unida al ácido quedará bloqueada y en el que el ataque de los electrófilos se dirigirá hacia otras posiciones de la base nitrogenada<sup>28</sup>. Si estas posiciones alternativas no son lo suficientemente nucleófilas, no tendrá lugar la reacción a través de ellas u ocurrirá en poca medida, limitándose entonces la velocidad de la formación de los *O,N*-acetales finales a la velocidad de la liberación de la base nitrogenada del complejo.

Así, el efecto del ácido de Lewis sobre la regioselectividad del proceso depende de su fortaleza como ácido, su concentración y la densidad electrónica de la base nitrogenada. Para el caso del  $\text{SnCl}_4$ , se ha descrito la formación de complejos  $\sigma$  con

bases nitrogenadas silanizadas aún cuando ambos reactivos se hallan en cantidades equimoleculares. Para la coordinación de ácidos más débiles, es necesario un exceso de los mismos (ej. aproximadamente cinco equivalentes de TMSOTf)<sup>28</sup>.

La formación de estos complejos base nitrogenada-ácido de Lewis depende además de la polaridad del disolvente utilizado. Los disolventes que contienen grupos nucleófilos, son capaces de coordinarse con el ácido de Lewis, compitiendo con la base e influyendo así en la regioselectividad de la reacción<sup>28</sup>. Tal es el caso del acetonitrilo, disolvente que se ha utilizado en esta Memoria.

En las pirimidinas silanizadas, los grupos trimetilsililo situados a ambos lados de la posición *N3''*, producen un notable aumento en la nucleofilia de la misma pero también suponen un impedimento estérico para el ataque por electrófilos, que irá dirigido principalmente a la posición *N1''*. Igualmente, será esta la posición con la que se coordine el ácido de Lewis (véase Esquema 4.39).

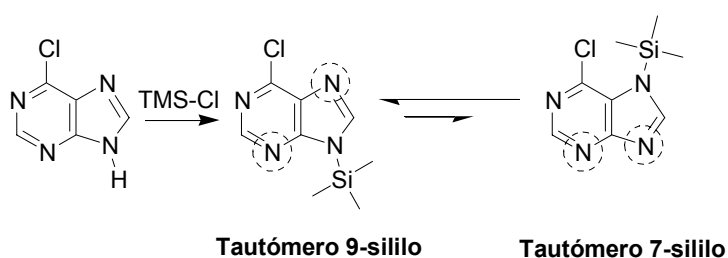


Y-Z:  $SnCl_3-Cl$ ,  $Sc(OTf)_2-OTf$ .... (Ácido de Lewis);  $E^+$ : Electrónimo (ión oxocarbenio)

**Esquema 4.39.** Proceso de ataque electrónimo sobre pirimidinas silanizadas libres o coordinadas con ácidos de Lewis. Mediante círculos punteados se indican las posiciones nucleófilas en cada estructura.

En disolventes no nucleófilos y en presencia de un ácido de Lewis fuerte como el  $\text{SnCl}_4$  o en concentración elevada, una pirimidina lo suficientemente básica formará un complejo ácido- $N1''$  y, por tanto, se obtendrá un producto final con unión  $N3''$ . Si no existe formación de complejos, el  $O,N$ -acetal final obtenido será el de unión  $N1''$ .

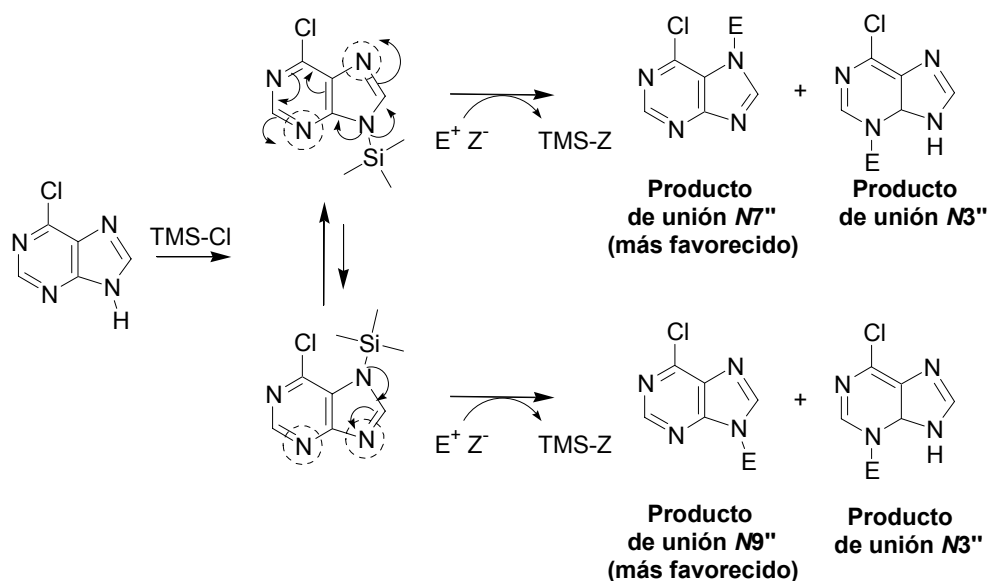
En el caso de las purinas, la silanización tiene lugar sobre el anillo de imidazol, más rico en electrones, estableciéndose un equilibrio entre los tautómeros silanizados sobre las posiciones  $N7''$  o  $N9''$ , que se encontrará desplazado hacia el tautómero  $N9''$  (véase Esquema 4.40)\*.



**Esquema 4.40.** Equilibrio tautomérico en la 6-cloropurina silanizada. Mediante círculos punteados se indican, en cada estructura, los nitrógenos nucleófilos.

Cada uno de los tautómeros presentará determinados nitrógenos nucleófilos como consecuencia del efecto +R del nitrógeno silanizado, a través de los cuales, se podrá llevar a cabo el ataque sobre los electrófilos o la coordinación del ácido de Lewis. Cuando no existe dicha coordinación, el producto mayoritario será aquel con unión  $N7''$  ya que resulta del tautómero silanizado más estable, como se indica en el Esquema 4.41.

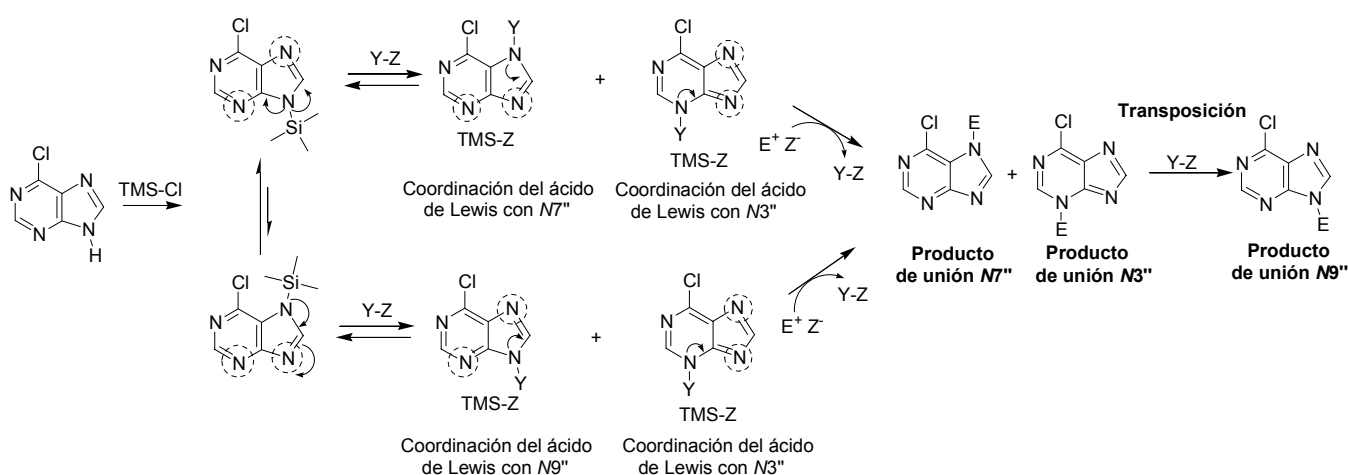
\* Existen estudios sobre la estabilidad de cada uno de los tautómeros de la 6-cloropurina en  $\text{DMSO}-d_6$ , a t.a. (303 K) y a baja temperatura (213 K), en los que se ha encontrado un predominio del tautómero  $9H$ , más estable<sup>47</sup>.



$E^+ Z^-$ : Electrífido (ión oxocarbenio) y contraión procedente del ácido de Lewis utilizado.

**Esquema 4.41.** Alquilación de purinas silanizadas no coordinadas con ácidos de Lewis. Mediante círculos punteados se indican los nitrógenos nucleófilos en cada estructura.

En caso de existir formación de complejos entre las bases nitrogenadas y el ácido de Lewis, la situación se hace más compleja, ya que pueden tener lugar transposiciones en los productos de control cinético, aquellos con unión a través de  $N7''$  o  $N3''$ , para dar lugar a la formación de productos con unión  $N9''$ , resultantes del control termodinámico (como se indica en el Esquema 4.42)<sup>28,29,30</sup>.



Y-Z: Ácido de Lewis [ $SnCl_3-Cl$ ,  $Sc(OTf)_2-OTf$ ];  $E^+$ : Electrífido (ión oxocarbenio);  $\odot$  Posiciones nucleófilas.

**Esquema 4.42.** Coordinación del ácido de Lewis a los distintos tautómeros de la 6-cloropurina silanizada y transposición en los productos de control cinético.

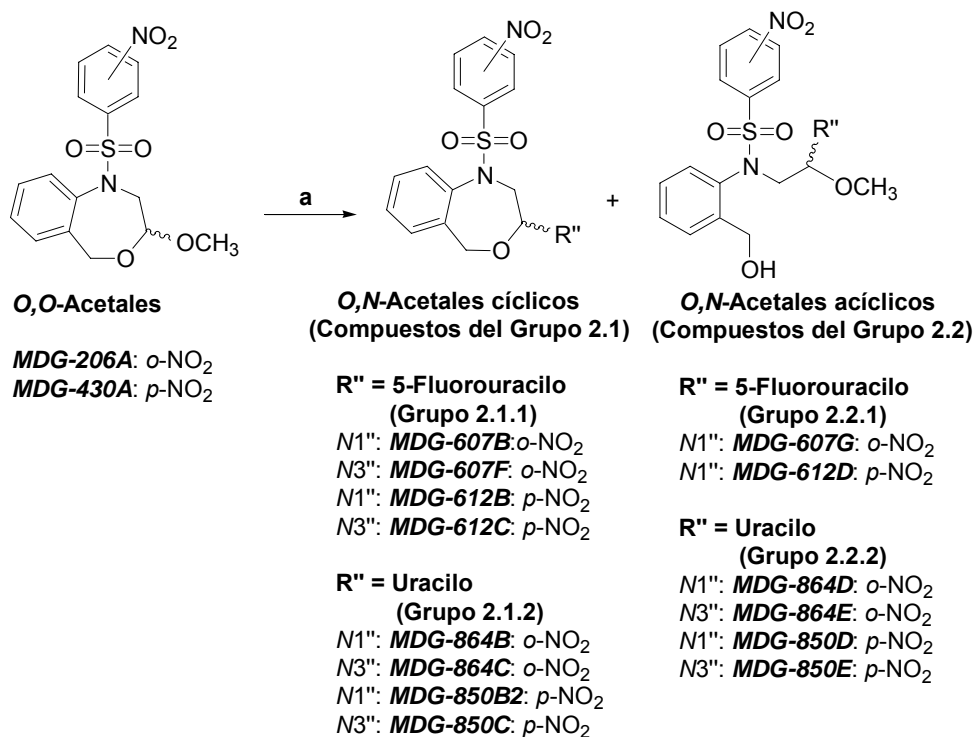
En resumen, la formación de complejos base nitrogenada-ácido de Lewis, disminuye la formación de compuesto con unión *N1''* en el caso de las pirimidinas y aumenta la formación de compuesto *N9''* en las purinas.

Los antecedentes bibliográficos sobre alquilación de purinas a través de diversos procedimientos sintéticos (alquilación convencional en medio básico<sup>31</sup>, alquilación con electrófilos activados en las condiciones de Mitsunobu<sup>46,32</sup>, alquilación mediante modificaciones de la reacción de Vorbrüggen), principalmente recogen la preparación de productos alquilados sobre *N9''* aunque también se han descrito alquilaciones regioselectivas de la posición *N7''*<sup>29,33</sup>. En cualquier caso, el elevado número de factores influyentes sobre la regioselectividad, hace difícil la predicción del lugar donde tendrá lugar la alquilación en cada caso<sup>28,29,33,34,35</sup> y ante esta dificultad, muchos autores han optado por la construcción de los anillos de la purina a partir de fragmentos portadores de los sustituyentes en las posiciones adecuadas<sup>36</sup>.

#### **4.3.3. Reacción de (RS)-3-metoxi-N-nitrobencénsulfonil-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con pirimidinas, mediada por ácidos de Lewis.**

La condensación de los compuestos sulfonílicos **MDG-206A** y **MDG-430A** con las pirimidinas 5-FU y uracilo ha proporcionado los *O,N*-acetales cíclicos y acíclicos pertenecientes a la Librería 2, que se indican en el Esquema 4.43 y que son resultantes de la unión de la base nitrogenada a través de su posición *N1''* o *N3''*. No se han aislado *O,N*-acetales abiertos derivados de 5-FU con unión *N3''*.

La reacción entre 1-Ns-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas y pirimidinas se estudió en primer lugar utilizando **MDG-430A** y 5-FU como sustrato y nucleófilo, con el objetivo de determinar las mejores condiciones de reacción. Se ha estudiado el efecto que producen variaciones del disolvente, de las proporciones de los reactivos, de la temperatura de adición de los reactivos, etc. También se han analizado los resultados de la reacción al ser mediada ésta por dos ácidos de Lewis de distinta fortaleza, tetracloruro de estaño ( $\text{SnCl}_4$ ) o escandio triflato [ $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ ], ambos utilizados en cantidades estequiométricas. Los resultados se muestran en la Tabla 4.44.



a) Uracilo o 5-fluorouracilo, HMDS, TCS, ácido de Lewis.

**Esquema 4.43.** Productos obtenidos en la reacción de formación de *O,N*-acetales a partir de los *O,O*-acetales **MDG-206A** y **MDG-430A** y de las pirimidinas 5-FU y uracilo.

La variación de las condiciones ha ido orientada al incremento de la obtención de productos cíclicos, con mayor actividad biológica, en detrimento de los abiertos. Las condiciones que han aportado los mejores resultados se han aplicado posteriormente al resto de bases nitrogenadas y a otras benzoxazepinas.

Todas las reacciones se llevaron a cabo aplicando el mismo procedimiento general. Los reactivos TCS, HMDS y el ácido de Lewis se añadieron lentamente y en este orden, bajo argón, sobre una suspensión de **MDG-430A** (1.0 equiv.) y 5-FU en el disolvente correspondiente (5 mL/mmol de **MDG-430A**). Una vez que se hubo alcanzado la temperatura de reacción correspondiente, la agitación se mantuvo durante los tiempos indicados (Tabla 4.44). El control de las reacciones mediante CCF mostró la permanencia de compuesto de partida, **MDG-430A**, en todos los casos. El tratamiento se llevó a cabo mediante enfriamiento de las mezclas, dilución con agua, neutralización de las disoluciones y extracción de los productos contenidos en las fases acuosas.

**Tabla 4.44.** Condiciones estudiadas para la optimización de la reacción entre **MDG-430A** y 5-FU (todos los disolventes se utilizaron anhidros y las reacciones se desarrollaron bajo argón).

Condiciones de reacción y productos obtenidos	Ácido de Lewis				
	SnCl <sub>4</sub> (1M en CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ). (4.0 equiv.)*			Sc(OTf) <sub>3</sub> (1.04 equiv.)**	
<b>5-FU</b>	2.1 equiv.	<b>2.5 equiv.</b>		1.5 equiv.	
<b>TCS</b>	3.6 equiv.	<b>4.0 equiv.</b>		2.0 equiv.	
<b>HMDS</b>	3.6 equiv.	<b>4.0 equiv.</b>		2.0 equiv.	
<b>Disolvente (anhidro)</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	<b>CH<sub>3</sub>CN</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> CN
<b>Temperatura adición reactivos</b>	t.a.	0 °C	<b>0 °C</b>	0 °C	0 °C
<b>Temperatura de reacción</b>	t.a.	40 °C	<b>50 °C</b>	40 °C	50 °C
<b>Tiempo de reacción</b>	72 h	47 h	91 h	24 h	24 h
<b>Rdto. ciclo N1'' (MDG-612B)</b>	No aislado	5%	15%	No se observó reacción	
<b>Rdto. ciclo N3'' (MDG-612C)</b>	No aislado	4%	5%		
<b>Rdto. Abierto N1'' (MDG-612D)</b>	13%	18%	24%		
<b>Rdto. Abierto N3''</b>	No aislado	No aislado	No aislado		
<b>Total ciclos/total abiertos</b>	0	0.5	0.8		

\*Cuando la reacción se desarrolló utilizando 2.5 equiv. de SnCl<sub>4</sub>, 3.6 equiv. de HMDS y TCS y 2.1 equiv. de 5-FU, en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, a t.a., no se observó formación de productos. \*\*La utilización de cantidades de Sc(OTf)<sub>3</sub> superiores a las estequiométricas, no es práctica para nuestra síntesis dado el elevado coste de este ácido.

Los factores más influyentes en la reacción entre **MDG-430A** y 5-FU han resultado ser el ácido de Lewis, la temperatura de reacción y el disolvente, siendo SnCl<sub>4</sub>, 50 °C y CH<sub>3</sub>CN los que han conducido a los mejores resultados.

El ácido de Lewis Sc(OTf)<sub>3</sub>, más débil que el SnCl<sub>4</sub>, se ha utilizado con el objetivo de obtener una mayor selectividad en la formación de producto con unión N1'' (véase apartado 4.3.2). Sin embargo, 1.04 equiv. de Sc(OTf)<sub>3</sub> en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> o CH<sub>3</sub>CN, no han sido suficientes para dar lugar a formación de O,N-acetales, previsiblemente debido al

consumo del ácido en uniones con grupos ricos en electrones presentes en las moléculas de los sustratos o con el propio acetonitrilo.

Cuando la combinación  $\text{SnCl}_4/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se utilizó a t.a., el único producto obtenido fue el compuesto acíclico  $N1''$  (**MDG-612D**) con un 13% de rendimiento. Al elevar la temperatura de reacción hasta los 40 °C, el rendimiento de este producto se incrementó hasta el 18% y además se observó la formación de los compuestos cíclicos con unión  $N1''$  (**MDG-612B**) y  $N3''$  (**MDG-612C**), aunque ambos con bajo rendimiento (5% y 4%, respectivamente) (Tabla 4.45). Cuando el disolvente se cambió a  $\text{CH}_3\text{CN}$ , se observó un incremento general en los rendimientos de todos los productos, especialmente de **MDG-612B**.

**Tabla 4.45.** Comparación de los productos obtenidos en la reacción entre **MDG-430A** y 5-FU a alta temperatura en distintos disolventes de reacción.

Producto	Disolvente/Temperatura	
	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/40\text{ °C}$	$\text{CH}_3\text{CN}/50\text{ °C}$
<b>MDG-612B</b>	5 %	15 %
<b>MDG-612C</b>	4 %	5 %
<b>MDG-612D</b>	18 %	24 %

Los bajos rendimientos obtenidos en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  podrían deberse a la coordinación del ácido de Lewis a  $N1''$  quedando únicamente la posición  $N3''$  del 5-FU, muy deficiente en electrones, disponible para el ataque como nucleófilo. Sin embargo, en el disolvente polar  $\text{CH}_3\text{CN}$ , la posición  $N1''$  quedaría libre para la reacción con los iones oxocarbenio del sustrato, aumentando los rendimientos en general y la proporción de compuesto con unión  $N1''$  respecto a  $N3''$ . Por otro lado, dada su polaridad, el acetonitrilo estabilizará los iones oxocarbenio y mejorará la solubilidad y la nucleofilia de la pirimidina.

El aporte de calor a la reacción mejora el rendimiento en general y, en particular, el de formación de compuestos cíclicos. Esta influencia de la temperatura podría esperarse para cualquier proceso de sustitución nucleófila y en el caso de benzoxazepinas sustituidas sobre  $N1$  con un grupo voluminoso, como es el caso de

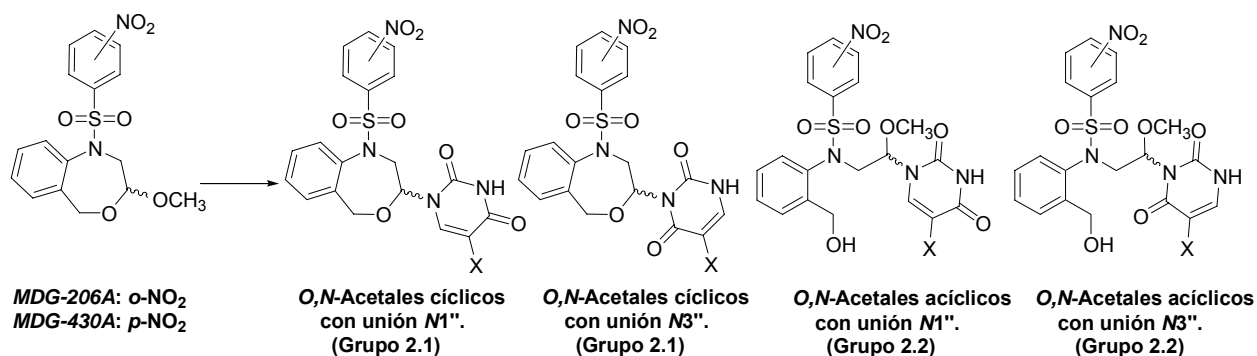


**MDG-430A** y **MDG-206A**, podría provocar una disminución del impedimento estérico próximo a la función acetálica, favoreciéndose la coordinación del ácido de Lewis al oxígeno acetálico exocíclico y la formación de ión oxocarbenio cíclico (véase Figura 4.36, ruta **A**).

Del mismo modo, la temperatura podría favorecer el ataque nucleófilo del oxígeno bencílico en el *O,N*-acetal acíclico **83** (Esquema 4.37, ruta **E**), posibilitando la ciclación del mismo.

Aquellas condiciones que condujeron a los mejores resultados (indicadas en las celdas sombreadas de la Tabla 4.44) se han utilizado en las reacciones posteriores. En la Tabla 4.46 se muestra un resumen de los resultados obtenidos.

**Tabla 4.46.** Resultados obtenidos en las condensaciones de **MDG-206A** y **MDG-430A** con uracilo y 5-FU.



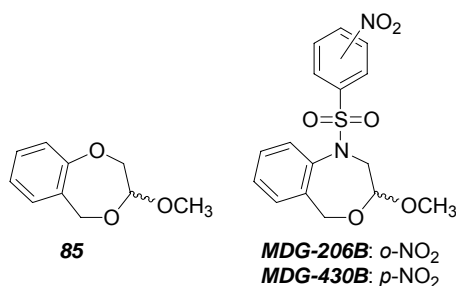
Sustrato	Pirimidina	Tiempo de reacción	Rendimientos	
			Total cíclicos	Total acíclicos
<b>MDG-206A</b>	5-FU (2.5 equiv.)	51 h	23% M1'' 19% N3'' 4%	33% M1'' 30% N3'' NF
	Uracilo (2.5 equiv.)	67 h	59% M1'' 26% N3'' 33%	13% M1'' 12% N3'' NF
<b>MDG-430A</b>	5-FU (2.5 equiv.)	91 h	20% M1'' 15% N3'' 5%	24% M1'' 24% N3'' NF
	Uracilo (2.5 equiv.)	69 h	60% M1'' 11% N3'' 49%	13% M1'' 11% N3'' 2%

Todas las reacciones se desarrollaron en presencia de SnCl<sub>4</sub> (4.0 equiv.), TCS (4.0 equiv.) y HMDS (4.0 equiv.), en CH<sub>3</sub>CN anhidro a 50 °C, siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. NF: Producto que no se forma.

#### 4.3.3.1. Influencia del O,O-acetal de partida y del nucleófilo.

A partir de los resultados obtenidos en las reacciones de formación de O,N-acetales de uracilo y 5-FU derivados de **MDG-206A** y **MDG-430A**, se ha hecho una comparación con el objetivo de determinar la influencia de la modificación del sustituyente sobre el nitrógeno N1 del núcleo benzoxazepínico (o-Ns frente a p-Ns) y del nucleófilo utilizado (5-FU frente a uracilo), sobre el curso de la reacción. A continuación se exponen algunos datos comparativos y las correspondientes propuestas teóricas para su explicación.

##### 4.3.3.1.a. Efecto del cambio O→N. Comparación con los compuestos 1,4-benzodioxepínicos.



Al comparar los resultados ahora observados, con aquellos que fueron obtenidos anteriormente en la reacción con el (*RS*)-3-metoxi-2,3-dihidro-5*H*-1,4-benzodioxepino (**85**) (SnCl<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>CN/t.a), se pueden apreciar diferencias, conduciendo éste último a mejores rendimientos en general y una mayor relación

producto cíclico/producto abierto<sup>24,37</sup>.

Dichas diferencias, dado que las condiciones de reacción en ambos casos son comparables, deben estar relacionadas con las características estructurales (estéricas y electrónicas) de los sustratos O,O-acetálicos, de forma que éstas faciliten la coordinación del ácido de Lewis a la posición acetálica, la formación del ión carbenio y el ataque nucleófilo de la base nitrogenada silanizada:

- La presencia en las benzoxazepinas, de sustituyentes voluminosos próximos a la función acetálica, como el grupo Ns, podría dificultar la aproximación a ellas del ácido de Lewis (principalmente al oxígeno acetálico exocíclico) y de la base nitrogenada, provocando un enlentecimiento de la reacción y una disminución de los rendimientos<sup>38</sup>.

- Los centros con alta densidad electrónica, como son los grupos nitro o sulfonilo, son capaces de coordinarse con el ácido de Lewis, consumiéndolo. Esto podría ser la causa de que se hayan necesitado grandes cantidades de ácido, pudiéndose éste coordinar con la pirimidina afectando la regioselectividad, la velocidad de la reacción y los correspondientes rendimientos.

El enlentecimiento de la reacción puede causar la descomposición de los reactivos al permanecer estos durante largos periodos de tiempo en el medio de reacción, contribuyéndose así a la necesidad de adición de cantidades elevadas de los mismos.

- El efecto atrayente de electrones del grupo Ns impide la participación de N1 en la ciclación de los *O,N*-acetales abiertos (como se indicó en el Esquema 4.37), pudiendo ser ésta una de las causas de los bajos rendimientos obtenidos en productos cíclicos.

#### 4.3.3.1.b. Efecto del sustituyente sobre N1 y del nucleófilo.

Se han observado los siguientes resultados:

1. Los rendimientos totales en la formación de *O,N*-acetales cíclicos y abiertos a partir de **MDG-206A**, han sido muy similares a los obtenidos a partir de **MDG-430A**, como se representa en la Figura 4.47.

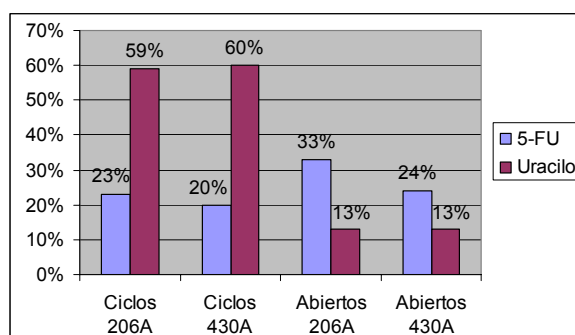


Figura 4.47.

2. La reactividad del uracilo ha resultado superior a la del 5-FU, dando lugar el primero a mayores rendimientos en la formación total de productos (72% y 73% para **MDG-206A** y **MDG-430A**, como se indicó en la Tabla 4.46), que el segundo (56% y 44%).

3. La relación “productos cíclicos/productos acíclicos” obtenidos en las reacciones con 5-FU y uracilo ha presentado valores muy similares para **MDG-206A** y **MDG-430A** (0.8 para ambos sustratos en la reacción con 5-FU; 4.5 y 4.6 respectivamente, en la reacción con uracilo).

En las dos benzoxazepinas, el rendimiento en la obtención de compuestos acíclicos ha sido superior al de cíclicos cuando se ha utilizado 5-FU, dándose la situación contraria cuando se ha utilizado uracilo (véanse Tabla 4.46 y Figura 4.47).

4. En la formación de compuestos cíclicos, 5-FU y uracilo difieren en la posición a través de la cual establecen la unión a los núcleos benzoxazepínicos de forma preferente. El 5-FU, principalmente se une a través de su nitrógeno  $N1''$ , mientras que el uracilo lo hace a través de su nitrógeno  $N3''$ .

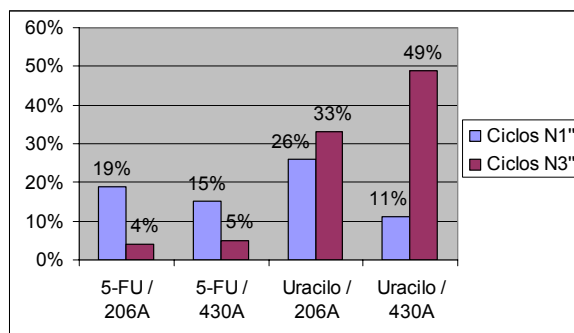


Figura 4.48.

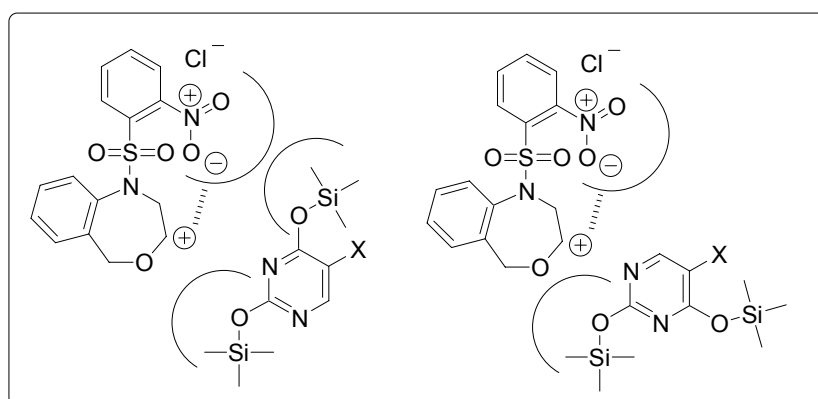
La relación de *O,N*-acetales cíclicos derivados de 5-FU “unión  $N1''$ /unión  $N3''$ ” ha presentado valores muy

similares en **MDG-206A** y **MDG-430A** (4.8 y 3.0 respectivamente). Sin embargo, los derivados cíclicos de uracilo han presentado distintas relaciones  $N1''/N3''$  en **MDG-206A** y **MDG-430A** (0.8 y 0.2 respectivamente) (véanse Tabla 4.46 y Figura 4.48), siendo esta la única diferencia observada en el comportamiento de ambas benzoxazepinas. Los *O,N*-acetales acíclicos de 5-FU y uracilo a través del  $N3''$  apenas se forman.

#### 4.3.3.1.b.i. Efecto del sustituyente sobre $M1$ .

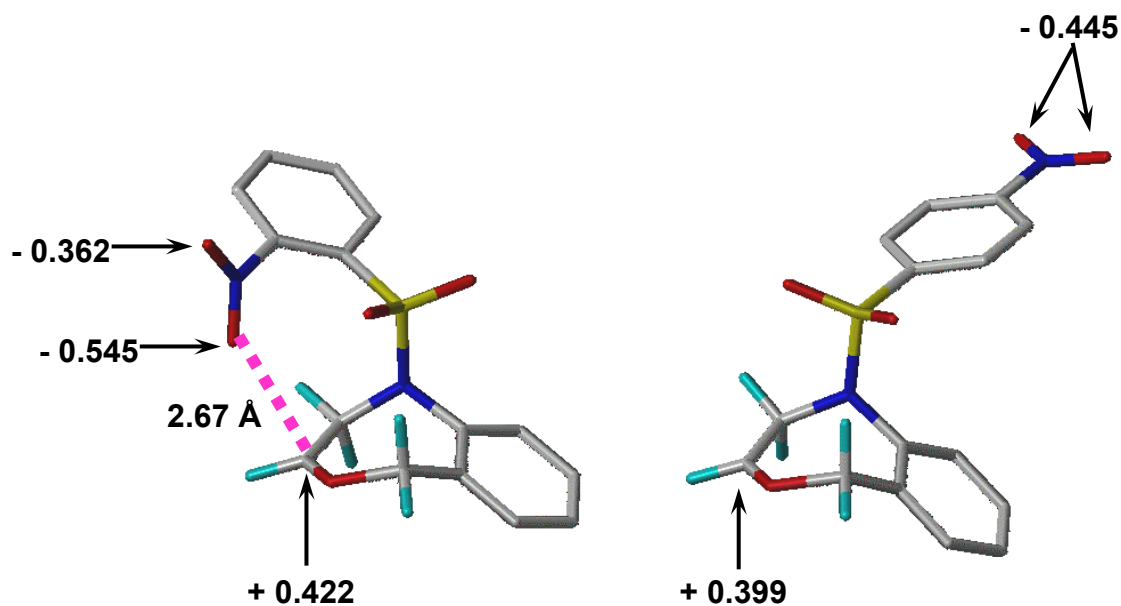
Teniendo en cuenta las estructuras de los dos sustratos en consideración, **MDG-430A** y **MDG-206A**, es lógico pensar que cualquier diferencia observada en el comportamiento de los mismos durante su conversión en *O,N*-acetales de pirimidina, sea debida a la posición del grupo nitro sobre el sustituyente  $Ns$ .

Una vez formados los iones oxocarbenio, tanto cíclicos como abiertos, podría existir una interacción atractiva entre la carga positiva de los mismos y el oxígeno negativo del grupo nitro, cuando éste se encuentre en posición *orto*. Dicha interacción atractiva constituiría un impedimento estérico para el ataque nucleófilo de la pirimidina silanizada, que afectaría sobre todo al ataque a través de la posición  $N3''$ , más impedida estéricamente (véase Figura 4.49). Los resultados obtenidos experimentalmente (véase Figura 4.48) son coherentes con esta hipótesis y se observa una menor formación de productos cíclicos con unión  $N3''$  en la reacción entre el compuesto **MDG-206A** (*o*-NO<sub>2</sub>) y el uracilo (el 5-FU no reacciona apenas a través de su posición  $N3''$ , muy poco nucleófila), que en el caso de **MDG-430A**. Es decir, las interacciones debidas al grupo nitro se traducirían en mayores rendimientos de producto con unión  $N1''$  y menores de producto con unión  $N3''$ , derivado de **MDG-206A**.



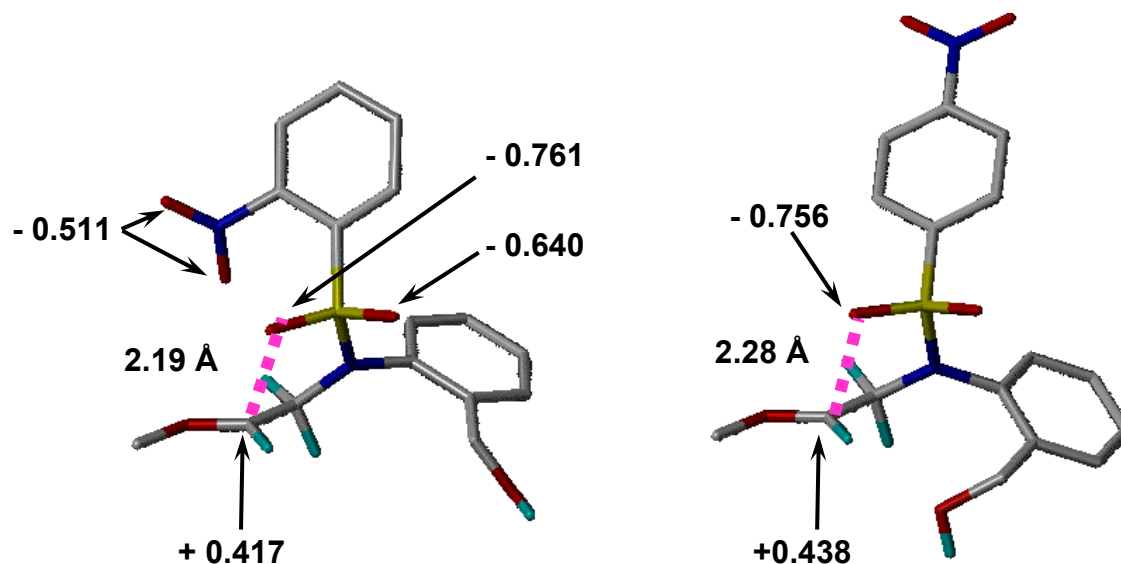
**Figura 4.49.** Representación del impedimento estérico para la aproximación de las posiciones  $N1''$  y  $N3''$  de las pirimidinas a la posición catiónica de los iones carbenio cíclicos derivados de **MDG-206A**.

En la Figura 4.50 se muestra cómo los resultados obtenidos en estudios de modelización (HF 6-31G\* optimizado con Gaussian), igualmente corroboran esta hipótesis, encontrándose en el ión carbenio cíclico derivado de **MDG-206A** una interacción entre la posición catiónica y el grupo nitro, que se aproximan hasta los 2.67 Å, dando lugar a una distribución asimétrica de la carga negativa entre los dos oxígenos del grupo nitro. En cambio, en el ión carbenio cíclico derivado de **MDG-430A**, no puede observarse aproximación alguna entre la posición catiónica y los grupos ricos en electrones de la molécula y existe una distribución simétrica de la carga negativa entre los dos átomos de oxígeno del grupo nitro.



**Figura 4.50.** Iones carbenio cíclicos derivados de *MDG-206A* (izquierda) y *MDG-430A* (derecha). Se indica la distancia entre los grupos que interactúan, así como las cargas sobre el carbono positivo y sobre los oxígenos del grupo nitro. Cálculos realizados mediante HF 6-31G\* optimizado con Gaussian.

En los iones oxocarbenio acíclicos, existe una interacción de la posición catiónica con otros grupos ricos en electrones, tales como los oxígenos del grupo sulfonilo (véase Figura 4.51), que pueden aproximarse entre sí, debido a la flexibilidad de las cadenas abiertas.



**Figura 4.51.** Iones carbenio acíclicos derivados de *MDG-206A* (izquierda) y de *MDG-430A* (derecha). Se indican las distancias entre los grupos que interactúan y las cargas sobre el carbono positivo y sobre los oxígenos de los grupos nitro y sulfonilo. Cálculos realizados mediante HF 6-31G\* optimizado con Gaussian.

Las interacciones encontradas en los iones carbenio acíclicos podrían explicar la prácticamente nula formación de productos finales *O,N*-acetálicos con unión *N3''*, tanto a partir de **MDG-206A** como de **MDG-430A**, como se indicó en el punto 4 del apartado 4.3.3.1.b. Los iones derivados de ambos sustratos presentan conformaciones similares, prácticamente superponibles.

#### **4.3.3.1.b.ii. Efecto del nucleófilo.**

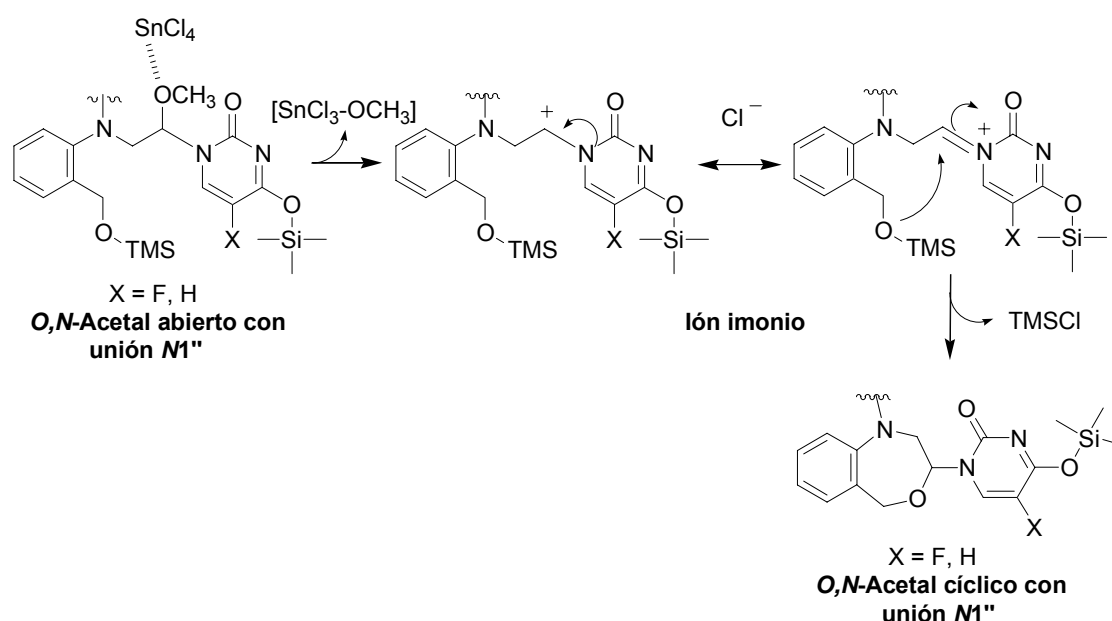
Se han obtenido resultados muy distintos, en cuanto a rendimientos y regioselectividad de estas reacciones, según que el nucleófilo implicado sea el 5-FU o el uracilo. Aquellas diferencias que son repetitivas con los dos sustratos, **MDG-206A** y **MDG-430A**, se han atribuido a la base nitrogenada y se discuten a continuación.

Los menores rendimientos totales obtenidos en las reacciones con 5-FU (véase punto 2 del apartado 4.3.3.1.b), podrían ser debidos a la desactivación del anillo que produce el efecto inductivo negativo del átomo de flúor. La formación de complejos con el ácido de Lewis estará desfavorecida en esta base nitrogenada, debido a su poca basicidad y, en el caso de que se formen, la posición *N3''* será en ellos un nucleófilo muy débil. Todo esto podría provocar una ralentización en el proceso, dando lugar a la descomposición de los reactivos.

En cuanto al uracilo, su mayor basicidad lo hace más reactivo y, debido a ello, se obtienen mejores rendimientos totales que en las reacciones con 5-FU. La formación de complejos con el ácido de Lewis estará más favorecida que en el caso anterior y en ellos, la posición *N3''* puede tener nucleofilia suficiente como para reaccionar con los iones oxocarbenio presentes en el medio. Los rendimientos de regioisómero *N3''* que se han obtenido en las reacciones con uracilo superan, en el caso de los productos cíclicos, a los de regioisómero *N1''* (punto 4, Apartado 4.3.3.1.b). La velocidad de reacción del uracilo será mayor que la del 5-FU y tendrá lugar una menor descomposición de los reactivos en el medio.

La utilización de una u otra pirimidina no debe afectar las proporciones en que se forman los iones oxocarbenio cíclicos y abiertos del sustrato (**79** y **82**, Figura 4.36); sin

embargo, los productos *O,N*-acetales abiertos derivados de 5-FU se han obtenido en mayor proporción que los cíclicos, ocurriendo la situación inversa para el uracilo. Como una de las posibles causas, podría proponerse la existencia de conversiones en los *O,N*-acetales ya formados, que tengan lugar preferentemente sobre los productos derivados de una de las dos pirimidinas. Así, la ciclación de los *O,N*-acetales abiertos (que se expuso en el Apartado 4.3.1), podría ocurrir en menor medida en el caso de los derivados de 5-FU debido a que la estabilización del ión carbenio intermedio, en forma de imonio, podría verse comprometida por el efecto inductivo del átomo de flúor sobre el nitrógeno *N1''* que ha de actuar como dador de electrones (véase Figura 4.52).



**Esquema 4.52.** Proceso propuesto para la ciclación de *O,N*-acetales abiertos.

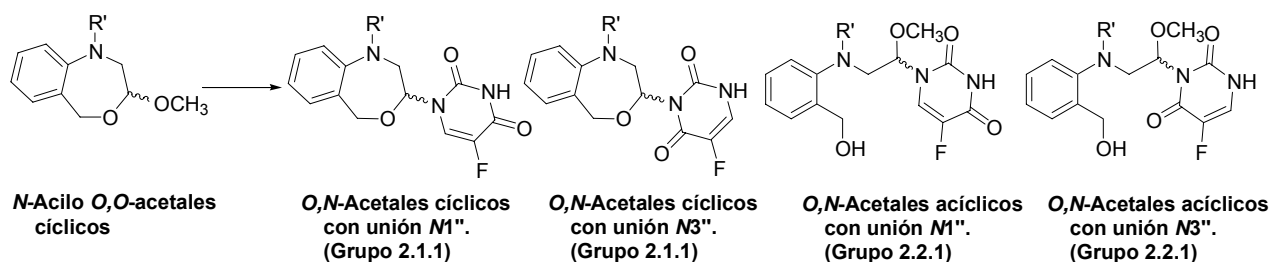
#### 4.3.4. Reacción de (*RS*)-*N*-acil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con 5-FU, mediada por ácidos de Lewis.

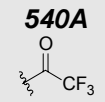
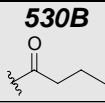
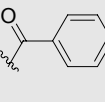
Las reacciones de condensación de las (*RS*)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas **MDG-530B**, **MDG-540A** y **MDG-616A** con 5-FU, en presencia de  $\text{SnCl}_4$  y  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ , no han proporcionado los productos esperados, presumiblemente por interferencias de los grupos carbonilo en el desarrollo de la reacción (para el  $\text{SnCl}_4$  se ha descrito una gran capacidad de coordinación a los grupos carbonilo de ésteres y amidas<sup>28</sup>). Únicamente a partir de **MDG-616A** se obtuvo uno de los *O,N*-acetales esperados, aunque con muy bajo rendimiento. El compuesto con hidrógenos  $\alpha$  respecto



al grupo carbonilo (**MDG-530B**) condujo a la formación de productos que no se han podido identificar y en el caso de **MDG-540A** se obtuvieron productos inestables no identificables. Las condiciones de reacción aplicadas en cada caso y los resultados obtenidos, se exponen en la Tabla 4.53.

**Tabla 4.53.** Condiciones aplicadas y resultados obtenidos en las reacciones entre *N*-acilbenzoxazepinas y 5-FU.



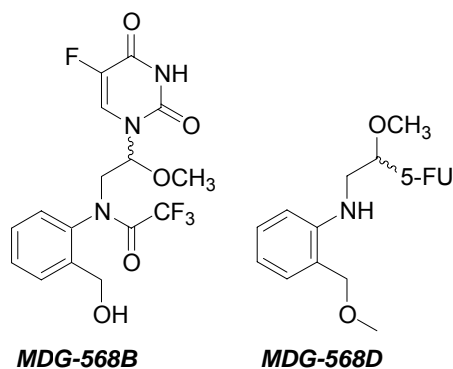
Sustrato (R')	Reactivos (n° equiv.) <sup>a</sup>			Condiciones de reacción <sup>b</sup>			Rendimientos			
	Ácido de Lewis	HMDS, TCS	5-FU	Disolvente	Temp.	Tiempo	Cíclicos		Acíclicos	
							<i>N1''</i>	<i>N3''</i>	<i>N1''</i>	<i>N3''</i>
<b>540A</b> 	SnCl <sub>4</sub> (3.0)	3.0	1.2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	t.a.	54 h	NA	NA	NA	NA
					40 °C	24 h	Descomposición			
<b>530B</b> 	SnCl <sub>4</sub> (3.0)	3.0	1.2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	t.a.	23 h	NA	NA	NA	NA
<b>616A</b> 	SnCl <sub>4</sub> (1.4)	1.2	1.2	CH <sub>3</sub> CN	t.a.	48 h	NA	NA	<b>680G</b> 5%	NA
	Sc(OTf) <sub>3</sub> (0.6)	1.0	1.0	CH <sub>3</sub> CN	40 °C	26 h	NA	NA	<b>680G</b> 11%	NA

<sup>a</sup> Calculados para 1.0 equiv. de sustrato. <sup>b</sup> Todas las reacciones se llevaron a cabo en disolventes anhidros y atmósfera de argón. Los reactivos se añadieron a 0 °C. NA: Producto no aislado.

Las reacciones se desarrollaron, en un primer intento, a t.a. para evitar la descomposición de las amidas.

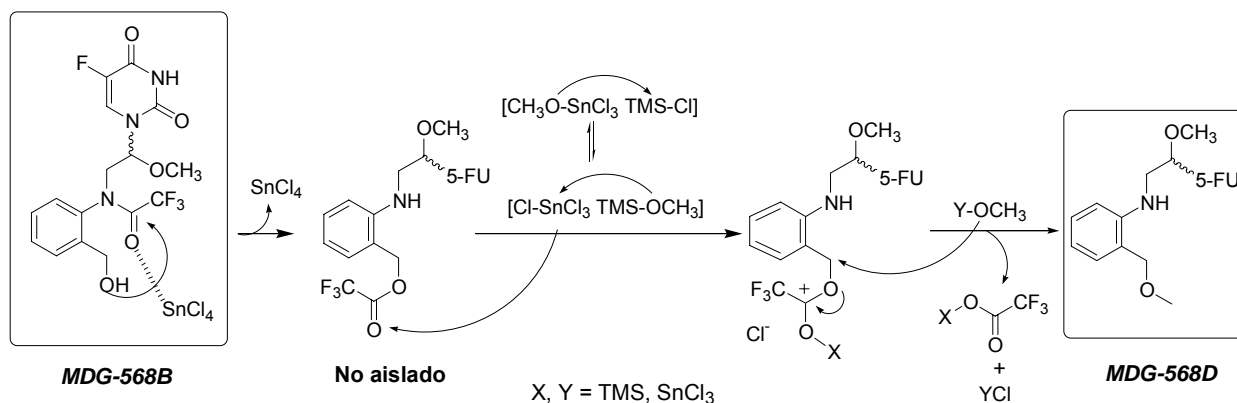
El compuesto **MDG-616A**, en presencia de SnCl<sub>4</sub> proporcionó el *O,N*-acetal abierto (**MDG-680G**) con muy bajo rendimiento (5 %) y éste mejoró ligeramente cuando se utilizó Sc(OTf)<sub>3</sub> (11 %).

A partir de **MDG-540A** se pudo aislar el compuesto inesperado **MDG-568D** (Figura 4.54, rendimiento 16%), cuando la reacción se llevó a cabo a t.a. Además, se obtuvo un compuesto acíclico cuyo espectro  $^1\text{H-RMN}$  podría corresponder a la estructura que se ha denominado **MDG-568B**, sobre la que no pudieron llevarse a cabo otros métodos de identificación ya que resultó ser inestable.



**Figura 4.54.** Estructuras de los compuestos obtenidos en la reacción entre **MDG-540A** y 5-FU mediada por  $\text{SnCl}_4$ .

La inestabilidad de **MDG-568B** podría estar originada por la presencia de un grupo carbonilo altamente electrófilo y un grupo hidroxilo bencílico nucleófilo en la misma molécula, como se indica en el Esquema 4.55.



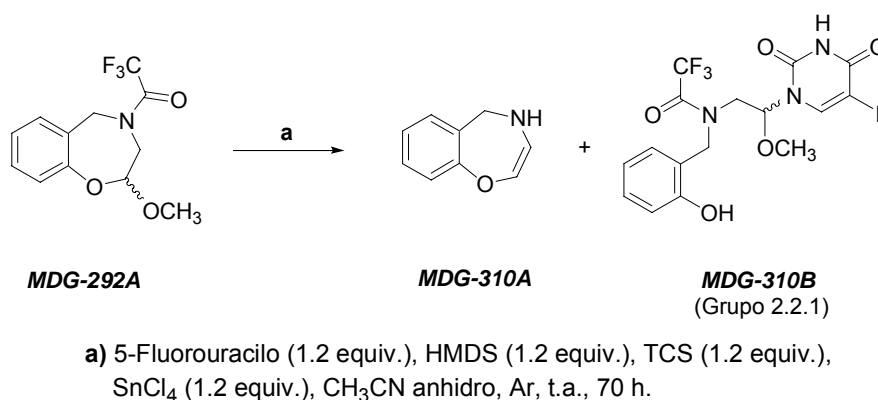
**Esquema 4.55.** Mecanismo propuesto para la formación de **MDG-568D**.

En el medio de reacción, la electrofilia del grupo carbonilo podría estar incrementada por coordinación del ácido de Lewis y la nucleofilia del OH por silanización. Otros nucleófilos en el medio de reacción (ej. iones metóxido estabilizados) podrían haber contribuido a la formación del producto inesperado **MDG-568D**, a partir del propio **MDG-568B**. Para ello, se propone un mecanismo mediado por ácidos de Lewis, que se

expone en el Esquema 4.55. En literatura existen evidencias de ataque nucleófilo a grupos carbonilo, mediado por ácidos de Lewis<sup>39</sup>.

#### 4.3.5. Reacción de la (*RS*)-2-metoxi-4-trifluoroacetyl-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepina (*MDG-292A*) con 5-FU, mediada por ácidos de Lewis.

La reacción se llevó a cabo en las condiciones indicadas en el Esquema 4.56. Las cantidades de ácido de Lewis y demás reactivos, que fueron necesarias para que tuviera lugar el desarrollo de la reacción, resultaron menores que en el caso de los derivados nitrobencénsulfonílicos. A t.a. y bajo atmósfera inerte, no se observó formación de *O,N*-acetal cíclico; en cambio, el compuesto acíclico *MDG-310B* se obtuvo en buen rendimiento (33%) cuando la reacción se mantuvo durante 70 h ya que, tras 24 h, la mayor parte del producto de partida permanecía sin reaccionar.



**Esquema 4.56.** Condiciones utilizadas en la reacción entre *MDG-292A* y 5-FU.

La estabilidad de *MDG-310B* comparada con *MDG-568B*, podría explicarse debido a la menor nucleofilia del OH fenólico respecto al alcohol bencílico para el ataque sobre el grupo carbonilo del resto trifluoroacetilo, cuya electrofilia está además incrementada en el caso de *MDG-568B*, dada la naturaleza anilínica del nitrógeno *N1* que lo soporta.

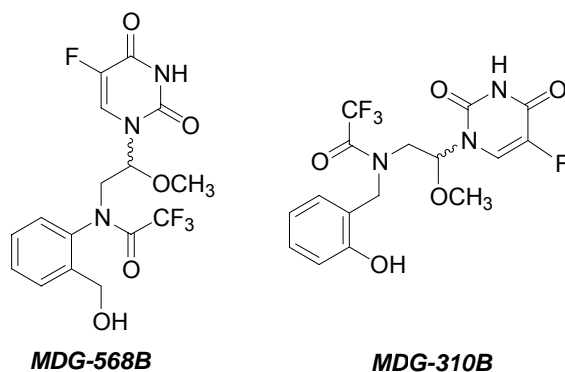
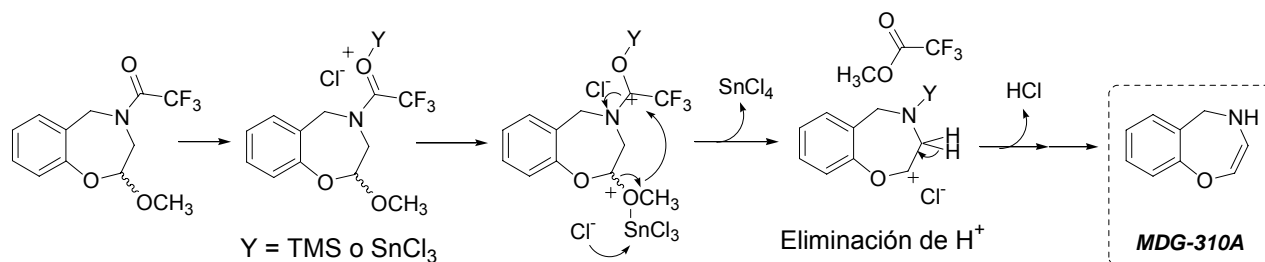


Figura 4.57. Comparación de las estructuras de **MDG-568B** y **MDG-310B**.

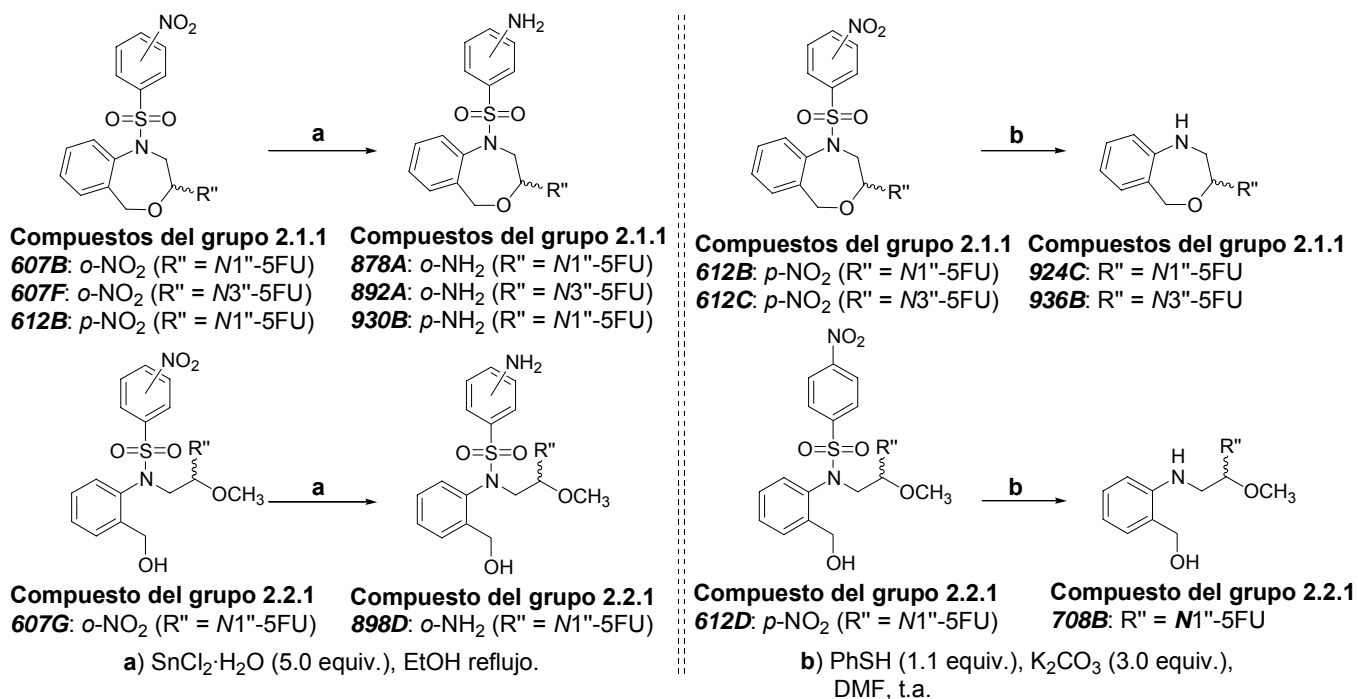
Tras 70 h de agitación en las condiciones descritas, se pudo aislar junto a **MDG-310B** y con un 55% de rendimiento, la 4,5-dihidro-1,4-benzoxazepina (**MDG-310A**). Se ha propuesto un proceso para su formación que corresponde con una silanización del oxígeno carbonílico o una coordinación al mismo del ácido de Lewis, el ataque del nucleófilo OCH<sub>3</sub> y la posterior eliminación de un protón para la estabilización del sistema (Esquema 4.58).



Esquema 4.58. Proceso propuesto para la formación de **MDG-310A**.

#### 4.3.6. Modificación estructural de los *O,N*-acetales derivados de tetrahydrobenzoxazepinas y pirimidinas.

Se han obtenido los *O,N*-acetales productos de la reducción del grupo nitro y de la eliminación de los restos nitrobenzénsulfonilo que se exponen en la Figura 4.59. La reducción se ha llevado a cabo en presencia de SnCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, en etanol a reflujo, mientras que la desprotección se ha efectuado en las condiciones de Fukuyama y cols.<sup>5</sup>, como se describió para la preparación de **MDG-484D**.



**Figura 4.59.** Productos obtenidos en las reacciones de reducción y eliminación de los grupos protectores nitrobenzénsulfonilo, en *O,N*-acetales cíclicos y acíclicos derivados de **MDG-206A** o **MDG-430A** y 5-FU.

Los rendimientos de cada uno de los productos obtenidos se exponen en la Tabla 4.60.

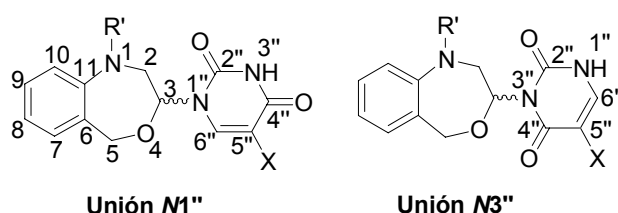
**Tabla 4.60.** Rendimientos obtenidos en las reacciones de reducción del grupo nitro y eliminación de los grupos nitrobenzénsulfonilo sobre *O,N*-acetales.

Reducción de grupo nitro			Eliminación de grupo Ns		
Sustrato	Producto		Sustrato	Producto	
<b>MDG-607B</b>	<b>MDG-878A</b>	100%	<b>MDG-612B</b>	<b>MDG-924C</b>	83%
<b>MDG-607F</b>	<b>MDG-892A</b>	46%	<b>MDG-612C</b>	<b>MDG-936B</b>	50%
<b>MDG-612B</b>	<b>MDG-930B</b>	34%	<b>MDG-612D</b>	<b>MDG-708B</b>	41%
<b>MDG-607G</b>	<b>MDG-898D</b>	50%			

#### 4.3.7. Análisis espectroscópico de los compuestos *O,N*-acetálicos derivados de pirimidinas.

Se han registrado los espectros  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN de los productos *O,N*-acetálicos cíclicos y acíclicos derivados de benzoxazepinas y pirimidinas. La asignación de los protones y carbonos se han confirmado mediante HMQC (del inglés *heteronuclear multi-quantum correlation*) en **MDG-864B**.

##### 4.3.7.1. *O,N*-Acetales cíclicos derivados de 5-FU y uracilo (Grupo 2.1).



**Figura 4.61.** Estructuras generales de los compuestos *O,N*-acetálicos cíclicos derivados de 5-FU (X = F) y uracilo (X = H) que se han preparado.

##### 4.3.7.1.a. Estudio conformacional (experimentos NOE).

Se ha obtenido información conformacional mediante estudios NOESY y NOE de diferencia (NOE-dif) sobre **MDG-612B** y **MDG-612C** y estudios NOE-dif sobre **MDG-864B** y **MDG-864C**. Todas estas experiencias han sido realizadas en acetona- $d_6$  y los efectos NOE más significativos en cada tipo de compuestos, se exponen en las Figuras A.7-A.9 del Anexo a la Parte Teórica.

La cara de la molécula hacia la que se orienta el protón H-3 se ha denominado  $\beta$ . Aquellos átomos de hidrógeno incluidos en los anillos benzoxazepínicos que mostraron efecto NOE con H-3 $\beta$ , se han considerado situados en la misma cara y por ello se han designado  $\beta$ , mientras que a los que no lo hicieron, orientados hacia la cara opuesta, se les ha denominado  $\alpha$ . Los valores de las constantes de acoplamiento entre cada uno de los protones H-2 y el protón H-3 $\beta$ , confirmaron la disposición *trans* del hidrógeno denominado como H-2 $\alpha$  respecto a H-3 $\beta$  y la disposición *cis* entre el hidrógeno denominado H-2 $\beta$  y el protón H-3 $\beta$ . Por ello, las denominaciones H-2 $\alpha$  y H-2 $\beta$  han sido generalizadas a todas las moléculas cíclicas para aquellos protones H-2 que mostraron

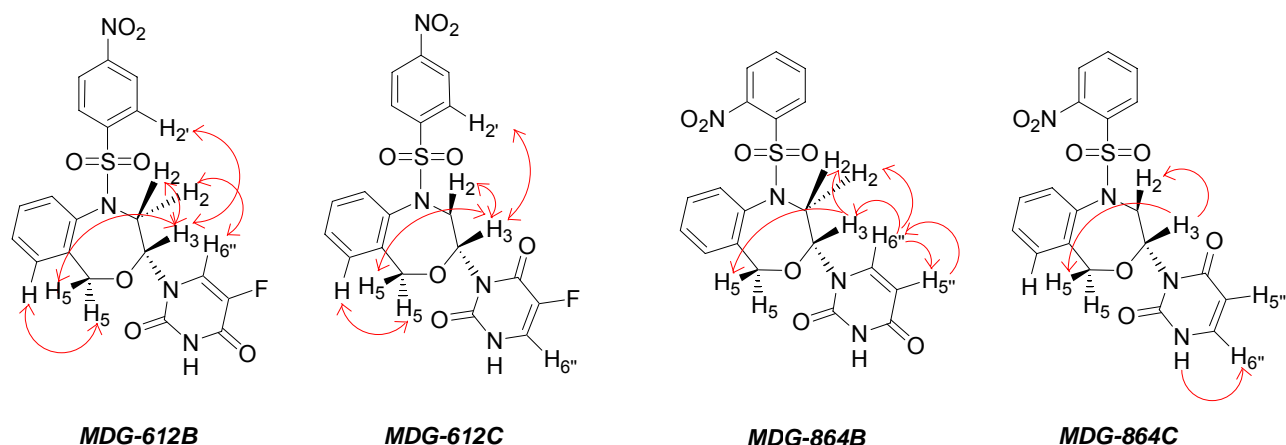
la mayor y la menor constante de acoplamiento con H-3 $\beta$ , respectivamente. Los valores de la primera se han encontrado situados entre 10.2 y 9.2 Hz, mientras que los de la segunda entre 2.3 y 1.8 Hz (Tabla 4.63).

Otros efectos NOE que se han observado, son:

- a) En el compuesto **MDG-612B** ( $R' = p\text{-Ns}$  y  $R'' = N1''\text{-5FU}$ ), se han observado mediante experiencias NOESY, las interacciones H2 $\alpha$ -H6'' (característica de unión  $N1''$ ), H3 $\beta$ -H2', H3 $\beta$ -H5 $\beta$  y H5 $\alpha$ -anillo aromático fusionado a la oxazepina.
- b) En el compuesto **MDG-612C** ( $R' = p\text{-Ns}$  y  $R'' = N3''\text{-5FU}$ ), mediante experiencias NOESY, se han comprobado las interacciones H3 $\beta$ -H2', H3 $\beta$ -H5 $\beta$  y H5 $\alpha$ -anillo aromático del núcleo benzoheterocíclico.
- c) En el compuesto **MDG-864B** ( $R' = o\text{Ns}$  y  $R'' = N1''\text{-uracilo}$ ), por irradiación sobre los protones H-3 $\beta$ , H-3'', H-5'' y H-6'', se han identificado las interacciones H2 $\alpha$ -H6'', H3 $\beta$ -H6'' (características ambas de unión  $N1''$ ), H3 $\beta$ -H5 $\beta$  y H5''-H6''.
- d) En el compuesto **MDG-864C** ( $R' = o\text{-Ns}$  y  $R'' = N3''\text{-uracilo}$ ), por irradiación sobre H-1'' y H-3 $\beta$ , se observan las interacciones H6''-H1'' (característica de unión  $N3''$ ) y H3 $\beta$ -H5 $\beta$ .

En los compuestos **MDG-612B** y **MDG-864B**, se han identificado interacciones entre H-6'' de la base nitrogenada y los protones H-2 $\alpha$  y H-3 $\beta$ , sobre el anillo benzoxazepínico. Estas interacciones son indicativas de la existencia de una unión base-benzoxazepina a través de  $N1''$  y no son posibles cuando la unión se establece a través de  $N3''$  (**MDG-612C** y **MDG-864C**), ya que entonces el protón H-6'' se sitúa demasiado alejado del núcleo benzoxazepínico. La interacción de H-6'' con el nitrógeno amídico libre en el uracilo, encontrada sobre **MDG-612C**, es característica de la unión a través de  $N3''$ .

En la Figura 4.62, se representan todas estas interacciones NOE.



**Figura 4.62.** Representación de las interacciones NOE (flechas coloreadas) en los compuestos **MDG-612B**, **MDG-612C**, **MDG-864B** y **MDG-864C**.

#### 4.3.7.1.b. *O,N*-Acetales cíclicos derivados de 5-FU (Grupo 2.1.1).

Las constantes de acoplamiento H-F y C-F se pueden observar para los protones H-3 $\beta$  y H-6'' y para los carbonos C-4'', C-5'' y C-6'' y sus valores son coherentes con aquellos encontrados para otros nucleósidos y pseudonucleósidos de 5-FU preparados anteriormente en nuestro grupo y en otros<sup>37,40</sup>.

Los compuestos *O,N*-acetálicos, con anillos de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina, han presentado una multiplicidad en la señal de resonancia del protón H-3 $\beta$ , característica del tipo de unión (*N1''* o *N3''*) del 5-FU<sup>24</sup>. El protón H-3 $\beta$  resuena como doble doblete en aquellos compuestos en que el 5-FU está unido a la posición acetálica a través de *N1''* (resultado de los acoplamientos H3 $\beta$ -H2 $\alpha$ , H3 $\beta$ -H2 $\beta$  y a larga distancia H3 $\beta$ -F) y como doblete (resultado de los acoplamientos H3 $\beta$ -H2 $\alpha$  y H3 $\beta$ -H2 $\beta$ ) cuando la pirimidina se une a través de su posición *N3''* (véanse espectros <sup>1</sup>H-RMN de **MDG-612B** y **MDG-612C**, Figuras A.7 y A.8 en Anexo a la Parte Teórica). La identificación de la unión *N1''* en **MDG-612B** y la unión *N3''* en **MDG-612C** a partir de las características de resonancia del hidrógeno H-3 $\beta$ , coincide con la realizada a partir de los efectos NOE, en el apartado 4.3.7.1.a.

Mediante comparación de los espectros <sup>1</sup>H-RMN y <sup>13</sup>C-RMN (realizados en acetona-*d*<sub>6</sub>), se han encontrado algunas características espectroscópicas que son comunes a los



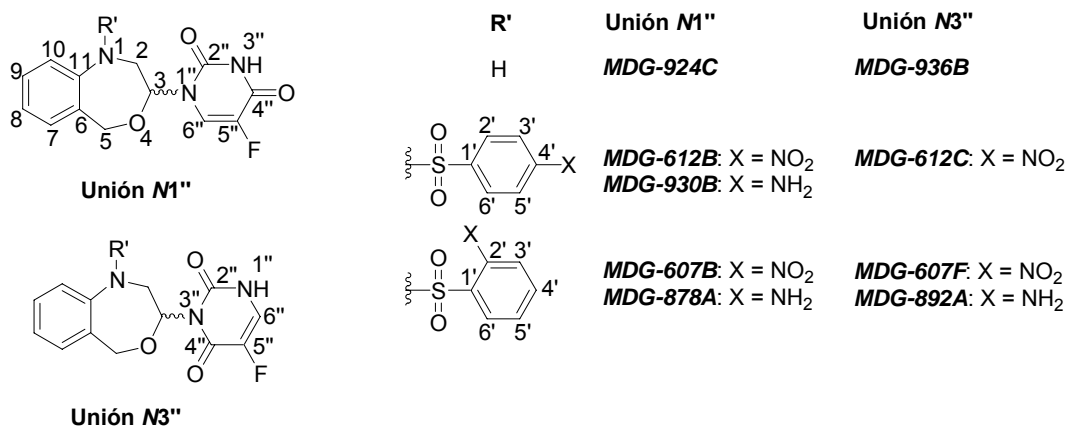
O,N-acetales cíclicos de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con  $R' = \text{Ns}$  o H (filas 1-6 en las Tablas 4.63 y 4.64), que presentan un mismo tipo de unión del 5-FU ( $N1''$  o  $N3''$ ):

1. Las señales de resonancia correspondientes a los átomos H-2 $\alpha$  y H-3 $\beta$  resuenan a campos más bajos en el caso de unión  $N3''$  que en  $N1''$ .
2. Las señales correspondientes a los átomos H-2 $\beta$  y H-6'' resuenan a campos más bajos en la unión  $N1''$  que en la  $N3''$ .
3. La constante de acoplamiento H2 $\alpha$ -H3 $\beta$  presenta un valor mayor en compuestos con unión  $N1''$  que en compuestos con unión  $N3''$  (excepto para  $R' = \text{H}$ ).
4. La señal de resonancia correspondiente al átomo C-5 aparece a campos más bajos en caso de unión  $N3''$  que en caso de unión  $N1''$ .
5. Las constantes de acoplamiento C4''-F y C6''-F presentan valores mayores en los compuestos con unión  $N1''$  que en compuestos con unión  $N3''$ .

En las Tablas 4.63 y 4.64 se muestran los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para los átomos más característicos de los anillos 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínicos y 2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepínicos, en los O,N-acetales cíclicos derivados de 5-FU.

La posición relativa de los hidrógenos H-2 $\alpha$  y H-2 $\beta$  en el espectro, cambia según el sustituyente  $R'$  en cada compuesto. En los productos en los que  $R'$  es un resto bencénsulfonilo sustituido en posición *para* mediante un grupo nitro o amino (filas 1, 2 y 7, Tabla 4.63), H-2 $\alpha$  está más apantallado que H-2 $\beta$ . También ocurre así en los compuestos *o*-aminobencénsulfonílicos (filas 8 y 9) y en el *o*-nitrobencénsulfonílico con unión  $N1''$  (fila 3), pero no en el correspondiente con unión  $N3''$  (fila 4). Estos datos contrastan con los encontrados para los O,O-acetales cíclicos (Apartado 4.2.3), en la mayoría de los cuales, el protón H-2 $\alpha$  resuena a campos más bajos que el H-2 $\beta$ .

**Tabla 4.63.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H-RMN}$  (t.a), para los *O,N*-acetales derivados de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina y 5-FU. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios (Hz).



$^1\text{H-RMN}$ (Acetona- $d_6$ )		H-2 $\alpha$		H-2 $\beta$		H-3 $\beta$		H-5 $\alpha$		H-5 $\beta$		H-6''	
		$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\alpha-3\beta}$	$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\beta-3\beta}$	$\delta$	$J_{3\beta-2\alpha}$ $J_{3\beta-2\beta}$ $J_{3\beta-F}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$J_{6''-F}$ $J_{6''-NH}$
1	612B	3.57 dd	15.0 10.1	4.64 dd	15.0 2.0	5.82 ddd	10.0 1.7 1.7	4.70 d	13.9	4.29 d	13.8	7.73 d	6.8 -
2	612C <sup>a</sup>	4.44 dd	14.9 9.3	4.54 dd	14.9 2.2	6.12 dd	9.3 2.0	4.62 d	13.7	4.20 d	13.8	7.68 d	5.2 -
3	607B	3.64 dd	14.9 10.1	4.53 dd	14.9 2.1	5.94 ddd	10.0 1.8 1.8	4.84 s	-	4.84 s	-	7.80 d	6.8 -
4	607F	4.55 dd	15.0 9.3	4.44 dd	15.1 2.2	6.20 dd	9.4 2.1	4.78 s	-	4.78 s	-	7.69 pt	6.1 5.4
5	924C <sup>a</sup>	3.09 dd	13.8 7.0	3.67 dd	13.8 2.3	5.78 ddd	7.0 2.0 2.0	4.84 d	14.1	4.77 d	14.0	7.85 d	6.9 -
6	936B	4.36 dd	13.6 9.6	3.32 ddd <sup>c</sup>	13.6 2.0	6.20 dd	9.6 1.9	5.18 d	13.8	4.48 d	13.8	7.64 d	5.2 -
7	930B	3.39 dd	14.9 10.1	4.53 dd	14.9 2.0	5.95 ddd	10.1 1.8 1.8	4.64 d	13.6	4.22 d	13.6	7.73 d	6.8 -
8	878A <sup>b</sup>	3.15 dd	14.9 10.2	4.66 dd	14.9 2.2	6.28 ddd	10.1 1.8 1.8	4.35 d	13.6	3.76 d	13.6	7.24 d	5.7 -
9	892A	4.41 dd	14.9 9.2	4.51 dd	15.0 2.3	6.28 dd	9.4 2.3	4.61 d	13.5	4.52 d	13.4	7.68 t	5.6 5.6

<sup>a</sup>A la acetona- $d_6$  se le añadieron unas gotas de metanol- $d_4$ . <sup>b</sup>Espectro registrado en cloroformo- $d$ . <sup>c</sup>La tercera constante de acoplamiento es  $J_{2\beta-NH}$  y tiene un valor de 7.2 Hz. El acoplamiento con NH no es observable en el caso del protón 2 $\alpha$ . ND: Dato no determinado.

En los compuestos **MDG-924C** y **MDG-936B** (filas 5 y 6, Tabla 4.63), como consecuencia de la eliminación del grupo atrayente de electrones nitrobenzénsulfonilo, los protones H-2 aparecen más apantallados que en los compuestos con dicho grupo protector. En **MDG-936B** es observable el acoplamiento  $NH-H2\beta$ .

En las nitrobenzénsulfonamidas (filas 1-4, Tabla 4.63), H-6'' está más apantallado en los ciclos  $N3''$  que en los ciclos  $N1''$ , estando en estos últimos el hidrógeno H-6'' cerca del anillo benzénsulfonílico, posiblemente se encuentre influido por éste. En las aminosulfonamidas (filas 7-9) ocurre la situación contraria.

**Tabla 4.64.** Datos obtenidos mediante  $^{13}C$ -RMN (t.a), para los *O,N*-acetales derivados de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina y 5-FU. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios (Hz).

$^{13}C$ -RMN (Acetona- $d_6$ )		C-2	C-3	C-5	C-2''	C-4''		C-5''		C-6''	
		$\delta$	$\delta$	$\delta$	$\delta$	$\delta$	$J_{4'',F}$	$\delta$	$J_{5'',F}$	$\delta$	$J_{6'',F}$
1	<b>612B</b>	53.47 s	83.35 s	71.01 s	ND -	156.52 d	33.2	140.69 d	231.3	124.37 d	34.8
2	<b>612C<sup>a</sup></b>	54.18 s	84.67 s	72.53 s	ND -	158.15 d	25.0	140.62 d	226.6	125.68 d	32.5
3	<b>607B</b>	53.80 s	84.20 s	71.06 s	148.64- 147.93 s	156.72 d	26.5	140.76 d	231.4	124.70 d	34.7
4	<b>607F<sup>b</sup></b>	53.77 s	ND -	72.81 s	150.51- 147.91 s	156.96 d	24.8	139.80 d	331.6	123.46 d	31.8
5	<b>924C<sup>a</sup></b>	51.72 s	86.24 s	71.44 s	150.26- 149.65 s	$\geq 156$ ND	ND	141.14 d	230.0	126.38 d	34.6
6	<b>936B</b>	49.83 s	87.34 s	72.26 s	150.87- 150.46 s	$\geq 156$ ND	ND	140.85 d	226.7	125.26 d	32.3
7	<b>930B</b>	53.92 s	83.64 s	71.58 s	ND ND	ND ND	ND	ND ND	ND	125.32 d	34.5
8	<b>878A<sup>c</sup></b>	52.76 s	83.00 s	70.52 s	ND ND	ND ND	ND	ND ND	ND	ND ND	ND
9	<b>892A</b>	52.94 s	ND ND	71.48 s	148.81 s	ND ND	ND	ND ND	ND	ND ND	ND

<sup>a</sup>A la acetona- $d_6$  se le añadieron unas gotas de metanol- $d_4$ . <sup>b</sup>Espectro registrado en cloroformo- $d$  al que se le añadieron unas gotas de acetona- $d_6$ . <sup>c</sup>Espectro registrado en cloroformo- $d$ . ND: Dato no determinado.

La constante de acoplamiento C5''-F, adopta mayor valor en **MDG-607F** (fila 4, Tabla 4.64) que en el resto de los productos.

La eliminación del grupo protector nitrobencénsulfonilo tiene como consecuencia un apantallamiento de los carbonos C-2 y C-6 (éste último no recogido en la Tabla 4. 64) y un desapantallamiento del carbono acetálico C-3 (filas 5 y 6). Los espectros <sup>13</sup>C-RMN son muy similares en aminobencénsulfonamidas y en nitrobencénsulfonamidas.

#### **4.3.7.1.c. O,N-Acetales cíclicos derivados de uracilo (Grupo 2.1.2).**

Los compuestos O,N-acetálicos con núcleos de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina presentan una multiplicidad de la señal de resonancia del protón H-6'' característica del tipo de unión (N1'' o N3'') con el uracilo. El protón H-6'' resuena como doblete en aquellos compuestos en que el uracilo está unido al C-3 a través de N3'' (debido a los acoplamientos: H6''-H5'', H6''-H1'') y como doblete (por acoplamiento H6''-H5'') cuando la pirimidina se une a través de su posición N1'' (véanse espectros <sup>1</sup>H-RMN de **MDG-864B** y **MDG-864C**, Figuras A.10 y A.11, en Anexo a la Parte Teórica).

Los efectos NOE H2 $\alpha$ -H6'' y H6''-NH observados en **MDG-864B** y en **MDG-864C**, respectivamente, y que se representaron en la Figura 4.62, confirman las uniones N1'' y N3'' de cada uno de estos compuestos.

Se han encontrado otras características espectroscópicas (<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C-RMN), tanto en DMSO-*d*<sub>6</sub> como en acetona-*d*<sub>6</sub>, que son comunes a los compuestos 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínicos (R' = Ns) con un mismo tipo de unión al uracilo (N1'' o N3'') (véanse Tablas 4.65 y 4.66):

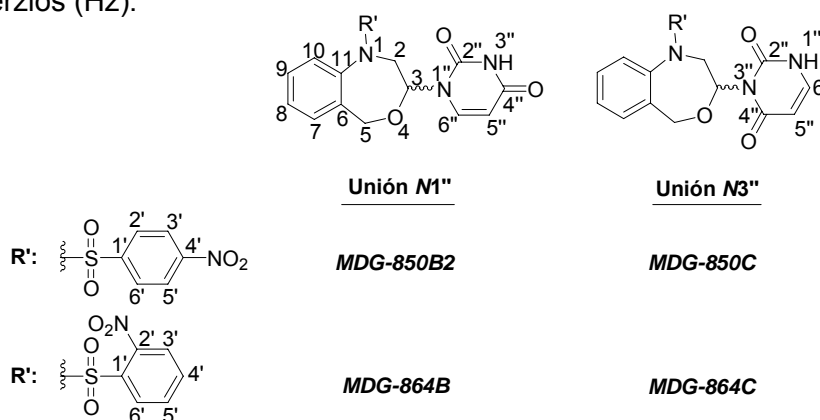
1. Los hidrógenos H-2 $\alpha$  y H-3 $\beta$  aparecen a campos más bajos en los compuestos con unión N3'' que en aquellos con unión N1''.
2. El hidrógeno H-6'' aparece algo más desapantallado cuando la unión tiene lugar a través de N1''.

- El valor de la constante de acoplamiento H2 $\alpha$ -H3 $\beta$  es menor cuando la unión se establece a través de N3'' que cuando tiene lugar a través de N1''.
- Los carbonos C-5 y C-6'' se sitúan ligeramente más desapantallados en la unión N3''.
- El carbono C-5'' aparece más desapantallado en la unión N1''.

En algunos casos, el proton H-5'' resuena como doble doblete tanto en compuestos con unión N1'' como con unión N3'', debido al acoplamiento H5''-H6'' y H5''-NH.

En las Tablas 4.65 y 4.66 se muestran los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para los átomos más característicos de los anillos 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínicos en los O,N-acetales cíclicos derivados de uracilo.

**Tabla 4.65.** Datos obtenidos mediante <sup>1</sup>H-RMN (t.a), para los O,N-acetales derivados de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina y uracilo. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en herzios (Hz).



<sup>1</sup> H-RMN	H-2 $\alpha$		H-2 $\beta$		H-3 $\beta$		H-5 $\alpha$		H-5 $\beta$		H-5''		H-6''	
	$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\alpha-3\beta}$	$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\beta-3\beta}$	$\delta$	$J_{3\beta-2\alpha}$ $J_{3\beta-2\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$J_{5''-6''}$ $J_{5''-NH}$	$\delta$	$J_{6''-5''}$ $J_{6''-NH}$
1 850B N1'' DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	3.60	14.9	4.42	15.1	5.74	8.5	4.75	13.8	4.35	13.7	5.51	8.1	7.53	8.1
2 850C N3'' DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	4.26	15.0	4.41	15.0	6.03	7.8	4.69	13.7	4.25	13.3	5.56	7.6	7.43	-
3 864B N1'' Acetona- <i>d</i> <sub>6</sub>	3.61	15.0	4.54	15.0	5.93	10.1	4.82	-	4.82	-	5.59	7.9	7.54	8.1
4 864C N3'' Acetona- <i>d</i> <sub>6</sub>	4.57	15.0	4.41	15.0	6.24	9.6	4.77	-	4.77	-	5.58	7.7	7.43	7.7

ND: Dato no determinado.

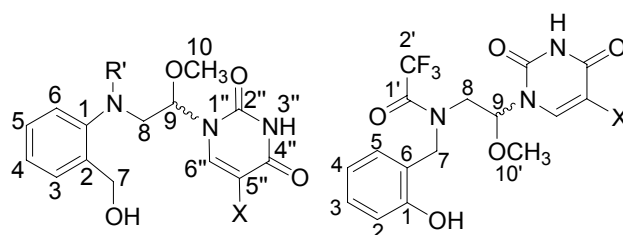
**Tabla 4.66.** Datos obtenidos mediante  $^{13}\text{C}$ -RMN (t.a), para los *O,N*-acetales derivados de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina y uracilo. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm).

$^{13}\text{C}$ -RMN		$\delta$ (ppm)						
		C-2	C-3	C-5	C-2''	C-4''	C-5''	C-6''
1	<b>850B</b> DMSO- $d_6$	53.55	83.78	70.81	150.74 o 150.45	163.39	102.49	141.40
2	<b>850C</b> DMSO- $d_6$	53.76	83.63	71.53	151.35 o 150.64	163.21	100.46	142.32
3	<b>864B</b> Acetona- $d_6$	54.05	84.07	71.10	149.99 o 147.96	162.59	102.24	140.25
4	<b>864C</b> Acetona- $d_6$	54.29	84.45	71.84	150.96 o 148.04	162.75	100.53	140.80

En resumen, a partir de todos estos datos puede afirmarse que, en DMSO- $d_6$  y acetona- $d_6$ , los *O,N*-acetales cíclicos de 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas y las pirimidinas 5-FU o uracilo, presentan una serie de características espectroscópicas que, por comparación, distinguen el tipo de unión de la pirimidina al acetal ( $N1''$  o  $N3''$ ): C-5, H-2 $\alpha$  y H-3 $\beta$  aparecen más desapantallados cuando la unión se realiza a través de  $N3''$ ; cuando existe dicha unión el valor de constante de acoplamiento H2 $\alpha$ -H3 $\beta$  es menor que cuando la unión se establece a través de  $N1''$  (excepto para R' = H); H-6'' está ligeramente más desapantallado en la unión  $N1''$ .

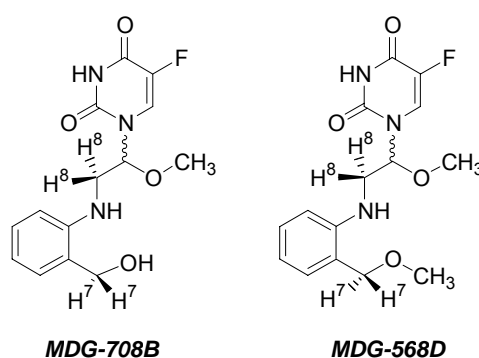
De entre los compuestos nitrobenzénsulfonílicos, aquellos derivados *o*-nitro con union  $N3''$  (**MDG-607F**, **MDG-864C**), son los únicos en los que H-2 $\alpha$  aparece más desapantallado que H-2 $\beta$ . En los espectros  $^1\text{H}$ -RMN de los compuestos *o*-Ns, medidos en acetona- $d_6$ , los hidrógenos bencílicos (H-5) resuenan como singlete.

4.3.7.2. *O,N*-Acetales acíclicos derivados de 5-FU y uracilo (Grupo 2.2).



**Figura 4.67.** Estructuras generales de los compuestos *O,N*-acetálicos acíclicos derivados de 5-FU (X = F) y uracilo (X = H) que se han preparado.

Los espectros  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN de los *O,N*-acetales acíclicos *N*-sulfonilo y *N*-acilo\* realizados a t.a., muestran la existencia de dos estructuras para cada compuesto, que coalescen cuando los espectros se registran a alta temperatura (véase espectro **MDG-612D**, Figuras A.12 y A.13 en Anexo a la Parte Teórica). Esto no ocurre en los compuestos en los que el nitrógeno *N1* se encuentra sin sustituir ( $\text{R}' = \text{H}$ ), que aparecen como estructuras únicas a t.a. Tanto en los compuestos sustituidos como no sustituidos, se observa la existencia de hidrógenos diastereotópicos en las posiciones 7 y 8. Únicamente en el compuesto **MDG-568D** que, como única diferencia con **MDG-708B**, presenta un grupo metoxilo en posición bencílica, no se observa tal diastereotopicidad (en las Figuras A.14 y A.15 del Anexo a la Parte Teórica, se muestran los espectros  $^1\text{H}$ -RMN de ambos compuestos y en la Tabla 4.70 se describen sus características espectroscópicas).

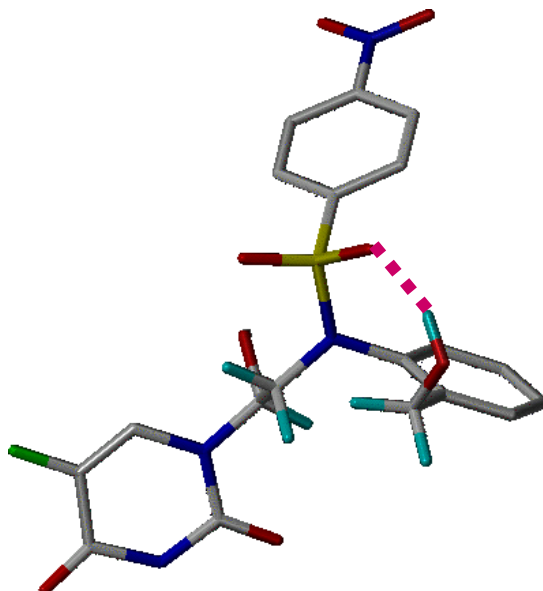


**Figura 4.68.** Comparación entre las estructuras de los compuestos **MDG-708B** y **MDG-568D**.

\* El estudio de los dos isómeros de los derivados acilo acíclicos es complicado dado que existe la posibilidad de la existencia de rotámeros a través del enlace N-CO (**MDG-310B** y **MDG-680G**).

Como posible explicación a estos fenómenos, se ha propuesto la existencia de conformaciones rígidas con rotación restringida a t.a., en las que el sustituyente sobre N1 adopta orientaciones determinadas, no convertibles entre sí, de modo que pueden observarse dos conformeros cuando N1 está trisustituido.

El estudio teórico conformacional de estas moléculas es complicado dado el elevado número de enlaces flexibles que presentan. La complejidad de estos estudios implica pocas garantías de éxito y, por tanto, no ha sido posible establecer las causas de la restricción conformacional observada. No se descarta la posibilidad de formación de enlaces de hidrógeno entre el grupo hidroxilo bencílico y otros átomos electronegativos de la molécula, como se muestra en la Figura 4.69.



**Figura 4.69.** Estudio conformacional sobre **MDG-612D**, realizado mediante HF 6-31-G\* optimizado con Gaussian. Se indica un posible enlace de hidrógeno entre el hidroxilo bencílico y el grupo sulfonilo.

Los derivados de 5-FU con unión a través de N1'' fueron identificados a partir de la señal de resonancia del hidrógeno acetálico H-9 como doble doblete, por acoplamiento H9-H8a, H9-H8b y H9-F (véase espectro <sup>1</sup>H-RMN de **MDG-612D**, Figura A.12 en Anexo a la Parte Teórica). En todos los derivados de 5-FU se ha observado acoplamiento con el átomo de flúor para los protones H-6'' y H-3'' y para los carbonos C-4'', C-5'' y C-6''.

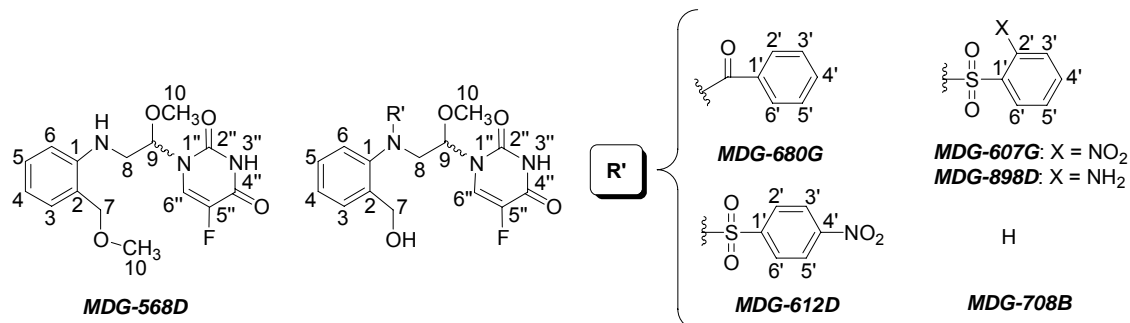


En el caso de los derivados de uracilo, la identificación de la unión a través de  $N1''$  se llevó a cabo a partir de la resonancia de  $H-6''$ , en forma de doblete (véase espectro  $^1H$ -RMN de **MDG-850D**, Figura A.16 en Anexo a la Parte Teórica).

No pudieron establecerse otras características espectroscópicas comparativas de unión  $N1''$  y  $N3''$  para los *O,N*-acetales abiertos, al no disponerse de compuestos acíclicos con unión  $N3''$ .

La estructura propuesta para **MDG-568D** (Figura 4.54) está basada en datos obtenidos mediante RMN. La presencia de una única estructura en los espectros de RMN registrados a t.a. y el desplazamiento químico del carbono C-8 (46.46 ppm), no afectado por el efecto  $-R$  de la agrupación amida, indican que el nitrógeno  $N1$  no está sustituido. En el compuesto con nitrógeno libre, **MDG-708B**, C-8 aparece a 46.50 ppm, mientras que en aquellos compuestos sustituidos con agrupaciones atrayentes de electrones sobre  $N1$ , aparece entre 54.11 y 51.47 ppm. Por otro lado, en **MDG-568D**, el carbono bencílico C-7 aparece a campos más bajos (74.06 ppm) que en el resto de los *O,N*-acetales acíclicos (entre 60.59 y 59.51 ppm en sulfonamidas, 64.19 ppm en la amina **MDG-708B** y 60.31 ppm en la benzamida **MDG-680G**), lo que apoya la idea de la unión del átomo de oxígeno bencílico a un grupo de mayor capacidad atrayente de electrones que el hidrógeno.

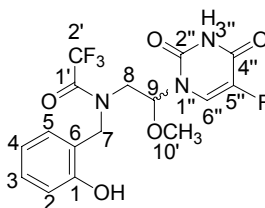
**Tabla 4.70.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H-RMN}$  (t.a) para los *O,N*-acetales abiertos, formados en la reacción entre 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas y 5-FU. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios (Hz).



$^1\text{H-RMN}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	H-8		H-9		H-7		H-6''						
	$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{9-8}$ $J_{9-8}$ $J_{9-F}$	$\delta$	$J_{7-7}$ $J_{7-OH}$	$\delta$	$J_{6''-F}$			
1	612D	3.98 dd	14.5 6.4	3.60 dd	14.5 6.2	5.70 ddd	6.3 6.3 1.5	4.73 m	-	4.73 m	-	7.35 d	5.5
2	<sup>m</sup> 612D	4.15 dd	14.0 5.8	3.51 dd	13.9 5.8	5.55 ddd	5.9 5.9 1.6	4.73 m	-	4.73 m	-	ND	ND
3	607G <sup>b</sup>	4.11 dd	15.2 6.8	3.92 dd	15.1 5.9	5.55 ddd	5.7 5.7 ND	4.57 d	13.0	4.47 d	-	7.31 d	6.0
4	<sup>m</sup> 607G <sup>b</sup>	4.13 dd	14.6 6.3	3.79 dd	14.7 5.9	5.49 dd	6.1 6.1 1.8	4.49 d	13.0	4.30 d	13.0	7.28 d	5.8
5	568D	3.48 dd*	- 4.9	3.48 dd <sup>a</sup>	- 4.9	5.74 ddd	5.0 5.0 1.7	4.44 s	-	4.44 s	-	7.46 d	5.9
6	680G <sup>c</sup>	4.52 m	- -	3.57 dd	14.2 4.7	5.84 pt	5.5 4.8 ND	4.52 m	-	4.35 d	12.8	ND	ND
7	<sup>m</sup> 680G <sup>c</sup>	4.52 m	- -	3.77 dd	14.2 7.1	5.84 pt	5.5 4.8 ND	4.43 d	13.2	4.18 d	13.2	ND	ND
8	708B <sup>c</sup>	3.48 m	- -	3.48 m	- -	5.73 m	- -	4.61 d	12.8	4.55 d	12.3	7.44 d	5.8
9	898D <sup>d</sup>	4.02 m	- -	3.94 dd	15.1 6.4	5.76 ddd	6.3 6.3 1.8	4.67 dd	13.7 5.9	4.64 dd	13.5 6.0	7.65 d	6.6
10	<sup>m</sup> 898D <sup>d</sup>	4.02 m	- -	3.97 dd	14.6 6.0	5.61 ddd	6.0 6.0 1.8	4.48 m	-	4.48 m	-	7.59 d	6.5

ND: Dato no determinado. <sup>m</sup>Confórmero minoritario. <sup>a</sup>Es observable la constante de acoplamiento entre los hidrógenos H-8 y el grupo NH. <sup>b</sup>Espectro registrado en cloroformo-*d* al que se le añadieron unas gotas de acetona-*d*<sub>6</sub>. <sup>c</sup>Espectro registrado en cloroformo-*d* al que se le añadieron unas gotas de metanol-*d*<sub>4</sub>. <sup>d</sup>Espectros registrados en acetona-*d*<sub>6</sub>.

**Tabla 4.71.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H-RMN}$  (t.a) para el compuesto *O,N*-acetálico abierto **MDG-310B**. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios (Hz).



**MDG-310B**

$^1\text{H-RMN}$ (Metanol- $d_4$ )		H-8				H-9			H-7		H-6''		
		$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{9-8}$ $J_{9-8}$ $J_{9-F}$	$\delta$	$J_{7-7}$	$\delta$	$J_{7-7}$	$\delta$	$J_{6''-F}$
1	<b>310B</b>	3.77 m	- -	3.61 dd	14.2 4.4	5.89 ddd	ND ND ND	4.73 m	- -	4.73 m	- -	7.67 d	6.3
2	<sup>m</sup> <b>310B</b>	3.77 m	- -	3.61 dd	14.2 4.4	5.89 ddd	ND ND ND	4.73 m	- -	3.77 m	- -	7.73 m	6.2

<sup>m</sup> Confórmero minoritario. ND: Dato no determinado.

**Tabla 4.72.** Datos obtenidos mediante  $^{13}\text{C}$ -RMN (t.a) para los *O,N*-acetales abiertos, formados en la reacción entre 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas y 5-FU. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en herzios (Hz).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )		C-8	C-9	C-7	C-2''	C-4''		C-5''		C-6''	
		$\delta$	$\delta$	$\delta$	$\delta$	$\delta$	$J_{4''-F}$	$\delta$	$J_{5''-F}$	$\delta$	$J_{6''-F}$
1	<b>612D</b>	54.11 s	84.82 s	60.59 s	150.54 s	156.77	26.4	141.46	239.0	122.45	33.7
2	<sup>m</sup> <b>612D</b>	53.44 s	84.75 s	60.52 s	149.72 s	156.58	26.5	141.28	238.4	122.12	33.9
3	<b>607G<sup>a</sup></b>	54.04 s	84.71 s	59.51 s	150.02- 148.21 s	156.62	26.9	141.18	225.0	123.30	33.9
4	<sup>m</sup> <b>607G<sup>a</sup></b>	53.33 s	84.14 s	59.51 s	150.02- 148.21 s	156.62	26.9	141.04	225.0	122.99	34.0
5	<b>568D</b>	46.46 s	86.02 s	74.06 s	149.30- 146.56 s	156.52	27.3	140.79	237.6	123.43	33.3
6	<b>680G<sup>b</sup></b>	51.86 s	84.26 s	60.31 s	150.42- s	157.60	35.0	141.15	315.4	123.57	44.7
7	<sup>m</sup> <b>680G<sup>b</sup></b>	51.47 s	83.85 s	60.31 s	150.29 s	157.41	35.3	140.91	316.2	123.04	44.2
8	<b>708B<sup>b</sup></b>	46.50 s	85.90 s	64.19 s	150.06- 146.38 s	ND <sup>c</sup>	ND	141.09	236.9	123.27	33.4
9	<b>898D<sup>a</sup></b>	53.35 s	84.87 s	59.56 s	ND ND	ND	ND	ND	ND	123.17	33.8
10	<sup>m</sup> <b>898D<sup>a</sup></b>	53.35 s	84.31 s	59.56 s	ND ND	ND	ND	ND	ND	123.10	33.8

ND: Dato no determinado. <sup>m</sup>Confórmero minoritario. <sup>a</sup>Espectro registrado en acetona- $d_6$ . <sup>b</sup>Espectro registrado en cloroformo- $d$  al que se le añadieron unas gotas de metanol- $d_4$ .

**Tabla 4.73.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H}$ -RMN (t.a) para el compuesto *O,N*-acetálico abierto **MDG-310B**. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios (Hz).

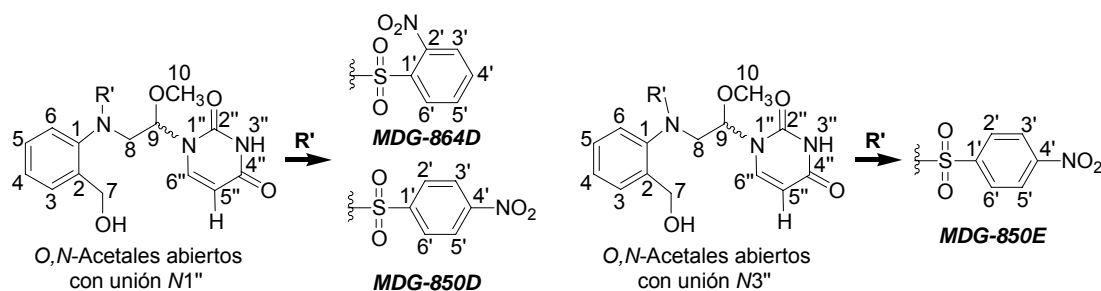
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		C-8	C-9	C-7	C-2''	C-4''		C-5''		C-6''	
		$\delta$	$\delta$	$\delta$	$\delta$	$\delta$	$J_{4'',\text{F}}$	$\delta$	$J_{5'',\text{F}}$	$\delta$	$J_{6'',\text{F}}$
1	310B	ND	84.77	ND	ND	159.33	35.8	142.32	233.4	124.64	33.0
		ND	s	ND	ND	d	-	d	-	d	-
2	<sup>m</sup> 310B	ND	86.16	ND	ND	159.33	35.8	142.62	233.4	124.33	ND
		ND	s	ND	ND	d	-	d	-	d	-

<sup>m</sup>Confórmero minoritario. ND: Dato no determinado.

En los compuestos *O,N*-acetales abiertos, los carbonos bencílicos aparecen a campos más altos que en los correspondientes *O,N*-acetales cíclicos (la diferencia entre ambos es del orden de 10 ppm).

Todos los compuestos presentan espectros  $^{13}\text{C}$ -RMN muy similares. Los valores más extremos, en el disolvente  $\text{CDCl}_3$ , se encuentran en los carbonos C-8, más apantallados en los compuestos con nitrógeno libre (filas 5 y 8, Tabla 4.72), en C-7 de **MDG-568D** (fila 5, Tabla 4.72), que es el único compuesto con hidroxilo bencílico no libre y en todas las constantes de acoplamiento del compuesto **MDG-680G**, única amida carboxílica (filas 6-7, Tabla 4.72).

**Tabla 4.74.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H-RMN}$  (t.a) para los *O,N*-acetales abiertos, formados en la reacción entre 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas y uracilo. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ), en hercios (Hz).



$^1\text{H-RMN}$		H-8		H-9		H-7		H-5''		H-6''					
		$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{9-8}$ $J_{9-8}$	$\delta$	$J_{7-7}$ $J_{7-OH}$	$\delta$	$J_{5''-6''}$ $J_{5''-NH}$	$\delta$	$J_{6''-5''}$ $J_{6''-NH}$		
1	<b>850D</b> <sup>a</sup>	3.99	14.5	3.62	14.5	5.71	ND	4.67	ND	4.67	ND	5.84	8.1	7.32	8.1
		dd	6.2	dd	6.6	m	ND	m	ND	m	ND	d	-	d	-
2	<sup>m</sup> <b>850D</b> <sup>a</sup>	4.11	14.0	3.58	13.9	5.51	5.9	4.82	12.8	4.67	ND	5.71	ND	7.23	8.0
		dd	6.2	dd	5.6	t	5.9	d	-	m	ND	m	ND	d	-
3	<b>850E</b> <sup>b</sup>	4.52	14.3	4.23	14.2	ND	ND	4.71	-	4.71	-	ND	ND	ND	ND
		dd	6.3	dd	5.4	ND	ND	m	-	m	-	ND	ND	ND	ND
4	<sup>m</sup> <b>850E</b> <sup>b</sup>	4.41	14.9	4.33	14.8	ND	ND	4.71	-	4.71	-	ND	ND	ND	ND
		dd	6.5	dd	5.2	ND	ND	m	-	m	-	ND	ND	ND	ND
5	<b>864D</b> <sup>c</sup>	4.12	-	4.12	-	5.69	6.3	4.69	13.6	4.39	13.7	5.65	8.0	7.41	8.0
		m	-	m	-	t	6.3	dd	4.2	dd	4.1	dd	1.8	d	-
6	<sup>m</sup> <b>864D</b> <sup>c</sup>	4.12	-	4.12	-	5.60	6.2	4.55	13.4	4.29	13.5	5.56	8.2	7.50	8.2
		m	-	m	-	t	6.2	dd	4.3	dd	4.0	dd	1.8	d	-

<sup>m</sup>Confórmero minoritario. ND: Dato no determinado. <sup>a</sup>Espectro registrado en cloroformo-*d*. <sup>b</sup>Espectro registrado en acetona-*d*<sub>6</sub> a la que se añadieron unas gotas de metanol-*d*<sub>4</sub>. <sup>c</sup>Espectro registrado en acetona-*d*<sub>6</sub>.

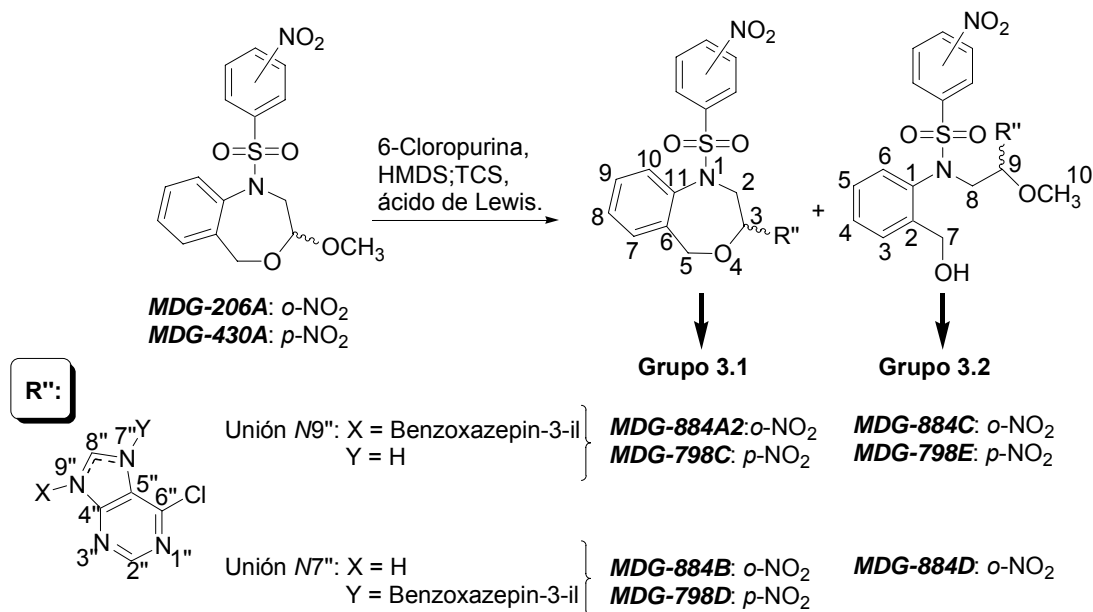
**Tabla 4.75.** Datos obtenidos mediante  $^{13}\text{C-RMN}$  (t.a) para los *O,N*-acetales abiertos, formados en la reacción entre 1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas y uracilo. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm).

$^{13}\text{C-RMN}$ (Acetona- <i>d</i> <sub>6</sub> )		$\delta$ (ppm)						
		C-8	C-9	C-7	C-2''	C-4''	C-5''	C-6''
1	<b>850D</b>	53.92	84.32	59.87	151.33-150.64	162.47	102.82	139.06
2	<sup>m</sup> <b>850D</b>	53.75	83.75	59.87	151.33-150.64	ND	102.90	138.89
3	<b>864D</b>	54.31	84.13	59.52	151.40-148.25	162.47	102.92	139.08
4	<sup>m</sup> <b>864D</b>	53.51	83.61	59.52	151.40-148.25	162.47	102.92	138.88

<sup>m</sup>Confórmero minoritario.

#### 4.3.8. Reacción de (RS)-3-metoxi-N-nitrobencénsulfonil-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con purinas mediada por ácidos de Lewis.

La condensación de los compuestos sulfonílicos **MDG-206A** y **MDG-430A** con la 6-cloropurina ha proporcionado los *O,N*-acetales cíclicos (Grupo 3.1) y acíclicos (Grupo 3.2) que se indican en el Esquema 4.76, los cuales son los derivados correspondientes a la unión de la base nitrogenada a través de sus posiciones *N7''* o *N9''*.



**Esquema 4.76.** Compuestos *O,N*-acetálicos obtenidos en la reacción entre **MDG-206A** o **MDG-430A** y la 6-cloropurina.

Las reacciones entre la 6-cloropurina y los sustratos **MDG-206A** y **MDG-430A**, se llevaron a cabo aplicando las condiciones optimizadas para la reacción entre **MDG-430A** y 5-FU, que se describieron en el apartado 4.3.3. Se han utilizado las mismas proporciones de los reactivos, cambiándose la base nitrogenada a 6-cloropurina. Como disolvente se utilizó CH<sub>3</sub>CN anhidro. En la Tabla 4.77 se resumen los resultados obtenidos.

Tabla 4.77. Resultados de las reacciones entre **MDG-260A** o **MDG-430A** y la 6-cloropurina.

Producto de partida	Tiempo de reacción	Rendimientos	
		Total ciclos	Total abiertos
<b>MDG-206A</b>	69h	34% <b>N9''</b> 2% <b>N7''</b> 32%	13% <b>N9''</b> 7% <b>N7''</b> 6%
<b>MDG-430A</b>	67h	17% <b>N9''</b> 2% <b>N7''</b> 15%	22% <b>N9''</b> 22% <b>N7''</b> 0%

Las reacciones se desarrollaron en presencia de SnCl<sub>4</sub> (4.0 equiv.), TCS (4.0 equiv.) y HMDS (4.0 equiv.), en CH<sub>3</sub>CN anhidro a 50 °C.

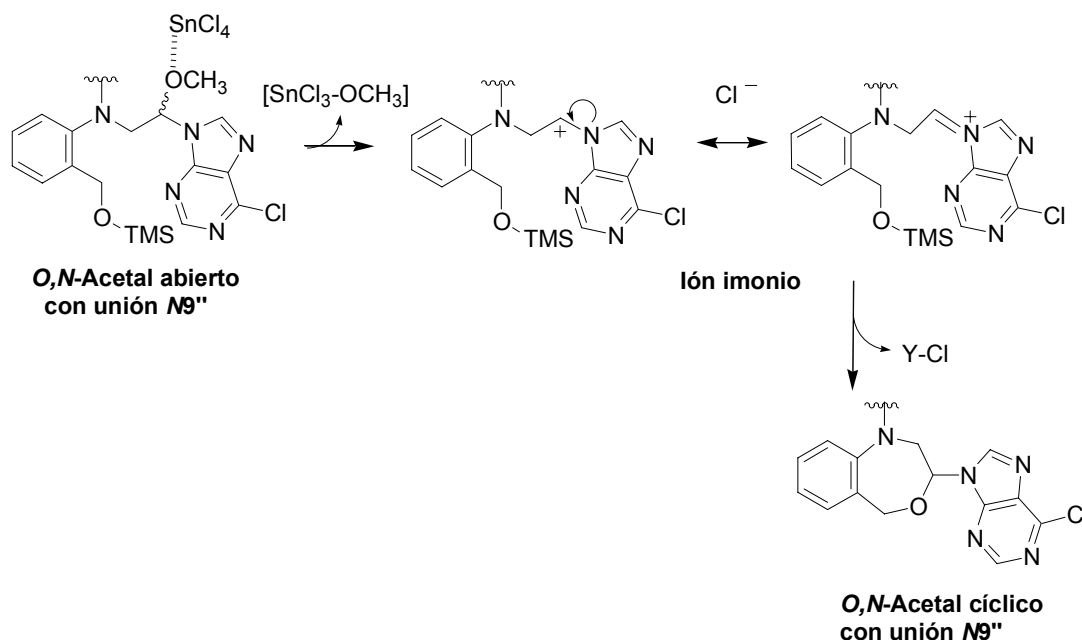
La unión de la purina en los productos finales cíclicos, se establece de forma regioselectiva a través de la posición **N7''** (existen antecedentes bibliográficos de la obtención selectiva de producto con unión **N7''** en reacciones de formación de nucleósidos, cuando el disolvente utilizado es CH<sub>3</sub>CN<sup>28,29</sup>). Sin embargo, en el caso de los productos abiertos, únicamente se observa regioselectividad en los *O,N*-acetales derivados de **MDG-430A**, con unión **N9''**. No se han aislado productos de unión a través de la posición **N3''** de las purinas.

Los rendimientos obtenidos en la condensación de cada uno de estos sustratos con la 6-cloropurina, han resultado muy diferentes. Mientras que a partir de **MDG-206A** se ha obtenido un mayor rendimiento de productos cíclicos que de acíclicos (34% y 13%, respectivamente), a partir de **MDG-430A** han resultado los acíclicos los productos mayoritarios (con un rendimiento del 22%, frente al 17% de cíclicos). En el caso de **MDG-430A**, no se ha encontrado producto abierto con unión **N7''**, mientras que cuando se partió de **MDG-206A**, los productos abiertos resultantes con la unión a través de **N7''** y **N9''** se han obtenido en proporciones iguales. Los rendimientos totales en la formación de productos se han situado próximos al 45% en ambos casos.

Las proporciones de los productos obtenidos, podría ser consecuencia de diversos procesos que podrían afectar de forma distinta a los compuestos con diferentes características estructurales, los cuales ya se han indicado en apartados anteriores. Estos son:

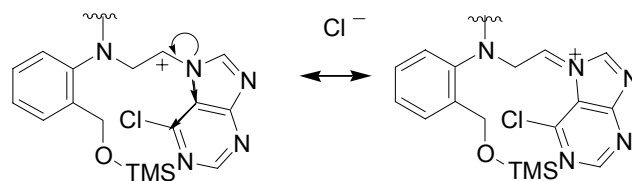


1. Transposiciones en los compuestos con unión  $N7''$ , mediante la coordinación del ácido de Lewis sobre la base nitrogenada, para dar lugar a la formación de productos con unión  $N9''$  (véase Apartado 4.3.2 sobre regioselectividad de estas reacciones). Este proceso no parece tener lugar en los productos cíclicos, aunque podría darse en los acíclicos.
2. Ciclación de  $O,N$ -acetales abiertos por ataque nucleófilo intramolecular del hidroxilo bencílico activado, como se describió en el Esquema 4.37 (ruta **E**). En un esquema análogo, la ciclación de  $O,N$ -acetales abiertos derivados de purina cursaría a través de la formación del ión imonio acíclico que se indica en la Figura 4.78.



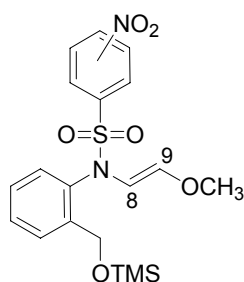
**Figura 4.78.** Mecanismo propuesto para la ciclación de  $O,N$ -acetales con unión a través de  $N9''$ .

La cesión del par electrónico del nitrógeno acetálico para la formación del ión imonio y la subsiguiente estabilización del ión carbenio intermedio, se podría ver comprometida en el caso de los compuestos con unión  $N7''$ , debido al efecto inductivo negativo ejercido por el átomo de cloro (Figura 4.79).



**Figura 4.79.** Ión imonio intermedio en el proceso de ciclación de *O,N*-acetales con unión a través de *N7''*.

#### 4.3.8.1. Otros productos obtenidos en la reacción de *MDG-430A* y *MDG-206A* con la 6-cloropurina.



***MDG-798B*:** *p*-NO<sub>2</sub>  
***MDG-884A3*:** *o*-NO<sub>2</sub>

Los productos ***MDG-798B*** y ***MDG-884A3*** también se obtuvieron junto a los *O,N*-acetales finales, en las reacciones de condensación de los compuestos ***MDG-430A*** y ***MDG-206A*** con la 6-cloropurina. Ambos se forman con rendimientos inferiores al 10%, pero la importancia de estos compuestos reside en la información que podrían aportar sobre el mecanismo de la formación de los *O,N*-acetales derivados de purina, dado que ninguna de estas olefinas ha sido aislada en las reacciones con pirimidinas.

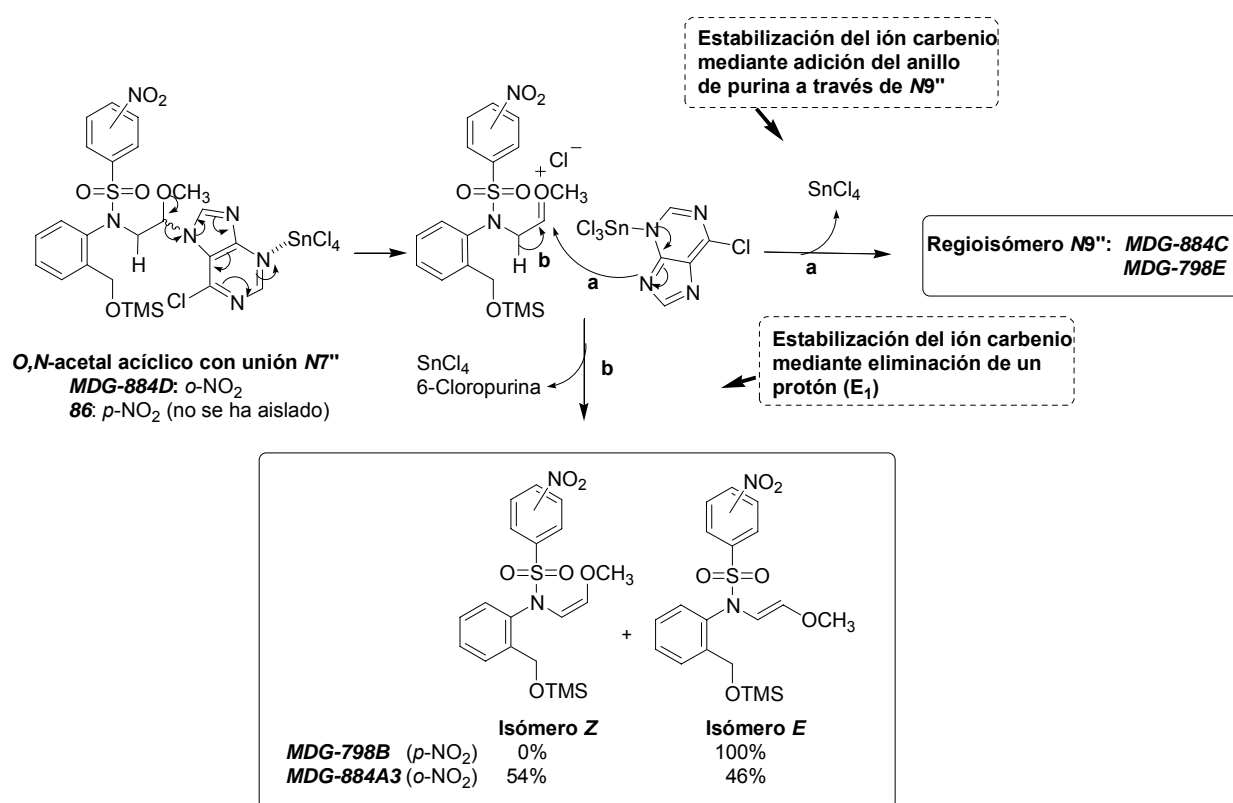
Estos compuestos podrían formarse en un proceso que compartiera mecanismo con la reordenación de los regioisómeros *N7''* a *N9''*, *via* una eliminación de la base nitrogenada motivada por una coordinación del ácido de Lewis a las posiciones ricas en electrones de la misma y que podría tener lugar a través de un mecanismo E<sub>1</sub> o bien, E<sub>2</sub>. La eliminación de purina será más fácil en los compuestos que presenten unión *N7''*, tautómeros de mayor energía que los correspondientes a una unión *N9''* y la formación de las olefinas estaría justificada por la estabilidad del sistema electrónico resultante, altamente conjugado.

Según un mecanismo E<sub>1</sub>, la eliminación del anillo de purina daría lugar la formación de iones oxocarbenio de los sustratos y estos podrían, bien atacar las posiciones nucleófilas de las purinas para dar lugar a la formación de *O,N*-acetales *N9''* o bien, eliminar un protón α de modo que se establezca el ión oxocarbenio mediante la formación de un doble enlace (véase Figura 4.80). La progresión del intermedio catiónico de una u otra forma, podría depender de la velocidad con que tenga lugar

cada uno de los procesos. Este mecanismo, estaría de acuerdo con la mezcla de isómeros *Z/E* que se obtiene para **MDG-884A3** (54% y 46%, respectivamente).

En el caso de que tuviera lugar un proceso  $E_2$ , la eliminación de la purina ocurriría de forma simultánea a la del hidrógeno en posición  $\alpha$  y explicaría la exclusividad en la formación del isómero  $E^*$  que se ha observado para **MDG-798B**<sup>41</sup>.

En la Figura 4.80 se representa el posible mecanismo  $E_1$  de formación de olefinas a partir de los *O,N*-acetales acíclicos.



**Figura 4.80.** Mecanismo  $E_1$  para la formación de olefinas a partir de los *O,N*-acetales acíclicos.

La coordinación del ácido de Lewis a la base nitrogenada y la eliminación de la purina, debería ser un proceso posible tanto sobre aquellos *O,N*-acetales con estructura cíclica, como con estructura abierta; sin embargo, no se han aislado las olefinas correspondientes a la eliminación en compuestos cíclicos. Este resultado coincide con

\* La asignación de los isómeros se ha realizado a partir del valor observado para la constante de acoplamiento de los protones olefinicos ( $J_{8,9}$ ) en cada una de las estructuras.

la aparente ausencia de reordenaciones  $N7'' \rightarrow N9''$  en los mismos, deducida del predominio del regioisómero cíclico con unión  $N7''$ .

Según lo descrito, **MDG-798B** se formaría preferentemente a partir del *O,N*-acetal abierto con unión  $N7''$  (**86**), que no se ha aislado, mientras que **MDG-884A3** lo haría a partir de **MDG-884D**, el cual se pudo aislar con un 6% de rendimiento.

#### 4.3.8.2. Comparación de los resultados obtenidos a partir de 6-cloropurina y a partir de pirimidinas, en las reacciones de condensación con **MDG-206A** y **MDG-430A**.

Si comparamos los resultados obtenidos al utilizar la 6-cloropurina con aquellos que se obtuvieron con las pirimidinas 5-FU y uracilo, observamos:

1. La reactividad de la 6-cloropurina, estudiada en las mismas condiciones, se sitúa próxima a la del 5-FU y por debajo de la del uracilo, con rendimientos totales en la obtención de productos, de 47 y 45% a partir de **MDG-206A** y **MDG-430A**, respectivamente.

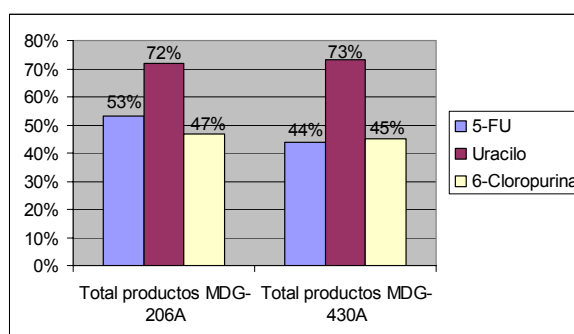


Figura 4.81.

2. Si se compara la formación de productos cíclicos y abiertos a partir de cada benzoxazepina, los resultados parecen depender en una mayor medida del sustrato de partida, cuando se utiliza la 6-cloropurina que cuando los nucleófilos implicados en la reacción son las pirimidinas 5-FU o uracilo. Esto podría ser debido al mayor tamaño del anillo de purina

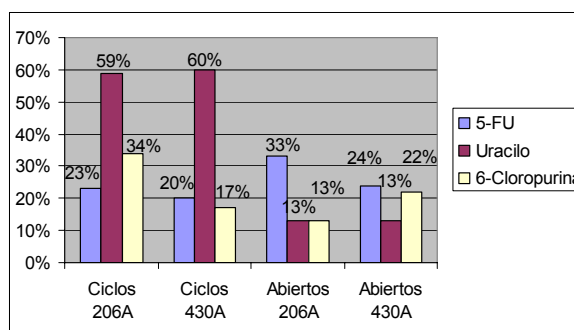
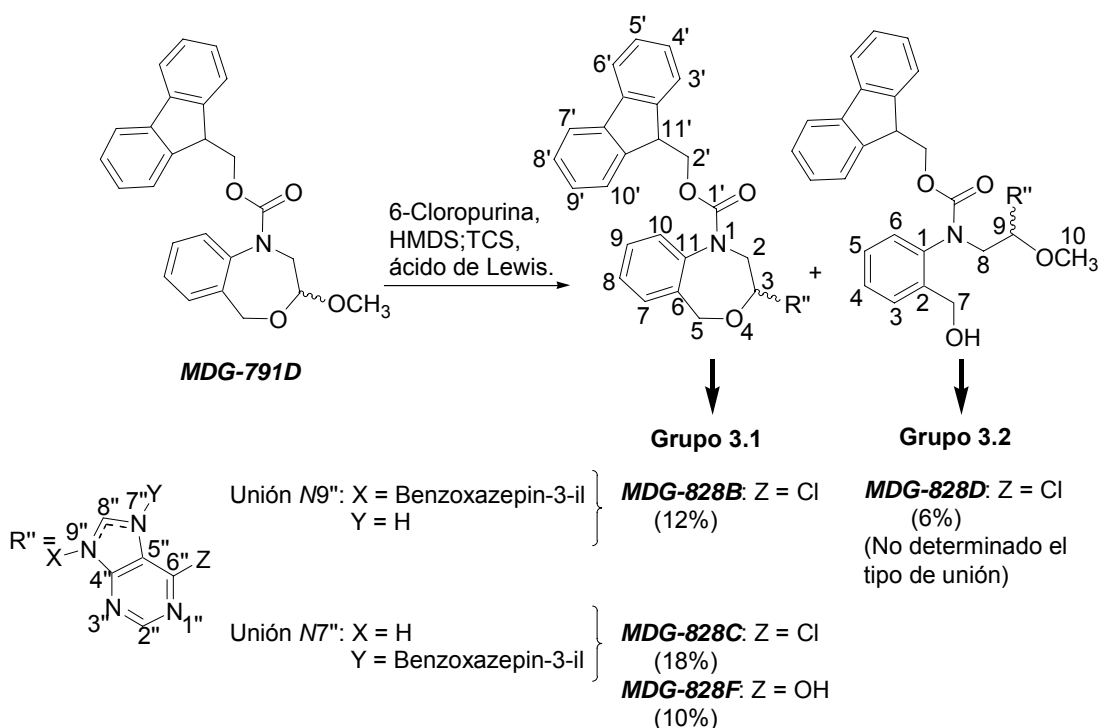


Figura 4.82.

comparado con las pirimidinas, que lo hace más sensible a factores estéricos, tales como la disposición espacial del sustrato.

#### 4.3.9. Reacción de la (RS)-3-metoxi-N-(9H-9-fluorenilmetoxicarbonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-791D) con purinas, mediada por ácidos de Lewis.

La condensación del compuesto **MDG-791D** con la 6-cloropurina ha proporcionado los *O,N*-acetales cíclicos (Grupo 3.1) y acíclicos (Grupo 3.2) que se indican en el Esquema 4.83, que son productos finales con la unión de la base nitrogenada a través de sus posiciones *N7''* y *N9''*.



**Esquema 4.83.** Compuestos *O,N*-acetálicos obtenidos en la reacción entre **MDG-791D** y la 6-cloropurina.

La reacción se llevó a cabo aplicando las condiciones optimizadas, descritas en el apartado 4.3.3, en medio de  $\text{CH}_3\text{CN}$  anhidro.

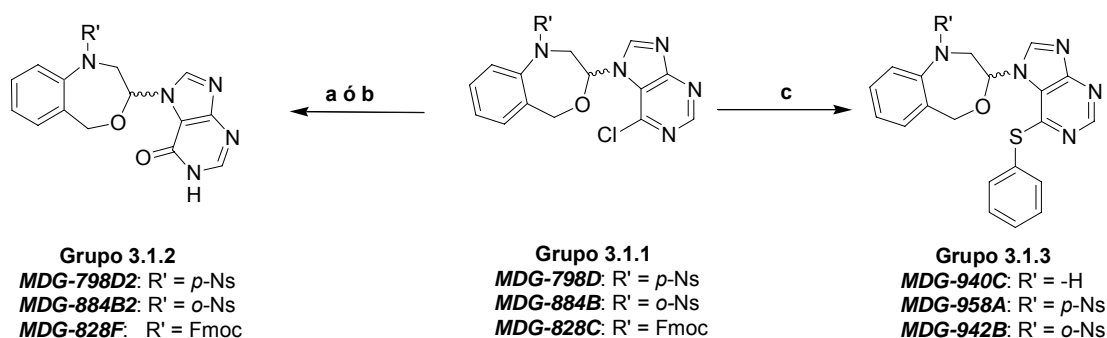
El rendimiento total en la formación de productos es muy parecido al obtenido en las reacciones de **MDG-206A** y **MDG-430A** con la 6-cloropurina, situándose próximo al 45%. El porcentaje de productos cíclicos derivados de 6-cloropurina con unión *N7''* que

se ha obtenido, es aproximadamente igual que el de unión N9'', sin embargo, el compuesto con 6-purinona **MDG-828F**, podría formarse a partir del cloroderivado **MDG-828C** y ser así causa de una disminución en el rendimiento de este último. La formación de **MDG-828F** se discutirá en el Apartado 4.3.10.1.b. Los espectros <sup>1</sup>H-RMN de estos compuestos se muestran en las Figuras A.21 y A.22 en el Anexo a la Parte Teórica.

Se ha obtenido una menor proporción de productos abiertos que de cíclicos y no se ha podido determinar el tipo de unión que presenta el único compuesto abierto que se ha aislado, **MDG-828D**.

#### 4.3.10. Modificación estructural de los O,N-acetales condensados con purinas. Sustitución del átomo de cloro en posición 6'' de los anillos de purina.

Se ha encontrado que el átomo de cloro situado en posición C-6'' de los anillos de purina es susceptible de sufrir sustitución por diversos nucleófilos y, que esta susceptibilidad, es mayor en los casos en que la purina se une al carbono acetálico a través de su nitrógeno N7''. Mediante estrategias distintas, se han obtenido los compuestos resultantes de sustitución del átomo de cloro que se describen en la Figura 4.84.



(a) (i) DMSO-*d*<sub>6</sub> / D<sub>2</sub>O (20 mM); (ii) DMSO-*d*<sub>6</sub> (0.77 M) / H<sub>2</sub>O. (b) SnCl<sub>4</sub>, TMSCl, HMDS. (c) PhSH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF.

**Figura 4.84.** Compuestos obtenidos mediante sustitución nucleófila del átomo del cloro en posición C-6'' del anillo de purina.

#### 4.3.10.1. Sustitución del átomo de cloro en 6'' del anillo de purina por un grupo hidroxilo (Grupos 3.1.2).

##### 4.3.10.1.a. Sustitución a pH neutro en presencia de DMSO.

##### 4.3.10.1.a.i. O,N-Acetales cíclicos.

El cambio de cloro por hidroxilo ocurrió de forma completa en los compuestos O,N-acetálicos con unión N7'' y el grupo Ns como sustituyente R', cuando estos permanecieron en disolución en DMSO- $d_6$ /D $_2$ O (0.03% m/v, 16 mM D $_2$ O), a 4 °C, durante un tiempo igual o superior a 1 semana. Sin embargo, los compuestos con unión N9'' se mantuvieron inalterados en las mismas condiciones (el seguimiento de los cambios fue llevado a cabo mediante experimentos de  $^1$ H-RMN, véanse Figuras A.19 y A.20 en Anexo a la Parte Teórica).

Con el objetivo de esclarecer el proceso que da lugar a dicho cambio, se prepararon disoluciones de los compuestos con unión N7'', **MDG-884B** y **MDG-798D**, en mezcla DMSO- $d_6$  (5% v/v, 0.71 M)/H $_2$ O\* y se comparó la evolución de los mismos con aquellos disueltos en DMSO- $d_6$  (0.03% de H $_2$ O/D $_2$ O). El seguimiento de las modificaciones, en este caso, se llevó a cabo mediante CCF, por lo que no se trata de un estudio cuantitativo. Los compuestos permanecieron a t.a., durante periodos de tiempo prolongados y se observó que, al aumentar la proporción de agua en el medio, el cambio Cl  $\rightarrow$  OH tiene lugar a mayor velocidad. Los resultados se hallan expuestos en la Tabla 4.85.

---

\* La adición de un 5% de DMSO fue necesaria por motivos de solubilidad.

**Tabla 4.85.** Productos resultantes de la sustitución de cloro por hidroxilo, a partir de *O,N*-acetales cíclicos con unión *N7''* y *R'* = *Ns*.

Producto de partida	Producto final	Sistema de reactivos	Tiempo	Temperatura
<b>MDG-798D</b> (27 mM)	<b>MDG-798D2</b> (100%)	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O (16 mM)	30 días	4 °C
<b>MDG-798D</b> (10 μM)	<b>MDG-798D</b> (*)	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O (16 mM)	6 días	t.a.
<b>MDG-798D</b> (10 μM)	<b>MDG-798D</b> (*)	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (0.71 M), H <sub>2</sub> O	6 días	t.a.
<b>MDG-884B</b> (27 mM)	<b>MDG-884B2</b> (100%)	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O (16 mM)	7 días	4 °C
<b>MDG-884B</b> (10 μM)	<b>MDG-884B2</b> (*)	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O (16 mM)	5 días	t.a.
<b>MDG-884B</b> (10 μM)	<b>MDG-884B2</b> (*)	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (0.71 M), H <sub>2</sub> O	44 h	t.a.

\* Apreciación cualitativa mediante CCF.

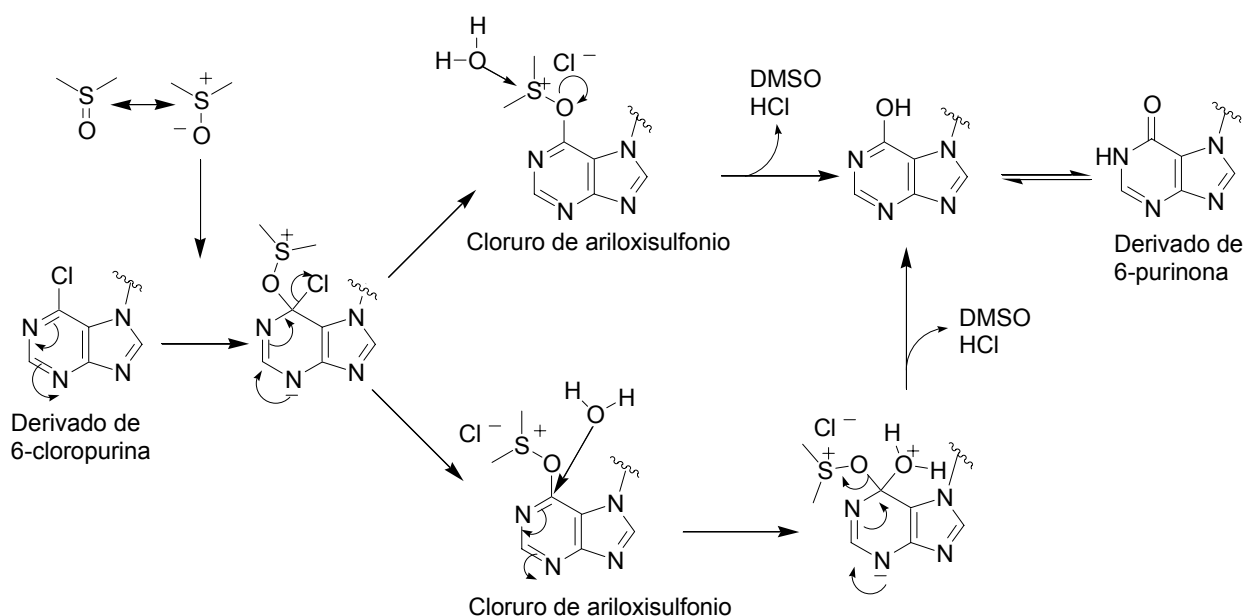
La conversión en derivado de 6-purinona, ha tenido lugar a mayor velocidad sobre el compuesto **MDG-884B**, con sustituyente *R'* = *o*-*Ns*, que sobre **MDG-798D**, con *R'* = *p*-*Ns*.

El proceso propuesto para dar explicación a la sustitución del átomo de cloro en medio neutro y en presencia de DMSO-*d*<sub>6</sub>, discurre *via* la formación de una sal de ariloxisulfonio, de la forma indicada en el Esquema 4.86. Dicha sal se formaría mediante el desplazamiento nucleófilo del átomo de cloro por una molécula de DMSO-*d*<sub>6</sub> y constituiría un intermedio susceptible de ataque, incluso por nucleófilos débiles como el agua (D<sub>2</sub>O o H<sub>2</sub>O). Este ataque podría ir dirigido sobre la posición 6'' de la sal o bien, alternativamente, sobre el átomo de azufre con carga formal positiva. Ambas posibilidades han sido descritas previamente en estudios sobre hidrólisis de sales de alcoxisulfonio, según los cuales, el primer proceso sucede principalmente *via* S<sub>N</sub>1 mientras que el segundo sigue un mecanismo S<sub>N</sub>2. De este modo, el ataque sobre el átomo de azufre es el único que tendría lugar en el caso de que el carbono electrófilo fuera primario o secundario, mientras que, si se tratara de un carbono terciario, alílico o bencílico, serían posibles ambos procesos<sup>42</sup>.



Así, las moléculas de agua actuarían como fuente de oxígeno para la oxidación mientras que el DMSO sería el catalizador del proceso y se regeneraría al evolucionar el mismo. Esto explicaría que, al aumentar la concentración de agua en el medio, se incrementa la velocidad de la transformación, mientras que serán suficientes trazas de DMSO para garantizar la eficacia de la misma. Por otro lado, el DMSO es también estabilizador de los iones que intervienen en el proceso.

Existen referencias bibliográficas sobre la activación de los anillos de 6-cloropurina para la sustitución nucleófila del átomo de cloro, de forma análoga a la descrita, utilizando trimetilamina para formar sales de amonio cuaternarias que son posteriormente tratadas en DMF con determinados nucleófilos<sup>43</sup>.



**Esquema 4.86.** Proceso de sustitución de cloro por hidroxilo mediado por DMSO.

En bibliografía se pueden encontrar estudios sobre la velocidad de formación e hidrólisis de diversas sales de alcoxisulfonio en los que, a pesar de que en algunas ocasiones estas sales son tan estables que han podido aislarse, para la mayoría de los casos se ha descrito una hidrólisis fácil de las mismas, que pueden llevarla a cabo incluso las trazas de agua que captan los disolventes<sup>42</sup>.

Como se ha indicado anteriormente, se ha encontrado una mayor facilidad para el cambio de cloro por hidroxilo en los productos con unión N7'' de la purina, habiendo permanecido inalterados los compuestos **MDG-884A2** y **MDG-798C** (27 mM), con unión

N9'', durante aproximadamente un mes en DMSO-*d*<sub>6</sub> a 4 °C (0.03% m/V de H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O). La mayor electrofilia de la posición C-6'' en la unión N7'', podría estar debida al efecto inductivo negativo ejercido por el anillo benzoxazepínico, del que está situada a tres enlaces de distancia.

La importancia del efecto –I ejercido por el anillo de benzoxazepina unido a cualquiera de las posiciones N7'' o N9'', se refleja en el desplazamiento químico del protón H-8''. Éste aparece a campos más altos que H-2'' en el espectro <sup>1</sup>H-RMN de la 6-cloropurina (**6-CP**) y, sin embargo, resuena a campos más bajos que éste cuando dicha base nitrogenada se une a los restos benzoxazepínicos. Igualmente, existe un desapantallamiento considerable del protón H-8'' al unirse al nitrógeno N7'' de la hipoxantina (**H**), el anillo de benzoxazepina (en la Tabla 4.87 se muestran estos datos).

**Tabla 4.87.** Desplazamientos químicos (ppm) de los protones H-2'' y H-8'' en la 6-cloropurina, la hipoxantina y los *O,N*-acetales derivados de ambas bases, medidos en DMSO-*d*<sub>6</sub>.

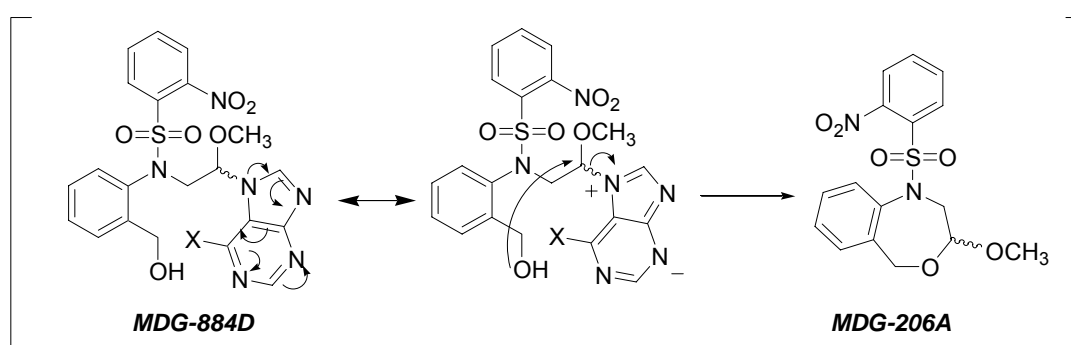
	<b>6-CP</b> <sup>44</sup>	<b>798C</b>	<b>798D</b>	<b>884A2</b>	<b>884B</b>	<b>798E</b>	<sup>m</sup> <b>798E</b>	<b>884C</b>	<sup>m</sup> <b>884C</b>	<b>H</b> <sup>44</sup>	<b>798D2</b>	<b>884B2</b>
<b>H2''</b>	<b>8.80</b>	8.90	8.95	8.81	8.86	8.77	8.72	8.90	8.86	<b>8.03</b>	8.02	8.04
<b>H8''</b>	<b>8.73</b>	8.95	9.04	8.89	9.00	8.90	8.85	8.99	8.99	<b>8.17</b>	8.45	8.55

Se ha observado que el átomo de cloro en la 6-cloropurina sin sustituir, es estable en disoluciones DMSO/agua a t.a., lo que constituye un dato más que apoya la importancia del efecto –I del anillo benzoxazepínico sobre la reactividad de C-6''.

Por otro lado, se prepararon disoluciones 28 mM de los compuestos **MDG-828B** y **MDG-828C** (R' = Fmoc) en DMSO-*d*<sub>6</sub> (0.03% de D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O) que se llevaron hasta 60 °C y a esa temperatura se registraron sus espectros <sup>1</sup>H-RMN, sin observarse descomposición de los productos. Posteriormente, se confirmó mediante espectroscopía de masas, la integridad de los compuestos con la prevalencia del cloro. El producto de sustitución de dicho átomo por hidroxilo, **MDG-828F** (Figura 4.83), se obtuvo en presencia de un ácido de Lewis, como se describirá en el Apartado 4.3.10.1.b.

4.3.10.1.a.ii. *O,N*-Acetales acíclicos.

El compuesto abierto con unión *N7''*, **MDG-884D** (38 mM), evolucionó de forma prácticamente cuantitativa, tras un mes en DMSO-*d*<sub>6</sub> (0.03 % H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O) a 4 °C, hasta el compuesto de partida **MDG-206A**, cuyas señales comenzaron a observarse en el espectro <sup>1</sup>H-RMN aproximadamente una semana después de la preparación de la disolución. Como explicación a la formación de **MDG-206A**, se ha propuesto un ataque nucleófilo del grupo hidroxilo bencílico sobre la posición acetálica, que estaría favorecido en el medio polar DMSO (véase Esquema 4.88) y que podría tener lugar antes o después de la sustitución del cloro por hidroxilo. En el caso de que tenga lugar después, podría estar favorecido por la protonación de la base nitrogenada a partir del ácido clorhídrico liberado en el proceso de sustitución (Esquema 4.86). Esto estaría apoyado por el hecho de que la ciclación, en las mismas condiciones, no ha tenido lugar sobre los compuestos abiertos con unión *N9''*, **MDG-798E** y **MDG-884C**, en los que tampoco existe sustitución del cloro, aunque también hay que tener en cuenta que la posición acetálica podría ser menos electrófila en estos compuestos ya que está menos influida por el efecto -I del sustituyente en 6'' (de hecho, se observa un mayor desapantallamiento para el protón y el carbono acetálico en los compuestos con unión *N7''* que en aquellos con unión *N9''*).

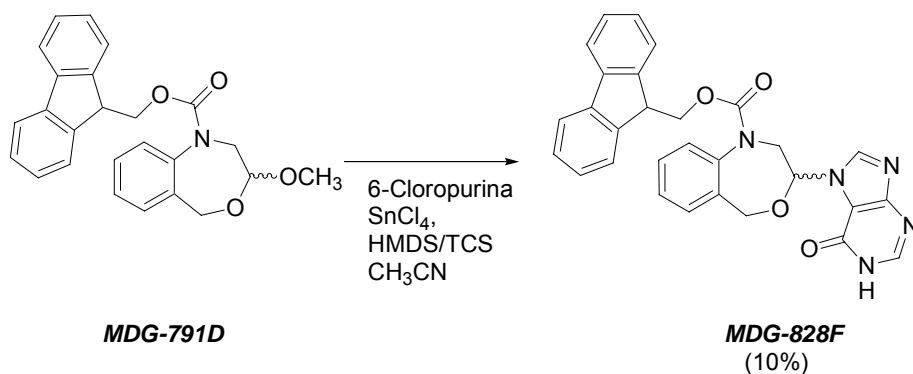


**Figura 4.88.** Mecanismo propuesto para la ciclación de **MDG-884D** en DMSO.

Una disolución 12 mM de **MDG-828D** en DMSO-*d*<sub>6</sub> (0.03 % H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O), se llevó a 95 °C y a esta temperatura se registró su espectro <sup>1</sup>H-RMN. No se observó descomposición del producto, cuya estabilidad se comprobó posteriormente mediante espectroscopía de masas.

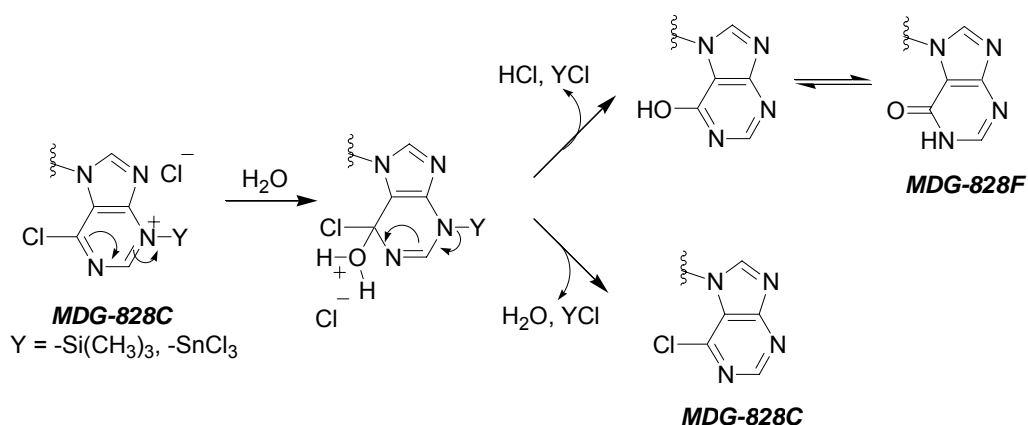
#### 4.3.10.1.b. Sustitución en las condiciones de Vorbrüggen.

El compuesto **MDG-828F** se aisló junto a los *O,N*-acetales de 6-cloropurina, cuando se llevó a cabo la siguiente reacción.



**Figura 4.89.** Condiciones para la formación de **MDG-828F** a partir de **MDG-791D**.

Se ha propuesto un mecanismo para la formación del derivado **MDG-828F** a partir del correspondiente *O,N*-acetal unido a 6-cloropurina, que estaría mediado por la coordinación del ácido de Lewis al anillo de purina (como se describe en la Figura 4.90). El desplazamiento nucleófilo de halógenos sobre 6-halopurinas, en medio ácido, ha sido descrito en bibliografía como consecuente a la protonación de los nitrógenos situados en *orto* o en *para* respecto al carbono C-6<sup>45,46</sup>.



**Figura 4.90.** Mecanismo propuesto para la activación del anillo de purina frente al ataque por nucleófilos.

En resumen, la coordinación del ácido de Lewis a las bases nitrogenadas podría provocar la transposición  $N7'' \rightarrow N9''$  (Apartado 4.3.2), la formación de olefinas (Apartado 4.3.8.1) o bien el cambio  $Cl \rightarrow OH$  (Apartado 4.3.10.1.b).

El cambio del átomo de cloro en las condiciones de Vorbrüggen, se ha observado en los *O,N*-acetales cíclicos que presentan unión  $N7''$  y Fmoc como sustituyente  $R'$ ; sin embargo, no en aquellos con un grupo Ns (en estos últimos el proceso únicamente ha tenido lugar en DMSO/agua).

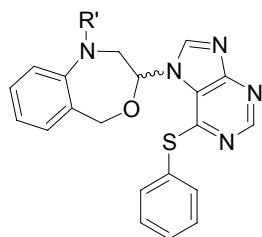
La formación de olefinas, únicamente se ha observado en los *O,N*-acetales abiertos derivados de Ns y no en los derivados de Fmoc.

#### 4.3.10.2. Sustitución del átomo de cloro en $6''$ del anillo de purina por un grupo feniltio (Grupo 3.1.3).

Esta reacción se ha llevado a cabo sobre los *O,N*-acetales cíclicos con la unión  $N7''$ , **MDG-798D** y **MDG-884B**, en presencia de tiofenol (PhSH) y carbonato potásico ( $K_2CO_3$ ), en DMF y a t.a. El cambio tiene lugar de forma rápida y está más favorecido que la eliminación del grupo protector Ns, que sucede bajo las mismas condiciones<sup>5</sup>. Como se indica en la Tabla 4.91, cuando se partió de **MDG-884B** y se utilizaron 0.8 equiv. de tiofenol, únicamente se aisló el producto de sustitución del cloro, **MDG-942B**. Sin embargo, a partir de **MDG-798D** y en las mismas condiciones, se obtuvo el producto de sustitución (**MDG-958A**), en proporción igual al sustituido y a la vez desprotegido (**MDG-940C**), cuyos espectros  $^1H$ -RMN y  $^{13}C$ -RMN se muestran en la Figura A.23 y A.24 (en Anexo a la Parte Teórica). La mayor facilidad en la eliminación del grupo protector *p*-Ns que *o*-Ns, podría deberse a motivos estéricos, dado que en el mecanismo de desprotección descrito por Fukuyama y cols<sup>5</sup>, para la formación del complejo de Meisenheimer (Esquema 4.23), es necesario el ataque del tiofenol sobre la posición  $1'$  del anillo del resto de nitrobencénsulfonilo.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.91.

**Tabla 4.91.** Productos obtenidos a partir de los *O,N*-acetales **MDG-798D** y **MDG-884B** mediante tratamiento con tiofenol, en medio básico. Todas las reacciones se mantuvieron durante 40 min a t.a.



**Grupo 3.1.3**  
**MDG-940C:** R' = -H  
**MDG-958A:** R' = *p*-Ns  
**MDG-942B:** R' = *o*-Ns

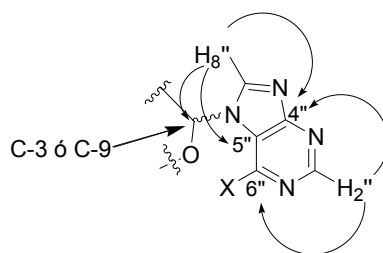
Producto de partida	Producto final	PhSH
<b>MDG-884B</b>	<b>MDG-940C</b> (89%)	2.0 equiv.
<b>MDG-798D</b>	<b>MDG-958A</b> (36%) <b>MDG-940C</b> (37%)	0.8 equiv.
<b>MDG-884B</b>	<b>MDG-942B</b> (61%)	0.8 equiv.

Dada la fortaleza del tiofenol como nucleófilo, esta sustitución ocurre sin necesidad de activación adicional de la posición 6'', más allá de la electrofilia que le confiere la unión de un átomo de cloro.

#### 4.3.11. Análisis espectroscópico de los compuestos *O,N*-acetálicos derivados de purinas.

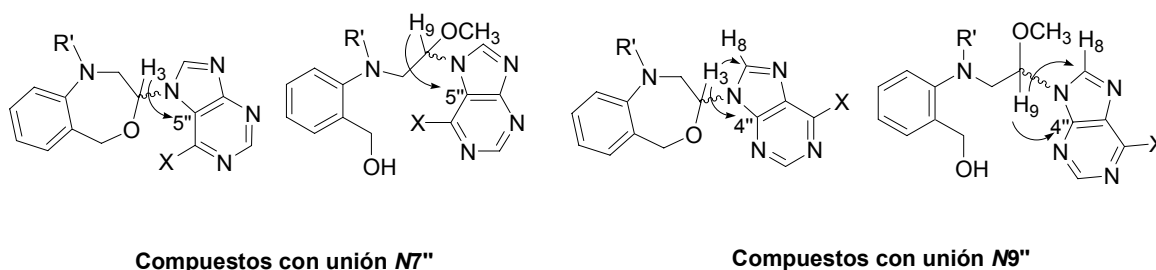
La asignación total de los átomos de hidrógeno y carbono se ha llevado a cabo a través de la información obtenida mediante experimentos HMQC sobre los *O,N*-acetales **MDG-798D**, **MDG-798D2**, **MDG-884A2**, **MDG-884B**, **MDG-884B2**, **MDG-798E** y **MDG-884C** y experimentos HMBC (del inglés *heteronuclear multi-bond correlation*) sobre los compuestos anteriores y **MDG-798C**, todos ellos efectuados en DMSO-*d*<sub>6</sub>.

Los carbonos cuaternarios C-4'' y C-5'' del anillo de purina, se han distinguido entre sí en base a los datos recogidos en fuentes bibliográficas<sup>21,47</sup> y se han confirmado a partir de las interacciones a tres enlaces encontradas entre estos dos carbonos y los protones H-2'' y H-8'' (éste último es distinguible por su interacción a larga distancia con el carbono acetálico C-3 o C-9). Así, H-2'' interacciona a larga distancia con C-4'' y C-6'', mientras que H-8'' lo hace con C-4'', C-5'' y C-3/C-9.



**Figura 4.92.** Representación de las interacciones, a través de tres enlaces, utilizadas para la asignación espectroscópica de los carbonos cuaternarios y protones H-2'' y H-8'' de los anillos de purina.

Una vez asignados los átomos de hidrógeno y carbono de los anillos purínicos, se han identificado los compuestos con unión  $N7''$  o  $N9''$  a partir de los datos obtenidos en las experiencias HMBC, sobre las interacciones del hidrógeno acetálico (H-3 en los compuestos cíclicos o H-9 en los abiertos) con los carbonos cuaternarios C-5'' o C-4'' del anillo de purina. Cuando existe una unión  $N7''$ , el protón acetálico se sitúa a tres enlaces de C-5'', mientras que en la unión  $N9''$  queda a dicha distancia de C-4'' (véanse Figuras A.17-A.20 A.25 y A.26 en Anexo a la Parte Teórica). Por otro lado, la interacción H3-C8'' distingue los productos con unión  $N9''$  de los posibles  $N3''$ , en los que también se detectaría la interacción entre el protón acetálico y C-4''.



**Figura 4.93.** Interacciones HMBC utilizadas para la determinación del tipo de unión en los  $O,N$ -acetales derivados de purina. Las flechas curvas indican la interacción a larga distancia.

Los desplazamientos químicos de los átomos de carbono, en cada uno de los regioisómeros así identificados, se han comparado con diversos ejemplos de 6-cloropurinas alquiladas sobre  $N7$  y  $N9$ , descritos en bibliografía, y se han encontrado resultados coherentes<sup>47</sup>.

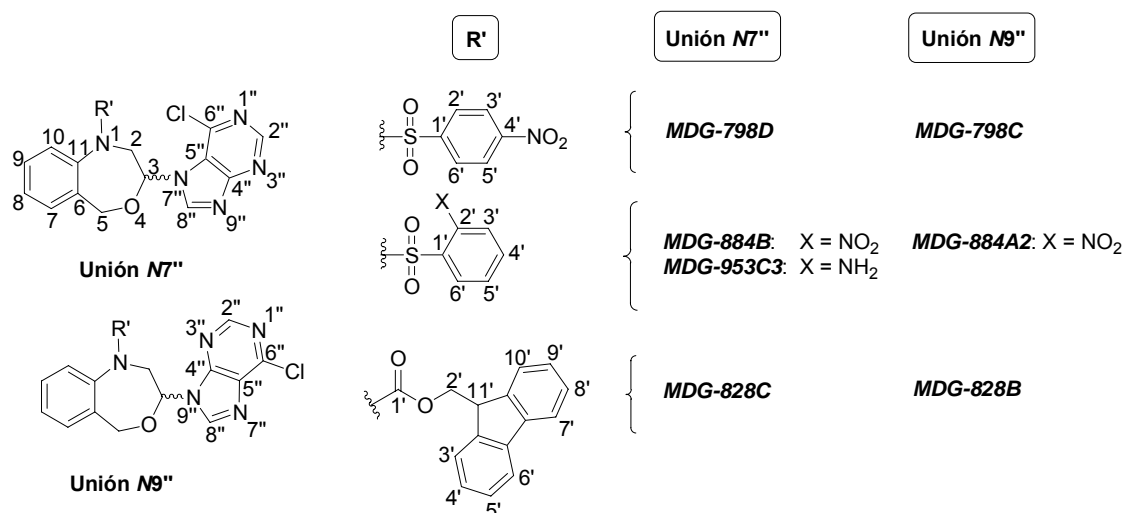
Por otro lado, una vez identificados los compuestos con unión *N7''* o *N9''*, se han buscado otras características espectroscópicas indicativas de cada tipo de unión, extensibles a otros *O,N*-acetales derivados de purinas sustituidas sobre C-6''.

#### **4.3.11.1. *O,N*-Acetales cíclicos derivados de purinas (Grupo 3.1).**

Los datos espectroscópicos de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN más relevantes en los compuestos *O,N*-acetales cíclicos derivados de purinas se exponen en las Tablas 4.94-4.97.



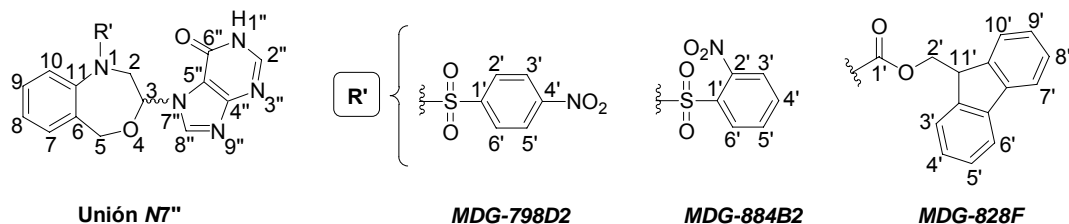
**Tabla 4.94.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H-RMN}$ , para los compuestos *O,N*-acetales cíclicos derivados de 6-cloropurina. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en hercios (Hz).



	$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- $d_6$ )	H-2 $\alpha$		H-2 $\beta$		H-3 $\beta$		H-5 $\alpha$ , H-5 $\beta$		H-2''	H-8''	$\delta\text{H8''}-\delta\text{H2''}$		
		$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\alpha-3\beta}$	$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\beta-3\beta}$	$\delta$	$J_{3\beta-2\alpha}$ $J_{3\beta-2\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$\delta$			
1	<b>798C</b> (N9'')	4.27	15.0	4.78	-	6.26	10.2	4.96	12.0	4.78	-	8.90	8.95	0.05
		<b>dd</b>	9.9	<b>m</b>	-	<b>dd</b>	1.8	<b>d</b>	-	<b>m</b>	-	<b>s</b>	<b>s</b>	
2	<b>798D</b> (N7'')	4.23	14.9	5.00	14.9	6.42	10.0	4.93	14.0	4.61	13.9	8.95	9.04	0.09
		<b>dd</b>	10.1	<b>dd</b>	1.9	<b>dd</b>	1.7	<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>s</b>	<b>s</b>	
3	<b>884A2</b> (N9'')	4.33	15.1	4.61	15.0	6.18	10.0	4.94	13.8	4.86	13.7	8.81	8.89	0.08
		<b>dd</b>	10.2	<b>dd</b>	1.6	<b>dd</b>	1.5	<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>s</b>	<b>s</b>	
4	<b>884B</b> (N7'')	4.27	15.0	4.83	15.0	6.34	10.0	4.92	13.8	4.74	13.8	8.86	9.00	0.14
		<b>dd</b>	10.1	<b>dd</b>	1.9	<b>dd</b>	1.8	<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>s</b>	<b>s</b>	
5	<b>828B</b> (N9'') (60 °C)	3.91	14.3	4.54	-	6.03	9.2	4.82	14.0	4.71	14.0	8.76, 8.74		0.02
		<b>dd</b>	9.8	<b>m</b>	-	<b>da</b>	-	<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>2s</b>		
6	<b>828C</b> (N7'') (60 °C)	3.75	14.2	4.56	-	6.08	8.3	4.78	13.9	4.64	13.9	8.86, 8.83		0.03
		<b>dd</b>	9.5	<b>m</b>	-	<b>da</b>	-	<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>2s</b>		
7	<b>953C</b> <sup>a</sup> (N7'')	4.01	14.9	5.04	14.9	6.46	10.0	4.82	13.6	4.73	13.5	8.80, 8.77		0.03
		<b>dd</b>	10.1	<b>dd</b>	2.0	<b>dd</b>	1.9	<b>d</b>	-	<b>d</b>	-	<b>2s</b>		

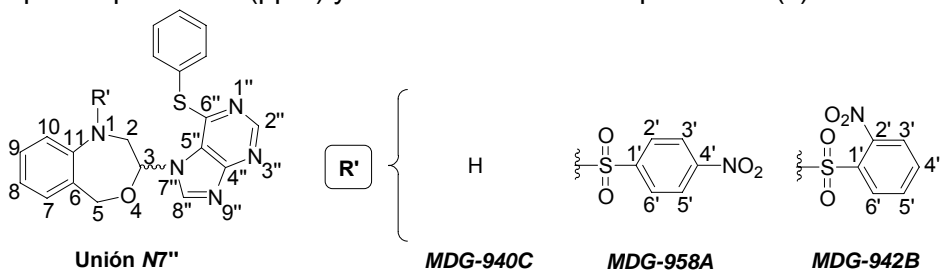
<sup>a</sup>Espectro registrado en acetona- $d_6$ .

**Tabla 4.95.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H}$ -RMN, para los compuestos *O,N*-acetales cíclicos derivados de 6-purinona. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en hercios (Hz).



	$^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ )	H-2 $\alpha$		H-2 $\beta$		H-3 $\beta$		H-5 $\alpha$ , H-5 $\beta$		H-2''	H-8''	$\delta\text{H}8'' - \delta\text{H}2''$		
		$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\alpha-3\beta}$	$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\beta-3\beta}$	$\delta$	$J_{3\beta-2\alpha}$ $J_{3\beta-2\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$		$\delta$	$\delta$
1	798D2	4.10 dd	14.9 10.3	4.68 dd	ND ND	6.32 da	8.7 -	4.76 d	13.9 -	4.29 d	13.9 -	8.02 s	8.45 s	0.43
2	884B2	4.24 dd	14.9 10.2	4.53 dd	14.8 1.6	6.35 dd	10.1 1.6	4.85 d	13.8 -	4.64 d	13.7 -	8.04 s	8.55 s	0.51
3	828F (80 °C)	3.49 dd	14.5 9.5	4.34 da	14.1 -	5.97 da	7.2 -	4.84 d	14.0 -	4.80 d	14.1 -	8.27, 8.23 2s		0.04

**Tabla 4.96.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H}$ -RMN, para los compuestos *O,N*-acetales cíclicos derivados de 6-feniltiopurina. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en hercios (Hz).



	$^1\text{H}$ -RMN (CDCl $_3$ )	H-2 $\alpha$		H-2 $\beta$		H-3 $\beta$		H-5 $\alpha$ , H-5 $\beta$		H-2'', H-8''		$\delta\text{H}8'' - \delta\text{H}2''$	
		$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\alpha-3\beta}$	$\delta$	$J_{2\alpha-2\beta}$ $J_{2\beta-3\beta}$	$\delta$	$J_{3\beta-2\alpha}$ $J_{3\beta-2\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$	$\delta$	$J_{5\alpha-5\beta}$		$\delta$
1	940C	3.48 dd	13.4 6.9	3.95 da	13.2 -	6.45 dd	6.9 2.1	4.92 d	14.2 -	4.88 d	14.1 -	8.76, 8.56 2s	0.20
2	958A	3.73 dd	14.6 10.0	4.92 dd	14.5 2.0	6.50 dd	10.0 2.0	4.78 d	13.8 -	4.63 d	13.7 -	8.79, 8.19 2s	0.60
3	942B	3.82 dd	14.7 10.0	4.91 dd	14.6 2.0	6.59 dd	10.0 2.0	5.20 d	13.6 -	4.90 d	13.6 -	8.77, 8.23 2s	0.54

Como en los casos anteriores, los hidrógenos H-2 $\alpha$  y H-2 $\beta$  se han identificado a través del valor de las constantes de acoplamiento con H-3 $\beta$ . Para los hidrógenos H-2 $\alpha$ , *trans* respecto a H-3 $\beta$ , ésta adquiere un valor próximo a los 10 Hz (en DMSO- $d_6$  y CDCl $_3$ ), excepto para **MDG-940C**, con nitrógeno libre, en el que es de 6.9 Hz (en CDCl $_3$ ). En cambio, H-2 $\beta$  presenta un acoplamiento con H-3 $\beta$  de aproximadamente 2 Hz, en los mismos disolventes. En todos los casos, H-2 $\alpha$  resuena a campos más altos que H-2 $\beta$ , como ocurría en la mayoría de los *O,N*-acetales cíclicos derivados de pirimidinas.

Las constantes de acoplamiento geminal H2 $\alpha$ -H2 $\beta$  se sitúan, cuando R' = Ns, próximas a los 15 Hz (DMSO- $d_6$ ). En los compuestos con R' = Fmoc (compuestos **MDG-828**), son ligeramente inferiores, con valores más cercanos a 14 Hz (DMSO- $d_6$ ) y en **MDG-940C** toma un valor de 13.4 Hz (CDCl $_3$ ). Las constantes geminales H5 $\alpha$ -H5 $\beta$  se sitúan próximas a los 14 Hz.

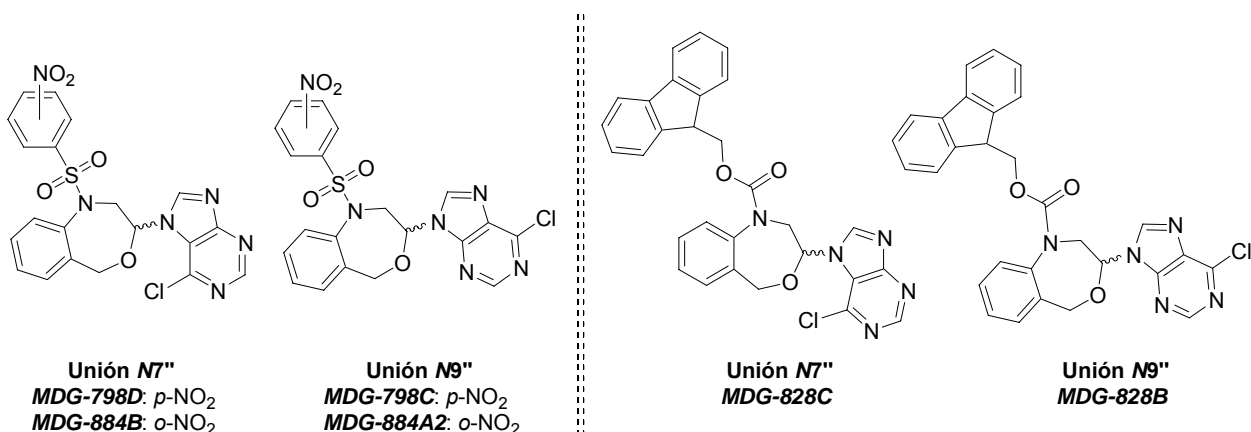
**Tabla 4.97.** Datos obtenidos mediante  $^{13}\text{C}$ -RMN, para los compuestos *O,N*-acetales cíclicos derivados de purinas. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm).

$^{13}\text{C}$ -RMN (DMSO- $d_6$ )		$\delta$ (ppm)								
		CH $_2$ -2	CH-3	CH $_2$ -5	CH-2''	CH-8''	C-4''	C-5''	C-6''	C2''-C8''
1	<b>798C</b> (N9'')	52.61	83.67	69.86	151.95	145.53	151.24	131.00	149.41	6.42
2	<b>798D</b> (N7'')	52.58	84.24	69.30	152.21	147.97	161.39	121.51	142.44	4.24
3	<b>798D2</b> (N7'')	53.23	84.30	69.45	145.06	142.04	157.03	114.03	153.97	3.02
4	<b>884A2</b> (N9'')	53.15	83.98	70.11	152.03	145.56	151.26	130.88	149.47	6.47
5	<b>884B</b> (N7'')	53.06	84.49	69.59	152.22	148.00	161.41	121.43	142.27	4.22
6	<b>884B2</b> (N7'')	53.54	85.02	69.71	145.28	142.11	156.73	114.07	153.81	3.17
7	<b>828F</b> (N7'')	68.82- 52.27	83.87	68.82- 52.27	152.74, 143.50		ND	ND	ND	-
8	<b>940C</b> <sup>a</sup> (N7'')	53.49	87.09	70.53	153.01, 145.58		159.24	128.38- 121.99	152.71- 148.27	-
9	<b>942B</b> <sup>a</sup> (N7'')	54.82	86.84	71.17	153.21, 144.16		159.24	138.55- 122.24	153.32	-
10	<b>953C</b> <sup>b</sup> (N7'')	53.84	85.51	71.05	153.96, 147.92		ND	149.78- 122.86	149.78- 122.86	-

<sup>a</sup>Espectro registrado en cloroformo- $d$ . <sup>b</sup>Espectro registrado en acetona- $d_6$ . ND: Dato no determinado.

En aquellos compuestos en los que se han llevado a cabo estudios bidimensionales de correlación H-C a corta y larga distancia (entradas 1-6 de la Tabla 4.97), se han podido asignar los carbonos C-2'' y C-8''. El orden de aparición de estos en el espectro es el opuesto al de los correspondientes hidrógenos H-2'' y H-8'', resonando C-8'' a campos más altos que C-2''.

#### 4.3.11.1.a. Diferencias espectroscópicas encontradas entre O,N-acetales cíclicos derivados de purinas con unión N7'' y sus isómeros con unión N9''.



Los espectros de las parejas de isómeros **MDG-798** y **MDG-884**, registrados en DMSO-*d*<sub>6</sub>, se han comparado entre sí con el objetivo de determinar las diferencias que se observan de forma sistemática para cada tipo de unión. Las diferencias encontradas en los espectros <sup>1</sup>H-RMN, a pesar de no ser excesivamente grandes, podrían tener valor en la identificación, por comparación, del tipo de unión que presenta cada miembro de una pareja y se han utilizado para la propuesta de las estructuras **MDG-828B** y **MDG-828C**, de los que no se han podido obtener datos mediante <sup>13</sup>C-RMN (todas las parejas de isómeros disponibles son derivadas de 6-cloropurina, sus espectros están medidos en DMSO-*d*<sub>6</sub> y los datos a los que a continuación se hace referencia están indicados en las Tablas 4.94 y 4.97):

- 1.- En los compuestos con unión N7'' los hidrógenos H-3β y el H-2β están más desapantallados que en los correspondientes isómeros N9'' (diferencia de 0.22 ppm para H-2β entre los miembros de ambas parejas y aproximadamente 0.17 ppm para H-3β). En la pareja **MDG-828B/MDG-828C** las diferencias entre los dos

compuestos son menores (0.02 ppm para H-2 $\beta$  y 0.05 ppm para H-3 $\beta$ ), estando ambos protones más desapantallados en **MDG-828C**.

- 2.- El hidrógeno H-2 $\alpha$  resuena a campos ligeramente más bajos en la unión N9'' que en la N7'' (diferencia de aproximadamente 0.05 ppm entre ambos isómeros). En la pareja **MDG-828B/MDG-828C**, la diferencia en ppm para este hidrógeno es mayor (0.16 ppm) y aparece más desapantallado en **MDG-828B**.
- 3.- Al comparar la diferencia en ppm que existe entre las señales de resonancia de los hidrógenos H-8'' y H-2'' de un mismo compuesto, ésta es ligeramente mayor en aquellos isómeros con unión N7'', respecto a sus correspondientes isómeros N9''. Esta diferencia es pequeña y no se repite en la pareja **MDG-828B/MDG-828C**.
- 4.- Tanto en los compuestos con uniones N7'' como N9'', de las parejas isoméricas **MDG-798** y **MDG-884**, H-8'' está más desapantallado que H-2''. Además, ambos protones resuenan a campos más bajos en los isómeros N7'' (0.05 ppm de diferencia para H-2'' y 0.1 ppm de diferencia para H-8''), lo que coincide con los datos bibliográficos sobre estudios espectroscópicos en isómeros N7/N9 de purinas alquiladas<sup>29,46</sup>. El compuesto **MDG-828C** presenta señales más desapantalladas para H-8'' y H-2'', que **MDG-828B**.
- 5.- De los dos protones bencílicos (H-5), aquel que resuena a campos más altos cambia ligeramente del compuesto con unión N7'' a su isómero con unión N9'', estando en el primero más apantallado (0.17 ppm de diferencia en la pareja **MDG-798** y 0.12 ppm en la pareja **MDG-884**). Este hidrógeno está también más apantallado en **MDG-828C** que en **MDG-828B**, existiendo 0.07 ppm de diferencia entre ambos compuestos.

En resumen, el espectro <sup>1</sup>H-RMN medido en DMSO-*d*<sub>6</sub> de **MDG-828B**, se ajusta a las características de la unión N9'' determinadas a partir de las parejas de isómeros tipo **MDG-798** y **MDG-884**. El espectro de **MDG-828C** registrado en las mismas condiciones, se ha encontrado más parecido al de los compuestos con unión N7'' (por otro lado, las características de movilidad en CCF que presentan **MDG-828B** y **MDG-828C** concuerdan con las observadas para isómeros N9'' y N7'', respectivamente).

Sin embargo, son las diferencias encontradas en los espectros  $^{13}\text{C}$ -RMN de los compuestos **MDG-798** y **MDG-884**, las claramente características de cada tipo de unión:

- 1.- Los carbonos C-2'' y C-8'' resuenan a campos más bajos en los isómeros con unión N7'' que en los correspondientes con unión N9''. Esta diferencia entre ambos isómeros, que es más significativa para C-8'' (2.44 ppm de diferencia entre los dos miembros de cada pareja de isómeros) que para C-2'' (0.26 ppm para **MDG-798** y 0.19 ppm para **MDG-884**), ha sido previamente descrita en bibliografía<sup>29</sup>. Por otro lado, en los isómeros N7'' se observa un valor para  $\delta\text{C}2''$ - $\delta\text{C}8''$  de aproximadamente 4 ppm, mientras que vale aproximadamente 6 ppm para los isómeros N9''.
- 2.- La característica espectroscópica más representativa de cada tipo de unión, se ha encontrado en los carbonos cuaternarios de la purina, C-4'', C-5'' y C-6'', como por otra parte ha sido descrito en bibliografía para isómeros N7'' y N9'' de purinas diversamente sustituidas<sup>33</sup>. En los dos casos, **MDG-798** y **MDG-884**, C-4'' resuena a campos más bajos que C-5''. Entre los isómeros, existen 10 ppm de diferencia en el desplazamiento de C-4'', que resuena a campos más bajos en los compuestos N7'' ( $\delta$  cercano a 161 ppm frente a 151 ppm en los N9''). De la misma forma, se observa una diferencia de algo más de 9 ppm en el desplazamiento que C-5'' presenta en cada isómero, apareciendo a campos más bajos en los compuestos N9'' (aproximadamente a 130 ppm frente a las 121 ppm de los N7''). De este modo, la separación entre las señales de C-4'' y C-5'' es de 40 ppm en los isómeros N7'' y de 20 ppm en los isómeros N9''.

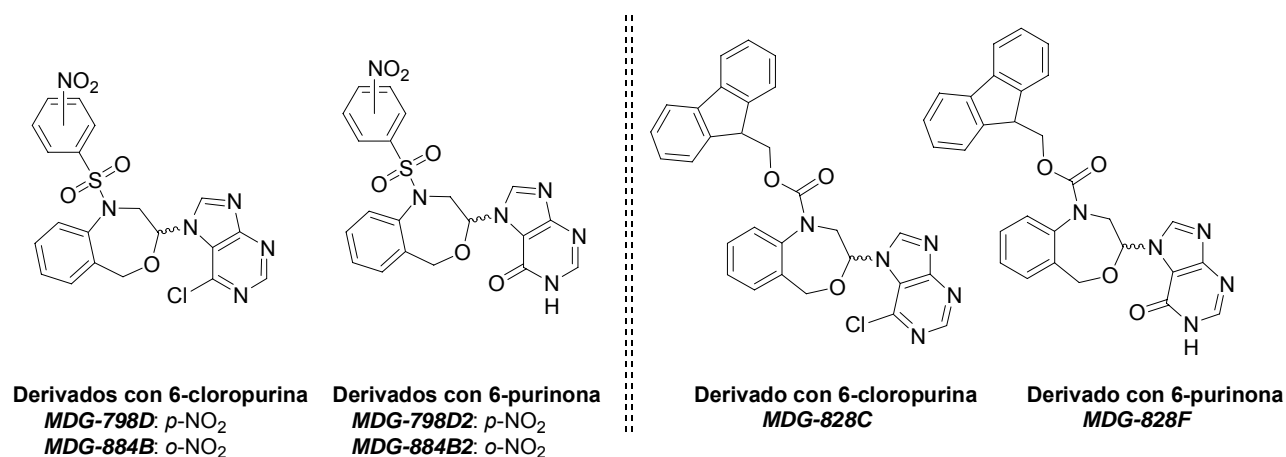
En los isómeros con unión N7'', C-4'' se sitúa a campos más bajos que C-2'', mientras que resuena algo por encima de éste en los isómeros N9''.

En el caso de C-6'', éste aparece aproximadamente 7 ppm más desapantallado en los isómeros N9'' (a 149.41 y 149.47 ppm en **MDG-798C** y **MDG-884A2**, respectivamente, situado entre las señales de C-2'' y C-8''), que en los isómeros N7'' (en los que aparece por encima de C-2'' y C-8'', a 142.44 y 142.27 ppm en **MDG-798D** y **MDG-884B**, respectivamente).

En definitiva, en cada tipo de unión, aquellos carbonos que están situados en la parte de la purina que queda orientada hacia el anillo de benzoxazepina, sufren un apantallamiento respecto a cuando se hallan orientados hacia la parte exterior de la molécula.

#### 4.3.11.1.b. Influencia del sustituyente en 6'', sobre las características espectroscópicas de los anillos de purina.

##### 4.3.11.1.b.i. Diferencias espectroscópicas entre los O,N-acetales cíclicos derivados de 6-cloropurina y las correspondientes 6-purinonas.



Se ha encontrado que el cambio de cloro por hidroxilo en la posición 6'' de la purina, provoca las siguientes variaciones en los espectros <sup>1</sup>H-RMN (todos los compuestos comparados presentan unión N7'', sus espectros se han registrado en DMSO-*d*<sub>6</sub> y los datos a los que a continuación se hace referencia están indicados en las Tablas 4.94, 4.95 y 4.97):

- 1.- En aquellos compuestos con R' = Ns, el cambio del cloro por un grupo ceto provoca una separación de las señales de resonancia de los hidrógenos H-8'' y H-2'', incrementándose el valor de (δH8'' - δH2'') desde aproximadamente 0.1 hasta 0.5 ppm. Sin embargo, esto no es así en **MDG-828C** y **MDG-828F**, en los que dicho valor permanece constante.

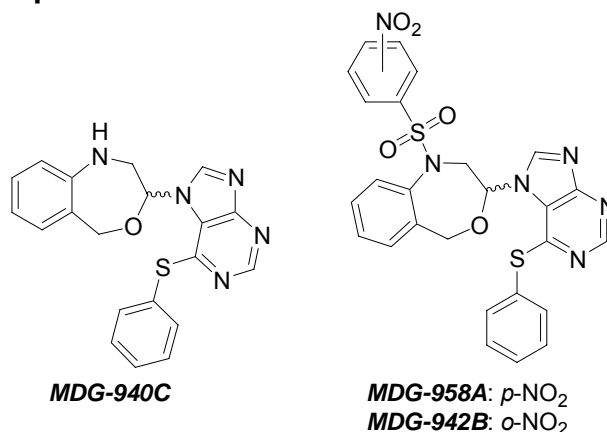
- 2.- Existe un desplazamiento de los protones H-8'' y H-2'' hacia campos más altos, con el cambio de cloro a carbonilo, al igual que ocurre entre la 6-cloropurina (H-8'' a 8.73 ppm, H-2'' a 8.80 ppm) y la hipoxantina (H-8'' a 8.17 ppm, H-2'' a 8.03 ppm)<sup>44</sup>. Siendo dicho desplazamiento más acusado para H-2'' en los compuestos con R' = Ns (aproximadamente 0.55 ppm para H-8'' y 0.87 ppm para H-2''), se determina en ellos una separación de las señales de ambos hidrógenos. En los compuestos con R' = Fmoc, la diferencia es de aproximadamente 0.60 ppm para ambos, H-2'' y H-8''.
- 3.- El hidrógeno H-2 $\beta$  resuena del orden de 0.22 a 0.32 ppm más apantallado en todos los derivados de 6-purinona que en los de 6-cloropurina.

En cuanto a los espectros <sup>13</sup>C-RMN de los pares de compuestos **MDG-798D/MDG-798D2** y **MDG-884B/MDG-884B2**, los desplazamientos de los carbonos en el anillo de benzoxazepina no han sufrido apenas modificaciones, mientras que para aquellos incluidos en los anillos de purina, se ha observado lo siguiente:

- 1.- Los carbonos C-2'', C-8'', C-4'' y C-5'' se apantallan de forma equivalente en los compuestos tipo **MDG-798** y **MDG-884** al desaparecer el efecto -I del átomo de cloro en 6''. Para C-2'' y C-5'' este apantallamiento ha mostrado un valor cercano a 7 ppm (C-5'' se desplaza desde 121 hasta 114 ppm y C-2'' desde 152 hasta 145 ppm) y ha sido algo menor (entre 6.89 y 5.93 ppm) para C-8'' (que se ha desplazado desde 148 hasta 142 ppm). Para C-4'', aproximadamente 4 ppm, desde 161 hasta 156 ppm. El orden de aparición de C-8'' y C-2'' se mantiene con la sustitución del átomo de cloro y C-4'' resuena a campos más bajos que C-2''.
- 2.- El carbono C-6'' sufre un desapantallamiento cuando existe un grupo carbonilo, hasta aproximadamente las 153 ppm.



#### 4.3.11.1.b.ii Características espectroscópicas de los O,N-acetales cíclicos derivados de 6-feniltiopurina.



Los compuestos estudiados en este apartado presentan unión N7'' y sus espectros han sido registrados en CDCl<sub>3</sub>. Sus datos espectroscópicos se recogen en las Tablas 4.96 y 4.97.

Los hidrógenos H-2'' y H-8'' no se han identificado, ya que no se han realizado estudios bidimensionales HMQC o HMBC para estos compuestos, pero se ha observado que los singletes correspondientes a ambos aparecen más separados en **MDG-958A** y **MDG-942B** (0.60 y 0.54 ppm de separación) que en **MDG-940C**, con el nitrógeno libre (0.20 ppm de separación).

El carbono C-6'' se sitúa próximo a las 150 ppm, C-4'' lo hace a 159 ppm y C-5'' entre 138 y 122 ppm. Los carbonos terciarios C-8'' y C-2'' resuenan aproximadamente a 153 y 145 ppm; sin embargo, no se han asignado cada una de sus señales por no haberse realizado experiencias HMBC y HMQC para estos compuestos.

#### 4.3.11.1.c. Influencia del sustituyente en N1 sobre las características espectroscópicas de los anillos de benzoxazepina.

El único compuesto O,N-acetal derivado de purina, que presenta el nitrógeno N1 libre, es **MDG-940C**. De la comparación de éste con los correspondientes anillos sustituidos con un resto nitrobenzensulfonilo, **MDG-958A** y **MDG-942B**, se ha encontrado que el efecto -I del resto Ns provoca, principalmente, un desplazamiento de los protones H-2 y H-3 hacia campos más bajos, como se indica en la Tabla 4.96 (H-2α

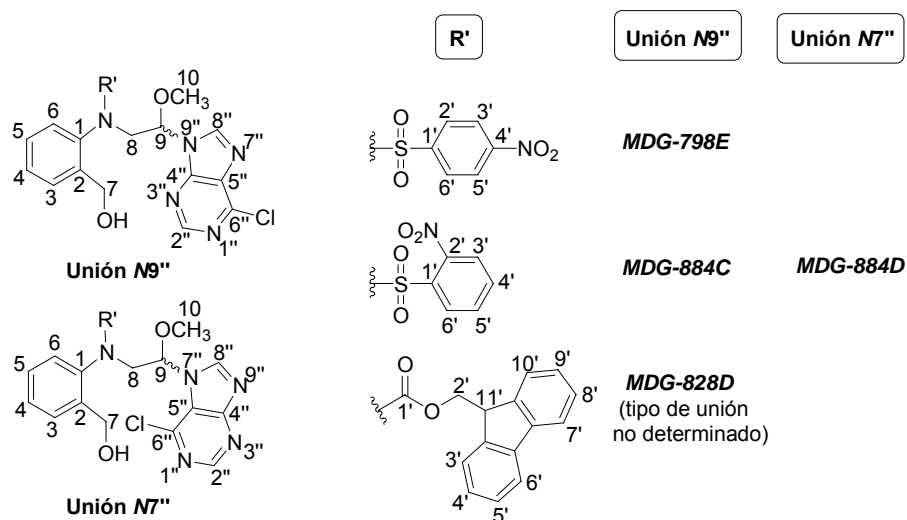
y H-2 $\beta$  quedan desplazados aproximadamente 0.30 ppm y 0.97 ppm, respectivamente, y H-3 $\beta$  sobre 0.1 ppm).

En cuanto a los átomos de carbono, de la comparación entre **MDG-940C** y **MDG-942B**, se observa un apantallamiento de C-2 y C-5 y un desapantallamiento de C-3 al eliminar el grupo Ns. Las variaciones observadas en el espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN, coinciden con lo descrito para los *O,N*-acetales de 5-FU, en el Apartado 4.3.7.1.b.

#### **4.3.11.2. *O,N*-Acetales acíclicos derivados de purinas (Grupo 3.2).**

Los datos espectroscópicos de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN más relevantes en los compuestos *O,N*-acetales acíclicos derivados de purinas se exponen en las Tablas 4.98 y 4.99.

**Tabla 4.98.** Datos obtenidos mediante  $^1\text{H-RMN}$  (t.a), para los compuestos *O,N*-acetales acíclicos derivados de 6-cloropurina. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en hercios (Hz).



$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- $d_6$ )		H-8		H-9		H-7		H-2''	H-8''	$\delta\text{H}8''-\delta\text{H}2''$				
		$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{8-8}$ $J_{8-9}$	$\delta$	$J_{7-7}$ $J_{7-OH}$	$\delta$	$J_{7-7}$ $J_{7-OH}$		$\delta$			
1	<b>798E</b> (N9'')	4.58 <b>dd</b>	14.3 6.7	4.22 <b>dd</b>	14.3 5.5	5.79 <b>pt</b>	6.2 -	4.43 <b>m</b>	- -	4.43 <b>m</b>	- -	8.77 <b>s</b>	8.90 <b>s</b>	0.13
2	<sup>m</sup> <b>798E</b> (N9'')	4.43 <b>m</b>	- -	- -	- -	5.69 <b>pt</b>	6.1 -	4.43 <b>m</b>	- -	4.43 <b>m</b>	- -	8.72 <b>s</b>	8.85 <b>s</b>	0.13
3	<b>884C</b> (N9'')	4.74 <b>m</b>	- -	4.55 <b>m</b>	- -	5.98 <b>pt</b>	6.2 -	4.55 <b>m</b>	- -	4.33 <b>d</b>	14.0 -	8.90 <b>s</b>	8.99 <b>s</b>	0.09
4	<sup>m</sup> <b>884C</b> (N9'')	4.74 <b>m</b>	- -	4.55 <b>m</b>	- -	5.89 <b>pt</b>	6.0 -	4.55 <b>m</b>	- -	4.25 <b>d</b>	14.1 -	8.86 <b>s</b>	8.99 <b>s</b>	0.13
5	<b>884D</b> <sup>a</sup> (N7'')	4.46 <b>dd</b>	ND 4.8	4.28 <b>dd</b>	15.0 7.6	6.25 <b>dd</b>	7.3 4.9	4.76 <b>d</b>	12.5 -	4.61 <b>d</b>	12.4 -	8.83 <b>s</b>	8.52 <b>s</b>	ND
6	<sup>m</sup> <b>884D</b> <sup>a</sup> (N7'')	4.61 <b>dd</b>	14.7 8.3	4.01 <b>dd</b>	14.6 3.6	6.03 <b>dd</b>	8.4 3.6	4.51 <b>d</b>	12.1 -	4.46 <b>d</b>	- -	8.80 <b>s</b>	8.47 <b>s</b>	ND
7	<b>828D</b>	ND ND	ND ND	4.19 <b>m</b>	ND ND	5.92 <b>m</b>	- -	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	8.91 <b>s</b>	8.85 <b>s</b>	ND
8	<sup>m</sup> <b>828D</b>	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	5.92 <b>m</b>	- -	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	8.76 <b>s</b>	8.66 <b>s</b>	ND

<sup>m</sup> Confórmero minoritario. <sup>a</sup> Espectro registrado en cloroformo-*d*. ND: Dato no determinado.

Al igual que los compuestos *O,N*-acetálicos acíclicos derivados de pirimidinas, los hidrógenos H-7 y H-8 son diastereotópicos, indicando que existe rigidez conformacional a pesar de tratarse de estructuras abiertas. La diferencia de desplazamiento entre cada

uno de los hidrógenos H-8 de las moléculas abiertas, es menor que la existente entre H-2 $\alpha$  y H-2 $\beta$  en las moléculas cíclicas.

El hidrógeno acetálico en los compuestos abiertos **MDG-798E** y **MDG-884C**, entre 5.98 y 5.69 ppm, resuena a campos más altos que en los correspondientes cíclicos **MDG-798C** y **MDG-884A2** (a 6.26 y 6.18 ppm), en DMSO- $d_6$ . Igualmente ocurre con los protones bencílicos, situados por encima de 4.55 ppm en los compuestos abiertos y, sin embargo, por debajo de 4.79 en los cíclicos.

**Tabla 4.99.** Datos obtenidos mediante  $^{13}\text{C}$ -RMN (t.a), para los compuestos *O,N*-acetales acíclicos derivados de purina. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm).

$^{13}\text{C}$ -RMN (DMSO- $d_6$ )		$\delta$ (ppm)							
		CH <sub>2</sub> -8	CH-9	CH <sub>2</sub> -7	CH-2''	CH-8''	C-4''	C-5''	C-6''
1	<b>798E</b> (N9'')	53.34	84.83	58.62	151.76	145.98	151.90	131.96	149.26
2	<sup>m</sup> <b>798E</b> (N9'')	53.34	83.92	58.62	151.69	145.69	151.90- 151.69	131.00	148.83
3	<b>884C</b> (N9'')	53.83	85.08	58.29	151.71	145.90	151.81	131.19	149.26
4	<sup>m</sup> <b>884C</b> (N9'')	53.16	84.21	58.29	151.71	145.75	151.81	131.09	149.26

<sup>m</sup>Confórmero minoritario.

No se observan grandes diferencias entre los espectros  $^{13}\text{C}$ -RMN de **MDG-798E** y **MDG-884C**.

Las principales diferencias entre los espectros  $^{13}\text{C}$ -RMN de los *O,N*-acetales abiertos y los cíclicos, residen en los carbonos bencílicos, que en el caso de los compuestos abiertos se sitúan entre 58.62 y 58.29 ppm, mientras que en los cíclicos (en los que no existen diferencias significativas entre los isómeros N7'' y N9''), resuenan aproximadamente 10 ppm hacia campos más bajos (entre 70.11 y 69.30 ppm).

No se han llevado a cabo comparaciones con el objetivo de establecer las diferencias espectroscópicas entre los isómeros N7'' y N9'', por no disponerse de datos

suficientes debido a la escasa formación de productos *O,N*-acetales acíclicos con unión *N7''*.

#### 4.3.12. Determinación estructural del compuesto *MDG-884B* por difracción de rayos X.

Se ha llevado a cabo un estudio de difracción de rayos X sobre cristales del compuesto *MDG-884B*, mediante el que ha quedado confirmada la unión *N7''* en este producto y, por tanto, la asignación espectroscópica para los isómeros *N7''/N9''*, realizada en el apartado anterior.

Para la obtención de un cristal adecuado, se disolvió en un vial el compuesto *MDG-884B* utilizando una pequeña cantidad de diclorometano y se añadió posteriormente un volumen ligeramente superior de cloroformo. Tras cerrar el vial, éste se mantuvo a 4 °C y se permitió la evaporación lenta de los disolventes, formándose así el cristal sobre el que se realizó el ensayo de difracción de rayos X. En la Figura 4.100 se puede observar el diagrama de elipsoides térmicos obtenido.

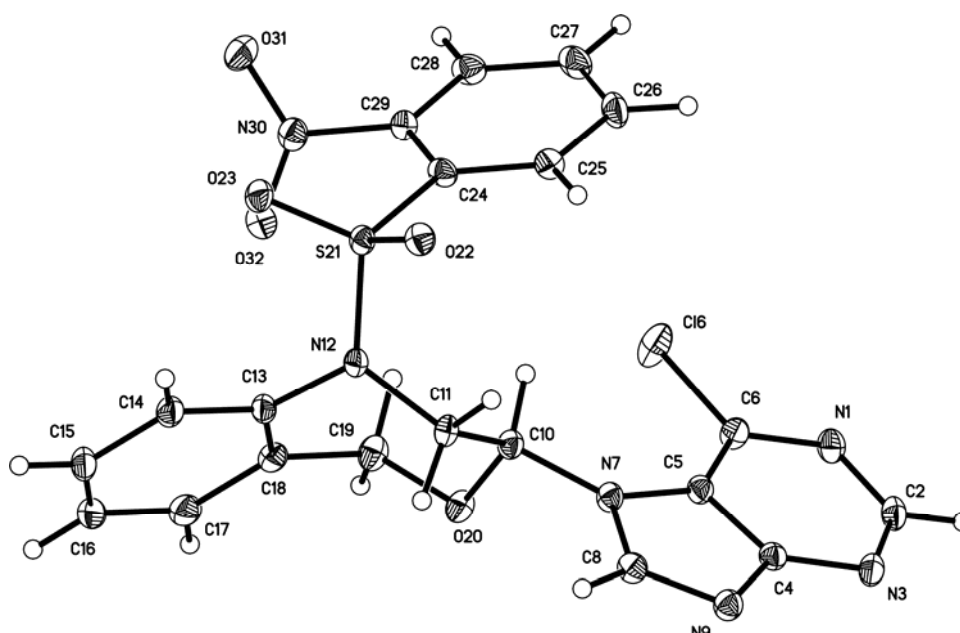
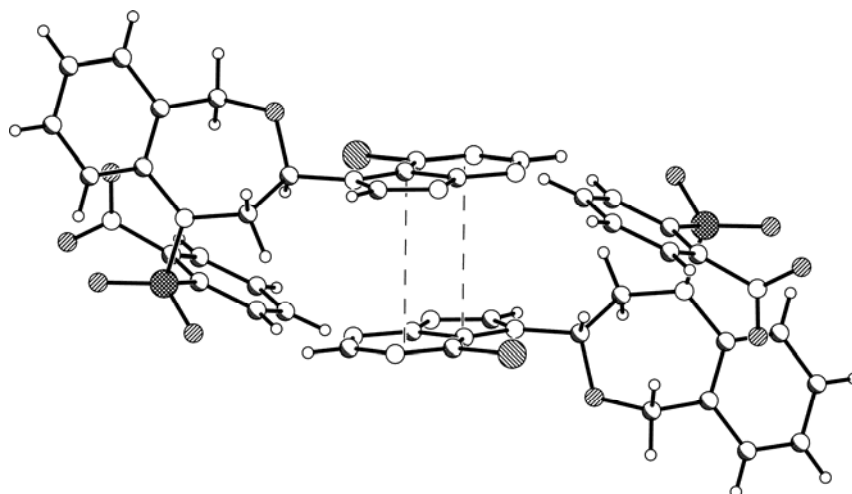


Figura 4.100. Diagrama ORTEP de *MDG-884B* al 50% de probabilidad.

El ciclo benzoxazepínico, adopta una conformación silla sobre la que el anillo de purina plano se dispone en orientación ecuatorial. El grupo 2-nitrobencénsulfonilo se

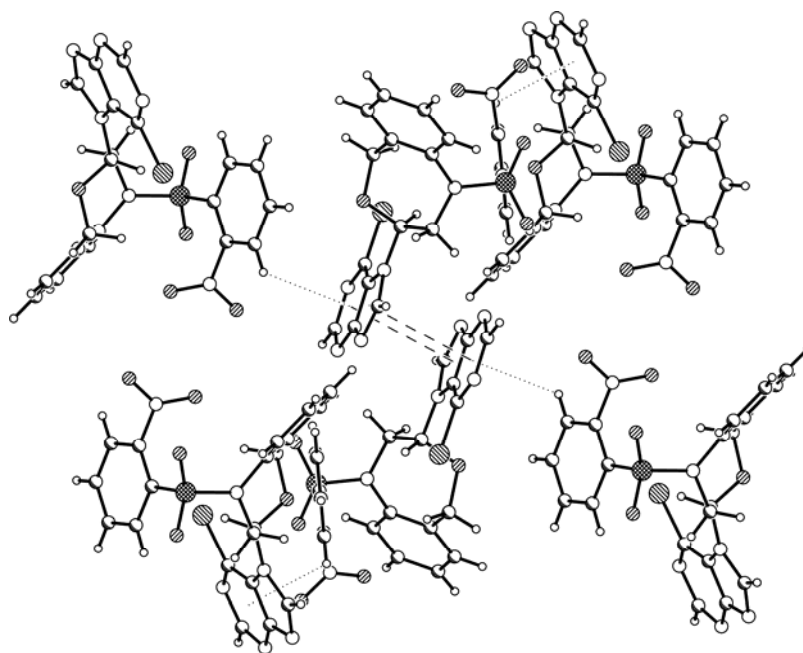
sitúa orientado hacia la cara  $\beta$  de la molécula y el anillo de benceno incluido en este resto se inclina hacia el núcleo benzoxazepínico. El hidrógeno H-2 $\alpha$  es axial mientras que H-2 $\beta$  es ecuatorial. El anillo de seis miembros contenido en la purina se orienta hacia la cara  $\beta$ .

En esta conformación, los anillos de purina se ven implicados en dos tipos de interacciones intermoleculares que mantienen el entramado tridimensional del cristal. Por una de sus caras, se establecen interacciones  $\pi/\pi$  de forma que dos anillos quedan situados en planos prácticamente paralelos (el ángulo dihedro,  $\alpha$ , entre ambos planos vale  $0.46^\circ$ , los ángulos de deslizamiento son de aproximadamente  $21^\circ$  y la distancia interplanar es de  $3.28 \text{ \AA}$ ), como se puede observar en la Figura 4.101.



**Figura 4.101.** Interacción  $\pi/\pi$  antiparalela entre los restos de 6-cloropurina de dos moléculas, en un cristal de **MDG-884B**.

Por su otra cara, el anillo de seis miembros acepta una interacción  $\pi/\text{C-H}$  con el átomo de hidrógeno vecino al grupo nitro (H28 en el diagrama ORTEP, Figura 4.100). La distancia H28-Cg (centroide del anillo de seis miembros) es de  $2.95 \text{ \AA}$  y el ángulo C28-H28-Cg de  $119^\circ$ . Esta interacción, junto con la anterior, se muestra en la Figura 4.102.



**Figura 4.102.** Las interacciones C-H/ $\pi$  cooperan con las establecidas entre sistemas  $\pi$  para mantener el entramado tridimensional del cristal.

#### 4.4. Resultados biológicos y discusión.

Las pruebas biológicas de los compuestos finales sintetizados y descritos en esta Memoria han sido realizadas por el Grupo de Investigación, dirigido por la Dra. Antonia Aránega, del Departamento de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de Granada.

La metodología de este trabajo se describe en la Parte Experimental. Se han ensayado 55 estructuras, cuyos resultados biológicos se detallan a continuación. En las Tablas 4.103 - 4.108 se presentan los datos de concentración inhibitoria 50 ( $CI_{50}$ ) de la proliferación sobre cultivos celulares de cáncer de mama humano, MCF-7 (los valores de  $CI_{50}$  obtenidos para cada compuesto se hallan siempre incluidos en un intervalo de variación inferior al 10% de los mismos). Junto a los compuestos en estudio, en cada experimento se ha ensayado el 5-FU, con el objetivo de utilizar siempre una misma referencia que le dé fiabilidad a los resultados obtenidos. Para este fármaco, se han obtenido valores de  $CI_{50}$  que oscilan entre 0.80 y 1.45  $\mu\text{M}$  (fuentes bibliográficas lo sitúan en  $4.5 \pm 2 \mu\text{M}$  sobre esta misma línea celular<sup>40</sup>). Además, se ha investigado la capacidad antiproliferativa de la 6-cloropurina, que ha mostrado una  $CI_{50}$  de 83.89  $\mu\text{M}$

sobre células MCF-7 (existen evidencias bibliográficas de la ineficacia de esta base nitrogenada en el control de la proliferación celular sobre un amplio abanico de líneas tumorales con valores de  $CI_{50}$  superiores a  $200 \mu M^{40}$ ).

#### **4.4.1. Resultados biológicos de los compuestos O,O-acetálicos (Librería 1).**

Los resultados biológicos de los anillos O,O-acetálicos con estructura de 3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina y 2-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepina diversamente sustituidos sobre N, se detallan en la Tabla 4.103.

Todos los compuestos han presentado actividades moderadas en la inhibición de la proliferación, residiendo la importancia de las mismas en la ausencia de cualquier resto con actividad biológica conocida. Como se deduce a partir de las actividades encontradas para **MDG-484D** ( $81.05 \mu M$ ) y el benzodioxepino **85** ( $151.28 \mu M$ ) la mera sustitución de un oxígeno por nitrógeno, confiere cierta actividad a estos compuestos. Esta actividad es modulable a través del sustituyente R'.

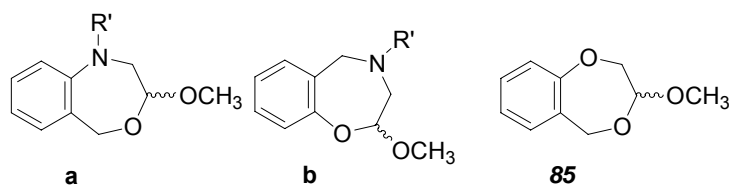
La lipofilia y la capacidad atrayente de electrones del sustituyente R', favorecen la actividad de estos compuestos. No se han observado diferencias entre los datos de actividad obtenidos para 4,1- y 1,4-benzoxazepinas (anillos tipo **a** y **b** en Tabla 4.103, respectivamente).

La presencia de un grupo atrayente de electrones sobre el nitrógeno benzoxazepínico es fundamental para la actividad, siendo los compuestos menos activos las aminas **MDG-484D** y **MDG-804B**.

En general, la unión de un grupo acilo al nitrógeno benzoxazepínico, confiere mejor actividad al compuesto final y así, las carboxamidas y carbamatos han resultado ligeramente más activos que las sulfonamidas. Se ha encontrado además, que la unión de un grupo atrayente de electrones al grupo carbonilo es beneficiosa, como se deduce de las  $CI_{50}$  observadas para los compuestos **MDG-540A**, **MDG-292A** y **MDG-946C**.



**Tabla 4.103.** Resultados de capacidad inhibitoria de la proliferación sobre la línea MCF-7 de cáncer de mama humano, obtenidos para los compuestos O,O-acetálicos (Librería 1).

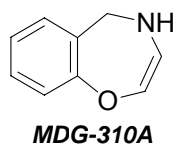


	Compuesto	R'	CI <sub>50</sub> (μM)
1	<b>MDG-484D (a)</b>	H	81.05
2	<b>MDG-804B (a)</b>	Bencilo	67.23
3	<b>MDG-908B (a)</b>	Formilo	<b>9.13</b>
4	<b>MDG-530B (a)</b>	Butanoílo	39.84
5	<b>MDG-540A (a)</b>	Trifluoroacetilo	27.39
6	<b>MDG-292A (b)</b>	Trifluoroacetilo	27.85
7	<b>MDG-616A (a)</b>	Benzoílo	36.70
8	<b>MDG-946C (a)</b>	<i>p</i> -Nitrobenzoílo	27.14
9	<b>MDG-964B (a)</b>	<i>p</i> -Aminobenzoílo	31.87
10	<b>MDG-791D (a)</b>	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmetoxicarbonilo	<b>26.19</b>
11	<b>MDG-904B (a)</b>	<i>p</i> -Metilbencénsulfonilo	<b>3.10</b>
12	<b>MDG-430A (a)</b>	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	44.80
13	<b>MDG-872B (a)</b>	<i>p</i> -Aminobencénsulfonilo	73.84
14	<b>MDG-206A (a)</b>	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	51.78
15	<b>MDG-858B (a)</b>	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo	43.36

Los compuestos se clasifican en aminas (entradas 1 y 2), carboxamidas (entradas 3-9), carbamatos (entrada 10) y sulfonamidas (entradas 11-15).

En cuanto a las sulfonamidas, el patrón de sustitución de los anillos aromáticos influye en la actividad. Un resto amino aumenta la actividad respecto al nitro en la posición *orto* y, sin embargo, la disminuye en *para*. La mejor actividad para las

sulfonamidas se encuentra cuando el sustituyente unido al anillo de benceno es un *p*-metilo, lo que apoya la idea de la mejora de la actividad con la lipofilia.



La formamida **MDG-908B**, con una  $Cl_{50}$  igual a 9.13  $\mu\text{M}$  y el compuesto **MDG-310A**, con  $Cl_{50}$  de 22.90  $\mu\text{M}$ , han resultado sorprendentemente activos.

Figura 4.104.

#### 4.4.2. Resultados biológicos de los compuestos *O,N*-acetálicos derivados de pirimidinas (Librería 2).

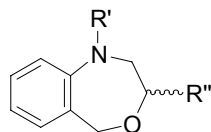
Los datos de  $Cl_{50}$  obtenidos para los compuestos cíclicos y acíclicos se resumen en las Tablas 4.105 y 4.106, respectivamente.

En general, los compuestos cíclicos derivados de 5-FU han resultado más activos que aquellos derivados de uracilo y, salvo en las aminas **MDG-924C** y **MDG-936B** ( $R' = \text{H}$ ), la unión  $N1''$  o  $N3''$  de la base nitrogenada no modifica la actividad de forma significativa. Se observa una tendencia a mejorar la actividad del isómero  $N3''$  sobre el  $N1''$ , con la presencia de grupos amino (véanse filas 1-2 y 8-9 de Tabla 4.105).

El sustituyente  $R'$ , de nuevo juega un papel fundamental en la actividad, en la que resulta vital bien el carácter atrayente de electrones del mismo o bien su lipofilia, como se desprende de los mayores valores de  $Cl_{50}$  que se han obtenido para las aminas **MDG-924C** y **MDG-936B**.

En cuanto a las bencénsulfonamidas, éstas admiten la sustitución en posición *para* por un grupo nitro o amino sin que se modifique la actividad biológica de forma significativa. Sin embargo el grupo nitro proporciona mejores valores de  $Cl_{50}$  que el amino cuando la sustitución se produce en *orto*.

**Tabla 4.105.** Resultados de capacidad inhibitoria de la proliferación sobre la línea MCF-7 de cáncer de mama humano, obtenidos para los compuestos *O,N*-acetálicos cíclicos derivados de pirimidinas (Grupo 2.1).

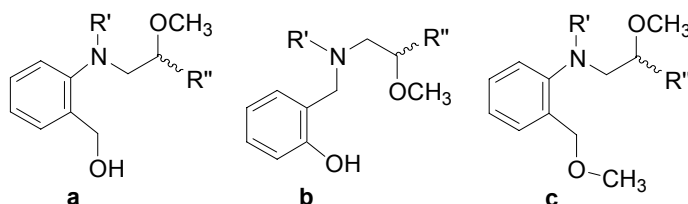


	Compuesto	R''	R'	CI <sub>50</sub> (μM)
1	<b>MDG-924C</b>	(N1'') 5-FU	H	102.26
2	<b>MDG-936B</b>	(N3'') 5-FU	H	72.40
3	<b>MDG-612B</b>	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	<b>19.33</b>
4	<b>MDG-612C</b>	(N3'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	<b>19.81</b>
5	<b>MDG-930B</b>	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Aminobencénsulfonilo	<b>14.37</b>
6	<b>MDG-607B</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	19.70
7	<b>MDG-607F</b>	(N3'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	22.63
8	<b>MDG-878A</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo	54.82
9	<b>MDG-892A</b>	(N3'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo	43.70
10	<b>MDG-850B</b>	(N1'') Uracilo	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	39.78
11	<b>MDG-850C</b>	(N3'') Uracilo	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	44.28
12	<b>MDG-864B</b>	(N1'') Uracilo	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	45.17
13	<b>MDG-864C</b>	(N3'') Uracilo	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	50.90

**Columna R'':** Grupo 2.1.1. Derivados de 5-FU (entradas 1-9). Grupo 2.1.2. Derivados de uracilo (entradas 10-13). **Columna R':** Aminas (entradas 1-2), sulfonamidas (entrada 3-13).

En la Tabla 4.106, se puede observar cómo los compuestos abiertos en los que se elimina el sustituyente R' son más activos que sus análogos *O,N*-acetales cíclicos (el compuesto desprotegido **MDG-708B** es tres veces más activo que el correspondiente ciclo **MDG-924C**) y presentan una actividad similar a aquellos que tienen un grupo R' atrayente de electrones. Entre estos últimos, son las carboxamidas **MDG-680G** y **MDG-310B**, las que mejores resultados ofrecen. Los compuestos sulfonamida son los menos activos.

**Tabla 4.106.** Resultados de capacidad inhibitoria de la proliferación sobre la línea MCF-7 de cáncer de mama humano, obtenidos para los compuestos *O,N*-acetálicos acíclicos derivados de pirimidinas (Grupo 2.2).



	Compuesto	R''	R'	CI <sub>50</sub> (μM)
1	<b>MDG-708B (a)</b>	(N1'') 5-FU	H	<b>35.97</b>
2	<b>MDG-568D (c)</b>	(N1'') 5-FU	H	<b>21.17</b>
3	<b>MDG-310B (b)</b>	(N1'') 5-FU	Trifluoroacetilo	<b>24.29</b>
4	<b>MDG-680G (a)</b>	(N1'') 5-FU	Benzoilo	<b>16.14</b>
5	<b>MDG-612D (a)</b>	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	48.50
6	<b>MDG-607G (a)</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	90.99
7	<b>MDG-898D (a)</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo	≥ 100
8	<b>MDG-850D (a)</b>	(N1'') Uracilo	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	45.76
9	<b>MDG-850E (a)</b>	(N3'') Uracilo	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	55.22
10	<b>MDG-864D (a)</b>	(N1'') Uracilo	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	64.81

**Columna R'':** Grupo 2.2.1. Derivados de 5-FU (entradas 1-7). **Grupo 2.2.2.** Derivados de uracilo (entradas 8-10). **Columna R':** Aminas (entradas 1 y 2), carboxamidas (entradas 3 y 4), sulfonamidas (entradas 5-10).

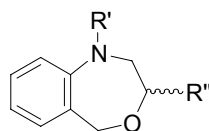
La protección del hidroxilo bencílico no parece afectar de forma considerable a la actividad de estos compuestos (véase **MDG-568D**, entrada 2 de la Tabla 4.106).

#### 4.4.3. Resultados biológicos de los compuestos *O,N*-acetálicos derivados de purinas (Librería 3).

Los datos de CI<sub>50</sub> obtenidos para los compuestos cíclicos y abiertos se resumen en las Tablas 4.107 y 4.108, respectivamente.

Los derivados de purinas han presentado los mejores valores de actividad biológica, encontrándose en rangos similares al 5-FU e incluso mejorándolo en algunos casos.

**Tabla 4.107.** Resultados de capacidad inhibitoria de la proliferación sobre la línea MCF-7 de cáncer de mama humano, obtenidos para los compuestos *O,N*-acetálicos cíclicos derivados de purinas (Grupo 3.1).



	Compuesto	R''	R'	CI <sub>50</sub> (μM)
1	<b>MDG-798D</b>	(N7'') 6-Cloropurina	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	<b>1.22</b>
2	<b>MDG-798C</b>	(N9'') 6-Cloropurina	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	2.73
3	<b>MDG-884B</b>	(N7'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	<b>0.92</b>
4	<b>MDG-884A2</b>	(N9'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	2.10
5	<b>MDG-953C</b>	(N7'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Aminobencénsulfonilo	9.14
6	<b>MDG-828C</b>	(N7'') 6-Cloropurina	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmetoxicarbonilo	<b>0.84</b>
7	<b>MDG-828B</b>	(N9'') 6-Cloropurina	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmetoxicarbonilo	<b>0.67</b>
8	<b>MDG-798D2</b>	(N7'') 6-Purinona	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	(*)
9	<b>MDG-884B2</b>	(N7'') 6-Purinona	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	19.66
10	<b>MDG-828F</b>	(N7'') 6-Purinona	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmetoxicarbonilo	53.57
11	<b>MDG-940C</b>	(N7'') 6-Feniltiopurina	H	48.92
12	<b>MDG-958A</b>	(N7'') 6-Feniltiopurina	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	<b>0.77</b>
13	<b>MDG-942B</b>	(N7'') 6-Feniltiopurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	2.59

(\*): Inhibe la proliferación a concentraciones bajas, pero no lo suficiente como para afectar al 50% del cultivo.

**Columna R'': Grupo 3.1.1.** Derivados de 6-cloropurina (entradas 1-7). **Grupo 3.1.2.** Derivados de 6-purinona (entradas 8-10). **Grupo 3.1.3.** Derivados de 6-feniltiopurina (entradas 11-13). **Columna R':** Aminas (entrada 11), carbamatos (entradas 6, 7 y 10), sulfonamidas (entradas 1-5, 8-9 y 12-13).

En los derivados cíclicos, la sustitución sobre la posición 6'', juega un papel fundamental para la actividad biológica y son los grupos lipófilos y voluminosos (cloro y

feniltio) los que han aportado los mejores resultados. La introducción de un grupo hidroxilo en esta posición con la formación de 6-purinona, conlleva una pérdida de actividad hasta hacerla comparable a la de los derivados de pirimidinas. La unión de la purina a través de su posición *N7*'' o *N9*'' afecta de forma ligera la actividad biológica, si bien, el carácter positivo o negativo de dicha afectación podría ser distinto en cada caso dependiendo en el sustituyente R' (véanse resultados de  $Cl_{50}$  para los regioisómeros derivados de *o*-Ns y *p*-Ns en las Filas 1-4 de Tabla 4.107 y para los regioisómeros derivados de Fmoc en las Filas 6 y 7).

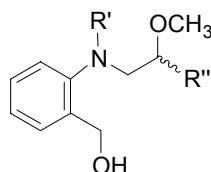
La presencia de un sustituyente R' es fundamental para la actividad, encontrándose que al eliminarlo, se produce un aumento de hasta 60 veces en las  $Cl_{50}$  de los derivados de 6-feniltiopurina (**MDG-940C**, **MDG-958A** y **MDG-942B**). Los sustituyentes R' deben ser lipófilos y se admiten grupos voluminosos, como se desprende de la buena actividad encontrada para los compuestos sustituidos con Fmoc (**MDG-828B** y **MDG-828C**). Los derivados carbonílicos han resultado más activos que los sulfonílicos.

En las bencénsulfonamidas, la sustitución *orto* es preferible sobre la *para* y el grupo nitro sobre el amino (al igual que previamente se observó para los *O,N*-acetales cíclicos derivados de pirimidinas, en el Apartado 4.4.2), cuando son derivadas de 6-cloropurina. Sin embargo, el compuesto con 6-feniltiopurina **MDG-958A** (*p*-Ns) es más activo que el **MDG-942B** (*o*-Ns).

En cuanto a los compuestos acíclicos, únicamente se han ensayado las sulfonamidas indicadas en la Tabla 4.108.

Al igual que en las estructuras cíclicas, la unión de un anillo de 6-cloropurina mejora la actividad biológica respecto a los *O,N*-acetales derivados de pirimidinas. La situación *orto* o *para* del grupo nitro, proporcionan actividades similares sobre los isómeros *N9*'' (filas 1 y 3 de Tabla 4.108). Los valores de  $Cl_{50}$  son considerablemente menores para el isómero *N7*'' *o*-nitrobencénsulfonilo (**MDG-884D**).

**Tabla 4.108.** Resultados de capacidad inhibitoria de la proliferación sobre la línea MCF-7 de cáncer de mama humano, obtenidos para los compuestos *O,N*-acetálicos acíclicos derivados de purinas (Grupo 3.2).



	Compuesto	R''	R'	CI <sub>50</sub> (μM)
1	<b>MDG-798E</b>	(N9'') 6-Cloropurina	<i>p</i> -Nitrobencénsulfonilo	18.70
2	<b>MDG-884D</b>	(N7'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	<b>3.25</b>
3	<b>MDG-884C</b>	(N9'') 6-Cloropurina	<i>o</i> -Nitrobencénsulfonilo	11.30

Columna R'': Grupo 3.2.1. Derivados de 6-cloropurina. Columna R': Sulfonamidas.

Si comparamos los resultados obtenidos para todos estos tipos de compuestos finales, cíclicos y abiertos, se puede concluir que:

- Los mejores resultados se consiguen con el aumento del volumen y la lipofilia en la posición R'' y de este modo, los compuestos derivados de purinas son los más activos, seguidos de aquellos que contienen 5-FU (los derivados de uracilo, muestran una actividad similar a los *O,O*-acetales con el mismo grupo R'). La introducción de restos lipófilos sobre los anillos de purina aumenta la actividad.
- Es fundamental la existencia de un sustituyente R' distinto de hidrógeno para obtener una buena actividad. La lipofilia de dicho sustituyente es favorable y no se han observado restricciones de tamaño entre los grupos estudiados. El carácter atrayente de electrones del mismo es beneficioso en los *O,O*-acetales, no pudiéndose afirmar lo mismo para los *O,N*-acetales por falta de datos.
- Los sustituyentes R' acilo han aportado una mejor capacidad antiproliferativa que los grupos sulfonilo, en los compuestos *O,O*-acetálicos, en los *O,N*-acetales acíclicos derivados de 5-FU y en los *O,N*-acetales cíclicos derivados de 6-cloropurina.

- Los *O,N*-acetales abiertos han resultado menos activos que los correspondientes cíclicos en todos los casos, excepto cuando R' es un átomo de hidrógeno.
- Los derivados de 5-FU son más activos que los *O,O*-acetales correspondientes, con la excepción de las *o*-aminobencénsulfonamidas que presentan valores de  $CI_{50}$  muy similares en ambos tipos de compuestos (las *o*-aminobencénsulfonamidas *O,O*-acetálicas son ligeramente más activas que las *o*-nitro; en cambio, las *o*-aminobencénsulfonamidas derivadas de 5-FU son menos activas que las *o*-nitro).
- Las bencénsulfonamidas *O,O*-acetálicas, admiten un grupo nitro o amino en posición *orto* sin afectarse significativamente la actividad y en cambio, es preferible un grupo nitro en posición *para*. La situación es la contraria para las bencénsulfonamidas derivadas de 5-FU o de 6-cloropurina, que toleran ambos grupos en posición *para* pero únicamente el nitro en posición *orto* (en los derivados de 6-cloropurina, el efecto de un grupo amino en *para* está aún por determinar).



Bibliografía

- 1 Díaz-Gavilán, M.; Rodríguez-Serrano, F.; Gómez-Vidal, J.A.; Marchal, J.A.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A.; Campos, J.M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11547-11557.
- 2 a) Chakravarty, A.K.; Dastidar, P.P.G.; Pakrashi, S.C. *Tetrahedron* **1982**, *38*(12): 1797-1802. b) Garratt, P. J.; Jones, R.; Toches, D. A. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*: 1132-1139.
- 3 a) Som, A.; Matile, S. *European Journal of Organic Chemistry* **2002**, *22*, 3874-3883. b) Vigorita, M. G.; Previtera, T.; Saporito, G.; Costa de Pasquale, R.; Circosta, C.; Occhiuto, F. *Farmaco, Edizione Scientifica* **1984**, *39*(5), 403-413. c) Vigorita, M.G.; Saporito, G.; Nastasi, S.; Costa de Pasquale, R.; Occhiuto, F.; Circosta, C. *Farmaco, Edizione Scientifica* **1984**, *39*(9), 810-816. d) Piler, M.; Huebsch, W.J. *Monatshefte fuer Chemie* **1966**, *97*(6), 1541-1553.
- 4 Katritzky, A.R.; Yang, B.; Semenzin, D. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 726-728.
- 5 Fukuyama, T.; Jow, C.K.; Cheung, M. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*(36), 6373-6374.
- 6 a) Russell, J.; Linderman, S.B.; Petrich, S.R. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 336-337. b) Seiler, M.; Schumacher, A.; Lindemann, U.; Barbosa, F.; Giese, B. *Synlett* **1999**, *10*, 1588-1590. c) Curley, R.W.Jr.; Mershon, S.M.; Barnet, D.W.; Clagett-Dame, M.; Chapman, J.S. *PCT. Int. Appl.* **2003**, *51* pp. d) Mulzer, J.; Langer, O. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6540-6546.
- 7 a) Liu M.C., Lin T.S., Cory J.G., Cory A.H., Sartorelli A.C. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*: 2586-2593. b) Leeson P.D., Baker R., Carling R.W., Curtis N.R., Moore K.W., Williams B.J., Foster A.C., Donald A.E., Kemp J.A., Marshall G.R. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*(4): 1243-1252.
- 8 Miller S.C.; Scalan, T.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2301-2302.
- 9 a) Tsunoda, T.; Yamamiya, Y., Ito, S. *Tetrahedron Letters* **1993**, *34*(10), 1639-1642. b) Tsunoda, T.; Otsuka, J.; Yamamiya, Y.; Ito, S. *Chem. Lett.* **1994**, 539-542. c) Dallinger, D.; Kappe, O. *Synlett* **2002**, *11*, 1901-1903.
- 10 a) Macor, J.E., Wehner, J.M. *Tetrahedron Letters* **1991**, *32*, 7195-7198. b) Ito, S.; Tsunoda, T. *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*(6), 1053-1057. c) Kozai, S.; Takaoka, S.; Maruyama, T. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 2633-2636.
- 11 Macor, J.E.; Blank, D.H., Post, R.J.; Ryan, K. *Tetrahedron Letters* **1992**, *33*, 8011-8014.
- 12 Falck, J.R.; Lai, J.Y.; Cho, S.D.; Yu, J. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40*, 2903-2906.
- 13 a) Takacs, J.M.; Xu, Z.; Jiang, X-T.; Leonov, A.P.; Theriot, G.C. *Organic Letters* **2002**, *4*(22), 3843-3845. b) Chen, K.X.; Njoroge, F.G.; Vibulhan, B.; Buevich, A.; Chan, T.M.; Girijavallabhan, V. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2730-2733.
- 14 Fukuyama, T.; Jow, C.K.; Cheung, M. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*(36), 6373-6374.
- 15 Stromgaard, K.; Andersen, K.; Ruhland, T.; Krogsgaard-Larsen, P.; Jaroszewski, J.W. *Synthesis* **2001**, *6*, 877-884.
- 16 Rew, Y.; Goodman, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 8820-8826.
- 17 a) Macor, J.E.; Ogilvie, R.J.; Wythes, M.J. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4289-4292. b) Macor, J.E.; Ogilvie, R.J.; Wythes, M.J. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4289-4292.
- 18 Espinosa, A.; Gallo, M.A.; Campos, J.; Gómez, J.A. *Synlett* **1995**, 1119-1120.
- 19 Mukaiyama, T. *Angewandte Chemie* **1979**, *18*(10), 707-808.
- 20 Matthews J.M., Greco M.N., Hecker L.R., Hoekstra W.J., Andrade-Gordon P., Garavilla L., Demarest K.T., Ericson E., Gunnet J.W., Hageman W., Look R., Moore J.B., Maryanoff B.E. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2003**, *13*, 753-756.
- 21 Pretsch, E.; Clerc, T.; Seibl, J.; Simon, W. Tablas para la Determinación Estructural por Métodos Espectroscópicos, 3ª ed., Springer-Verlag Ibérica, Barcelona, **1998**; pp H150, C212.
- 22 Kemp, W. NMR in Chemistry. A Multinuclear Introduction. MacMillan, Londres, UK, **1986**; pp 158-168.

- 23 Oki, M. Applications of Dynamic NMR Spectroscopy to Organic Chemistry. In *Methods in Stereochemical Analysis*, Vol. 1. VCH, Deerfield Beach, **1985**.
- 24 a) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Suárez, I.; Aránega, A.; Choquecillo, D.; Niclós, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5457-5467. b) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8017-8026.
- 25 a) Sakai, N.; Hirasawa, M.; Hamajima, T.; Konakahara, T. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 483-488. b) Sugiura, M.; Hagio, H.; Hirabayashi, R.; Kobayashi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12510-12517. c) Harada, T.; Sekiguchi, K.; Nakamura, T.; Suzuki, J.; Oku, A. *Organic Letters* **2001**, *3*(21), 3309-3312. d) Sammakia, T.; Smith, R.S. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2997-3000. e) Sammakia, T.; Smith, R.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7915-7916.
- 26 a) Campos, J.; Pineda, M.J.; Gómez, J.A.; Entrena, A.; Trujillo, M.A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8907-8924. b) Gómez, J.A.; Campos, J.; Marchal, J.A.; Trujillo, M.A.; Melguizo, C.; Prados, J.; Gallo, M.A.; Aránega, A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1997**, *53*(21), 7319-7334. c) Gómez, J.A.; Trujillo, M.A.; Campos, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13295-13312. d) Trujillo, M.A.; Gómez, J.A.; Campos, J.; Espinosa, A.; Gallo, M.A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3951-3961. e) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Suárez, I.; Aránega, A.; Choquecillo, D.; Niclós, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5457-5467. f) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8017-8026.
- 27 Sasmal, P.K.; Maier, M.E. *Organic Letters* **2002**, *4*(8), 1271-1274.
- 28 Vorbrüggen, H.; Ruh-Pohlentz, C. *Organic Reactions (New York)* **2000**, *55*, 1-630.
- 29 Garner, P.; Ramakanth, S. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*(6), 1294-1298. Los regioisómeros alquilados en la posición N7 se obtuvieron a partir de purinas silanizadas, utilizando SnCl<sub>4</sub> y CH<sub>3</sub>CN a t.a, mientras los productos de alquilación N9 se obtuvieron a partir de las mismas purinas, utilizando TMSOTf y 1,2-dicloroetano a reflujo.
- 30 Boryski, J.; Manikowski, A. *Nucleosides and Nucleotides* **1999**, *18*(4&5), 1057-1059.
- 31 Hasan, A.; Srivastava, P. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1435-1439.
- 32 Yamada, K.; Sakata, S.; Yoshimura, Y. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6891-6899.
- 33 Hocková, D.; Budesinsky, M.; Marek, R.; Marek, J.; Holy, A. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2675-2682.
- 34 Okumura, K.; Oine, T.; Yamada, Y.; Tomie, M.; Adachi, T.; Natura, T.; Kawazu, M.; Mizoguchi, T.; Inoue, I. Synthetic Studies on Eritadenine. I. *J. Org. Chem.* **1971**, *36*(12), 1573-1579.
- 35 Marek, R.; Brus, J.; Tousek, J.; Kovacs, L.; Hocková, D. *Magn. Reson. Chem.* **2002**, *40*, 353-360.
- 36 Holy, A.; Dvorakova, H.; Jindrich, J.; Masojdkova, M.; Budesinsky, M.; Balzarini, J.; Andrei, G.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4073-4088.
- 37 Saniger Bernal, E. Nuevos Profármacos de 5-Fluorouracilo con Restos de Dihydrobenzodioxepinos y Compuestos Relacionables con Actividad Diferenciadora Celular y Antiproliferativa. Tesis Doctoral, Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica, Universidad de Granada. Granada, **2002**.
- 38 Sobre la influencia estérica de sustituyentes en la regioselectividad, la diastereoselectividad y el mecanismo de este tipo de reacciones: a) Referencia 26c-d. b) Okitsu, O.; Suzuki, R.; Kobayashi, S. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 809-823.
- 39 Tsujimoto T., Murai, A. *Synlett* **2002**, *8*, 1283-1284.
- 40 Gazivoda, T.; Plevnik, M.; Plavec, J.; Kraljevic, S.; Kralj, M.; Pavelic, K.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Mintas, M.; Raic-Malic, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 131-139.
- 41 Ejemplos de eliminaciones E<sub>2</sub>, *syn*, de hidrógenos situados en posición α respecto de purinas protonadas: Rodgers, M.T.; Campbell, S.; Marzluff, E.M.; Beauchamp, J.L. *Internacional Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1995**, *148*, 1-23.
- 42 Khuddus, M.A.; Swern, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 8393.

- 43 Gurvich, V.; Kim, H.Y.; Hodge, R.P.; Harris, C.M.; Harris, T.M. Book of Abstracts, 218th ACS Nacional Meeting, New Orleans, Aug. 22-26, **1999**.
- 44 Keck, J.H. Jr.; Simpson, R.A.; Wong, J.L. *J. Org. Chem.* **1978**, 43(13), 2587-2590.
- 45 Whitfield, H.J.; Griffin, R.J.; Hardcastle, I.R.; Henderson, A.; Meneyrol, J.; Mesguiche, V.; Sayle, K.L.; Golding, B.T. *Chem. Commun.* **2003**, 2802-2803.
- 46 Peterson, M.L.; Vince, R. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 2787-2797.
- 47 Seckárová, P.; Marek, R.; Malinaková, K.; Kolehmainen, E.; Hockova, D.; Hocek, M.; Sklenár, V. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45, 6259-6263.



**Anexo a la Parte Teórica.**



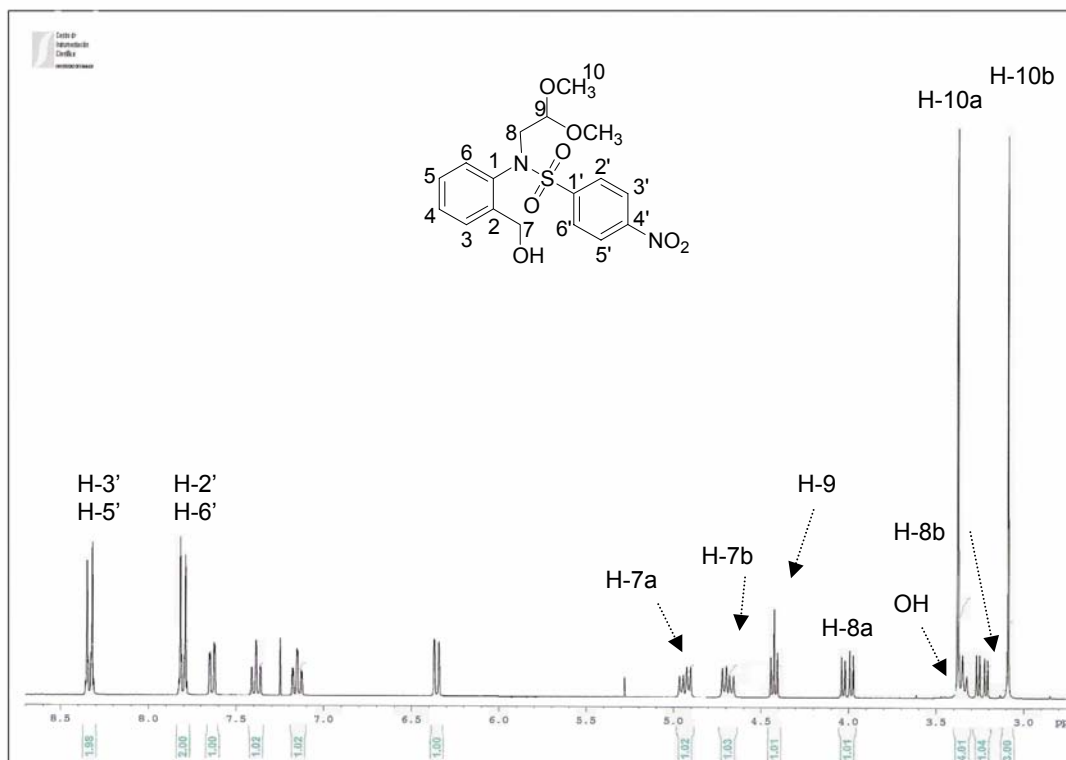


Figura A.1. Espectro  $^1\text{H-RMN}$  de **MDG-422B** ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz, t.a). Los hidrógenos H-7 y H-8 y los grupos metoxilo, son diastereotópicos.

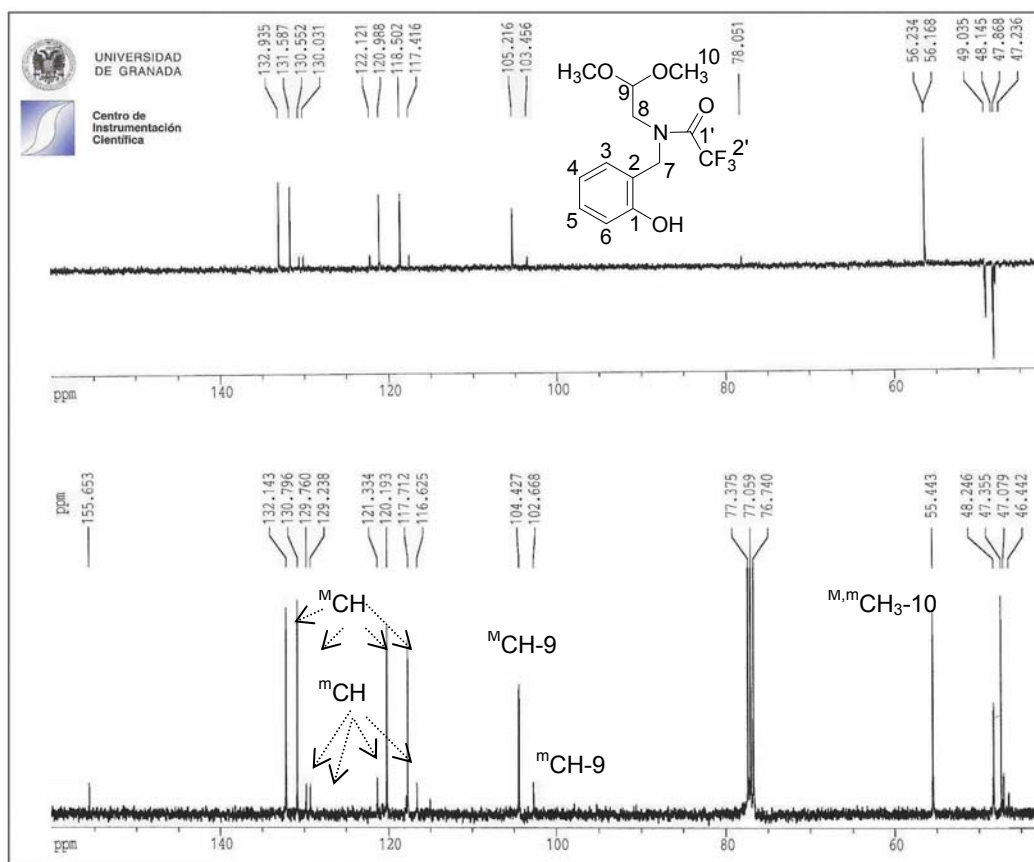
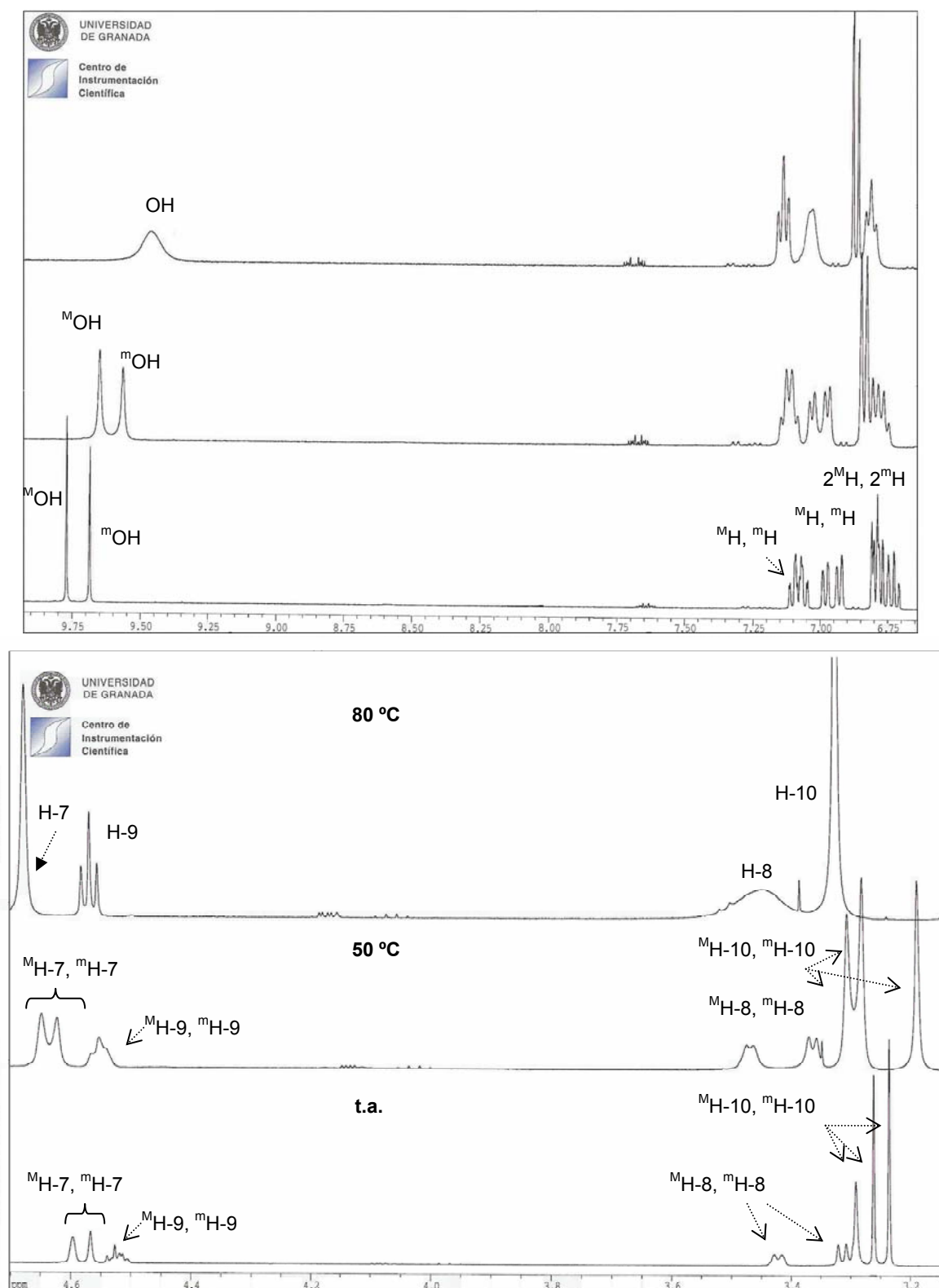


Figura A.2. Espectro  $^{13}\text{C-RMN}$  y DEPT de **MDG-267A** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz). Mediante superíndices se indica el isómero al que pertenece cada señal (isómero M: mayoritario; isómero m: minoritario).



**Figura A.3.** Espectros <sup>1</sup>H-RMN de **MDG-267A** medidos a t.a., 50° C y 80° C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz). Las señales de cada uno de los rotámeros coalescen al alcanzar los 80° C. Mediante superíndices se indica el confórmero al que pertenece cada señal (confórmero M: mayoritario; confórmero m: minoritario). Arriba, franja del espectro entre 10.0 y 6.0 ppm. Debajo, franja del espectro entre 5.0 y 3.0 ppm. A t.a., los grupos metoxilo (H-10) son diastereotópicos.



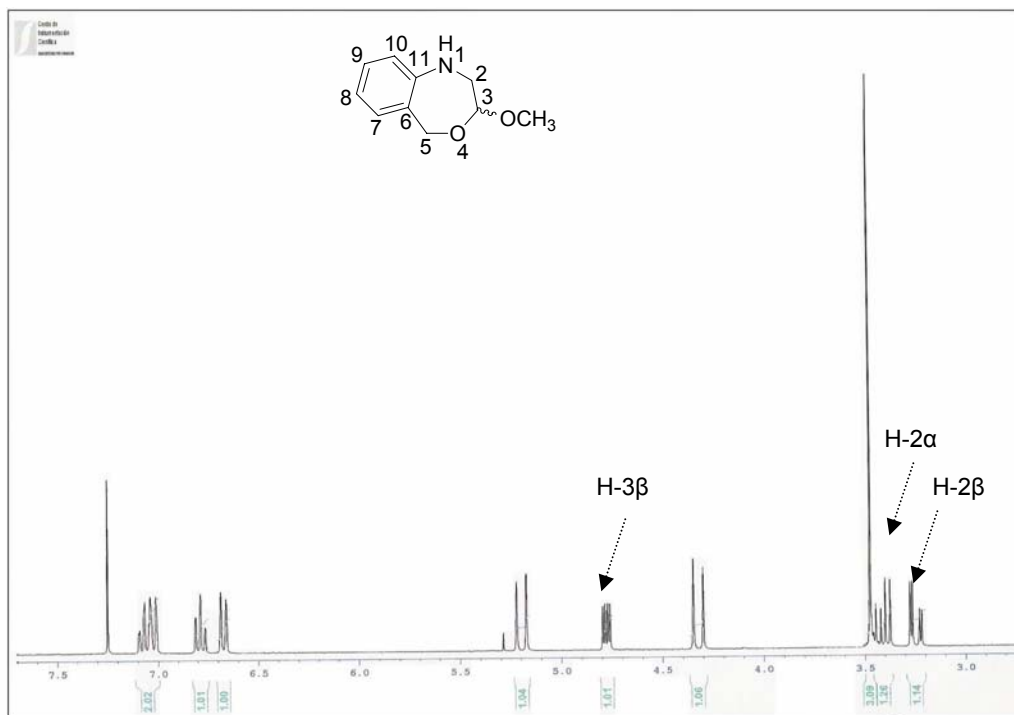


Figura A.4. Espectro  $^1\text{H-RMN}$  de **MDG-484D** ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz).

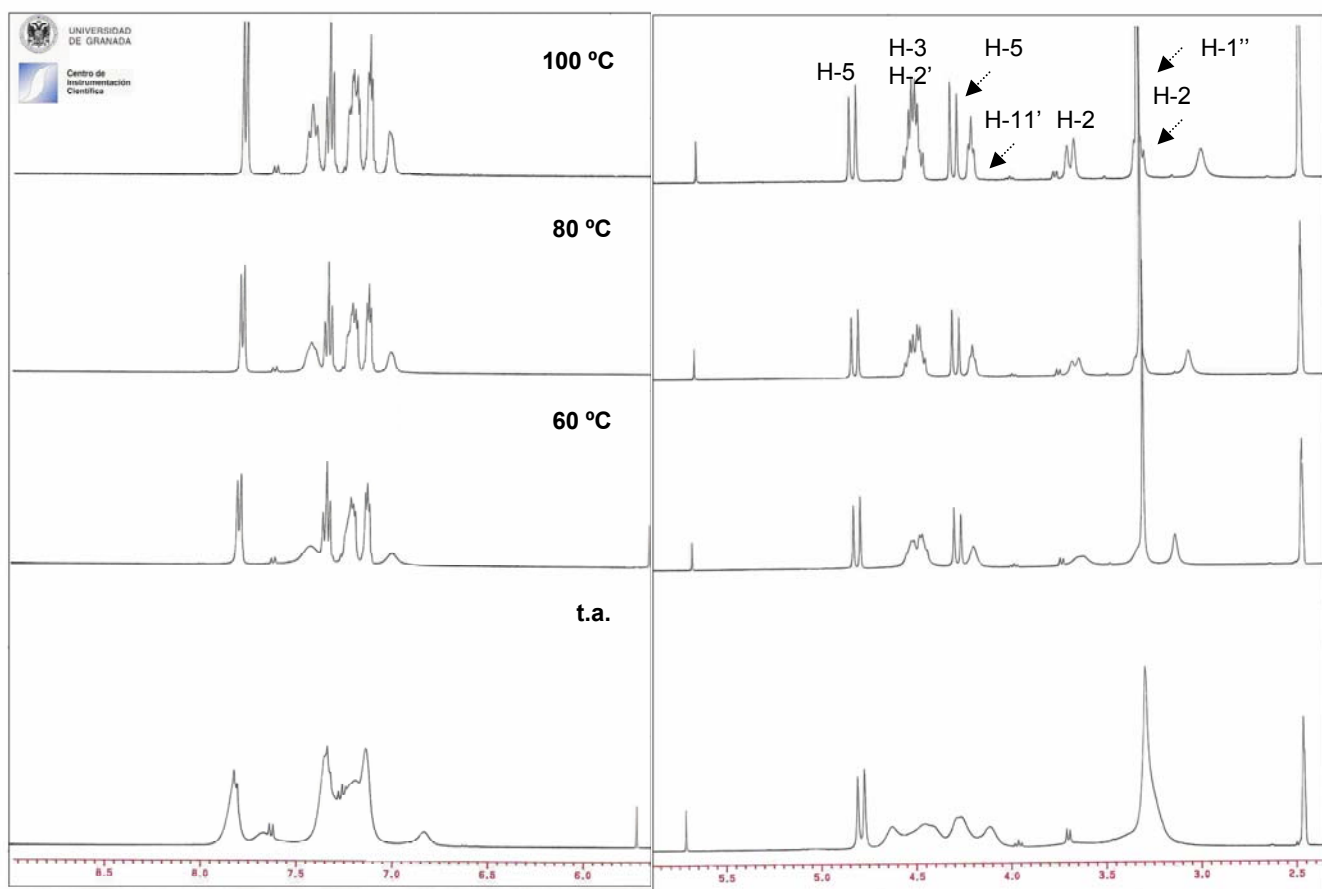


Figura A.5. Espectros  $^1\text{H-RMN}$  del compuesto **MDG-791D**, registrados a t.a., 60, 80 y 100 °C. A la izquierda, zona del espectro comprendida entre 8.5 y 5.5 ppm. A la derecha, zona del espectro comprendida entre 5.5 y 2.0 ppm.

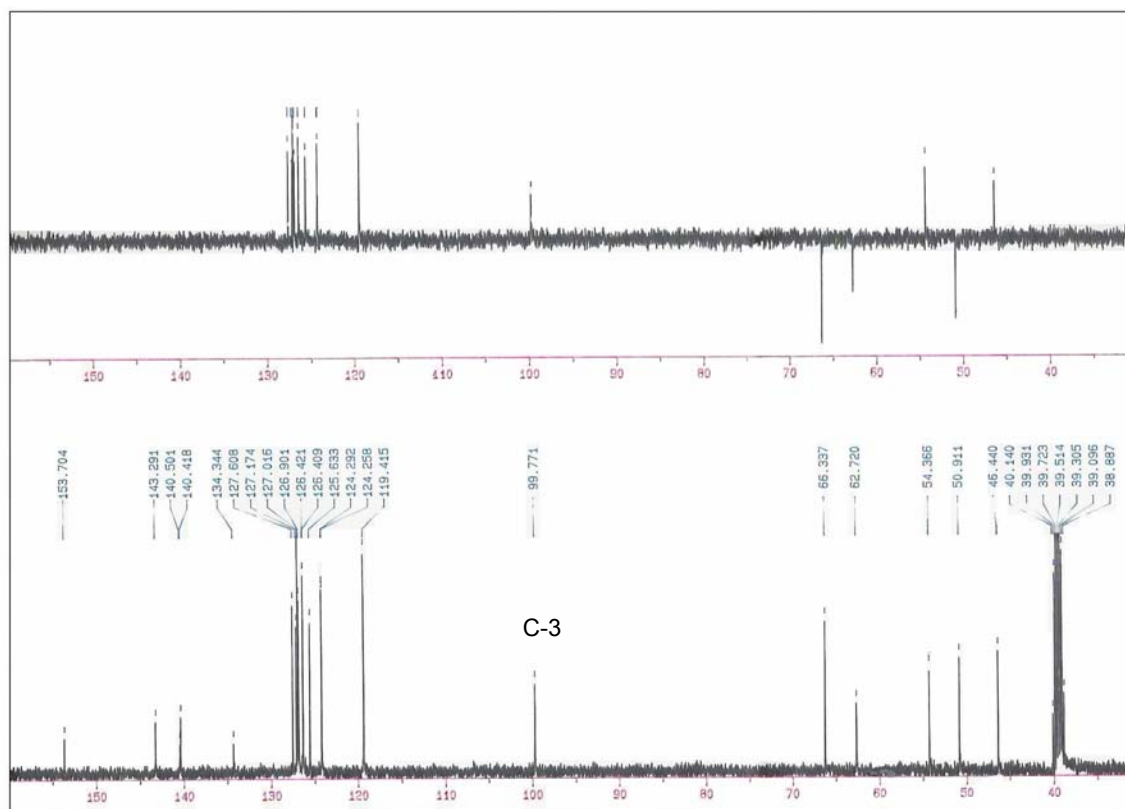
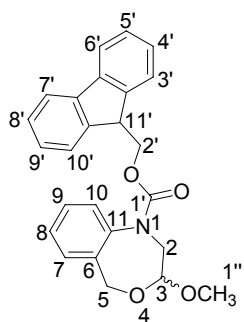
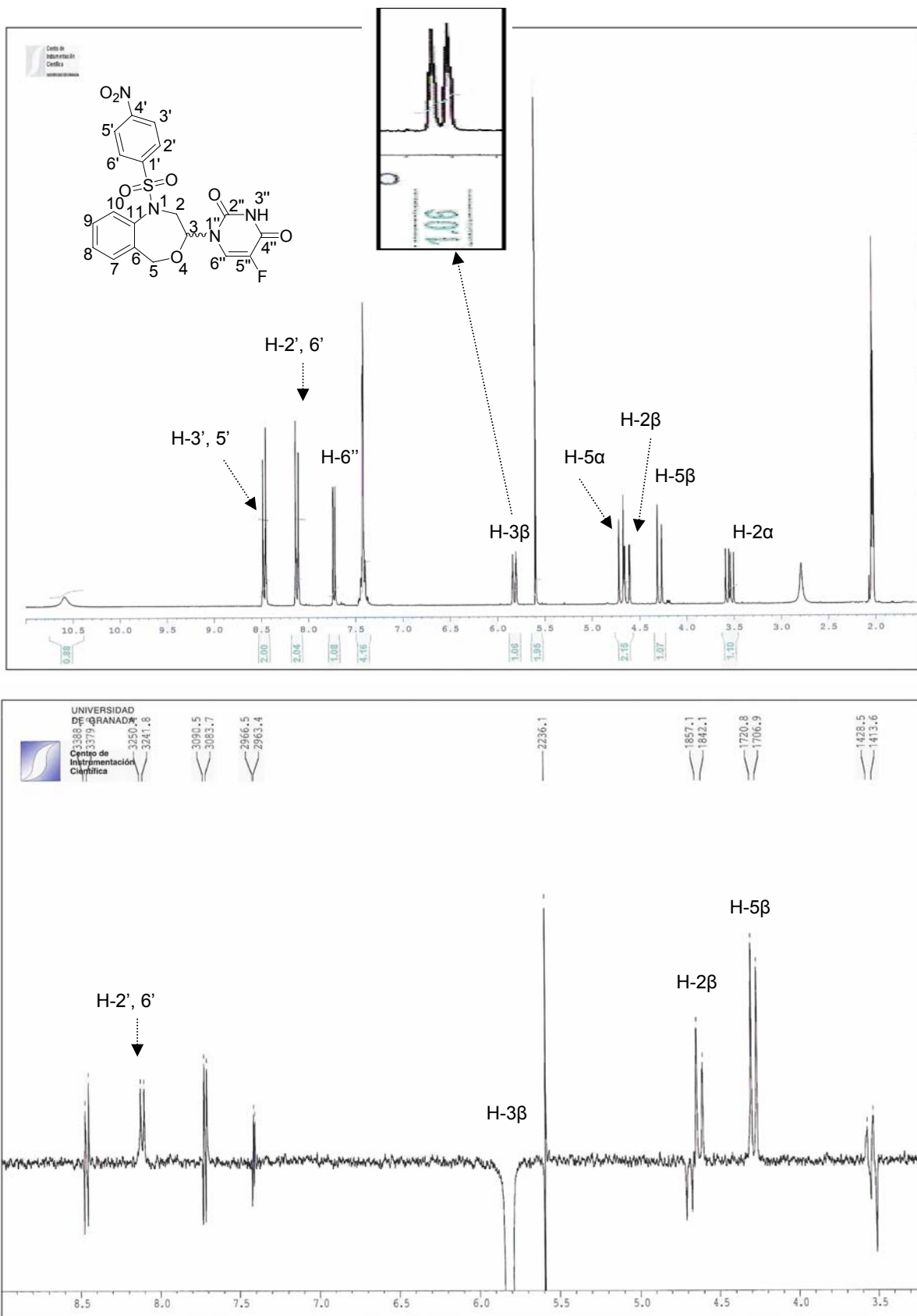


Figura A.6. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN del compuesto **MDG-791D**, registrado a 100 °C (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).



**Figura A.7.** Arriba, espectro <sup>1</sup>H-RMN (acetona-d<sub>6</sub>, 300 MHz) de **MDG-612B** (detalle del doblete de H-3β). Debajo, efectos NOE del hidrógeno acetálico H-3β, observados en el mismo compuesto (acetona-d<sub>6</sub>).

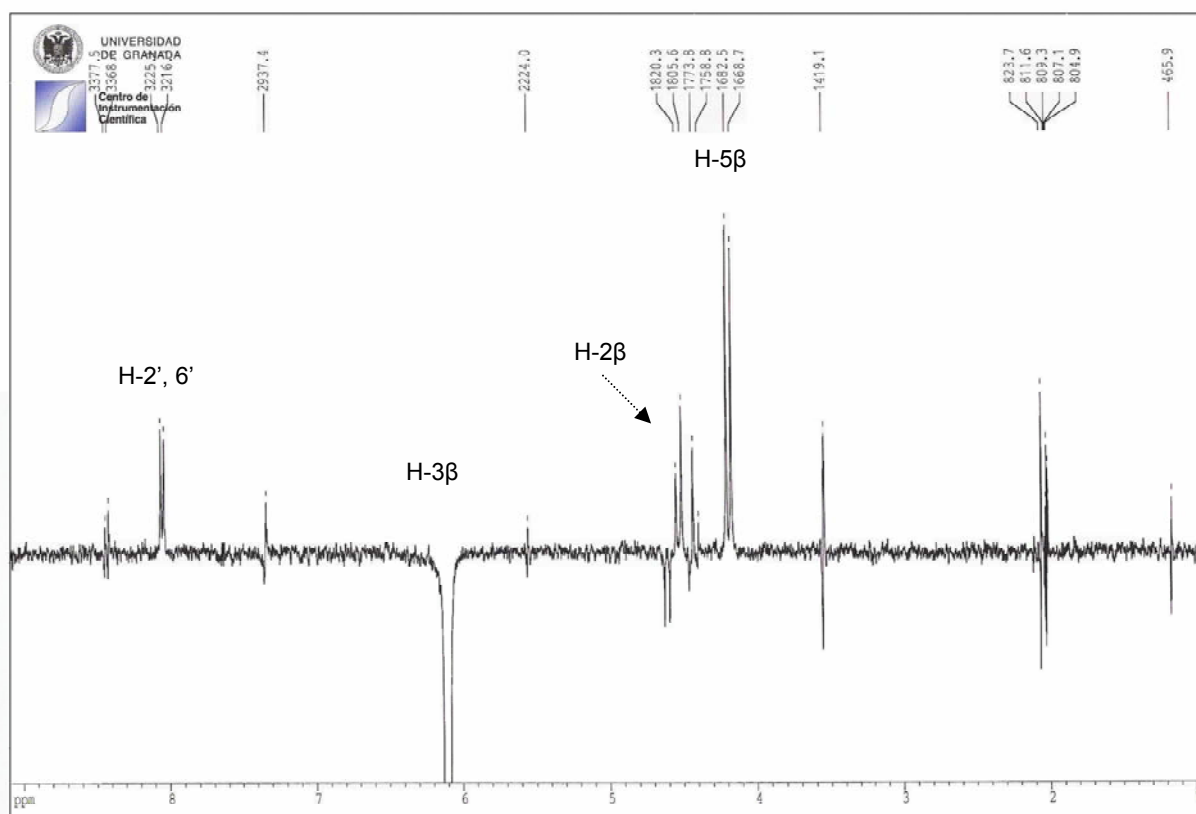
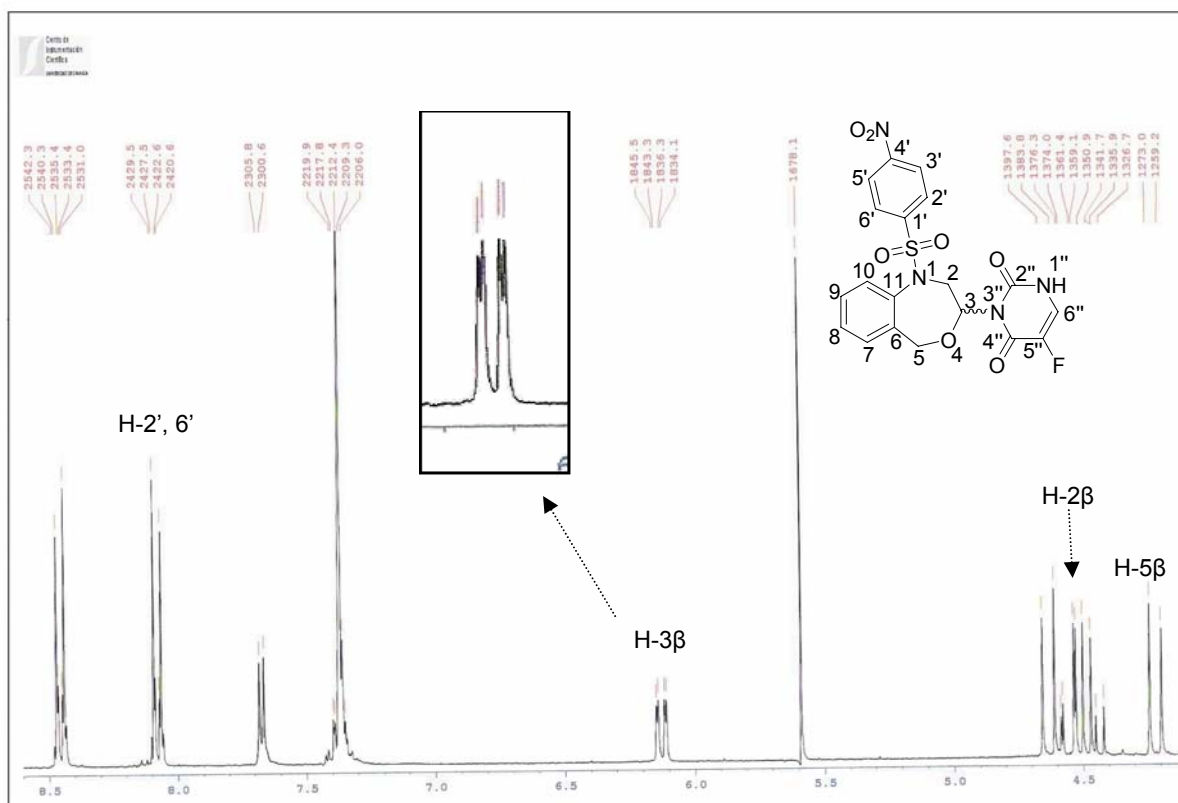
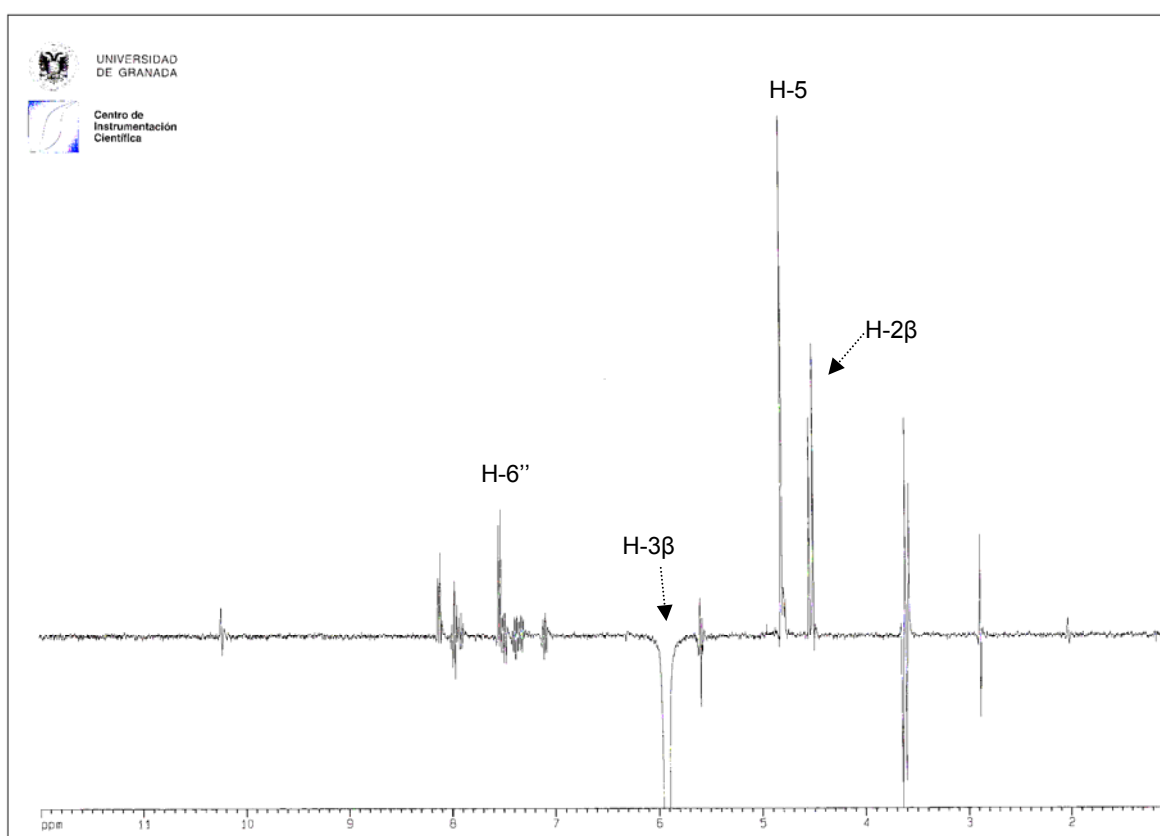
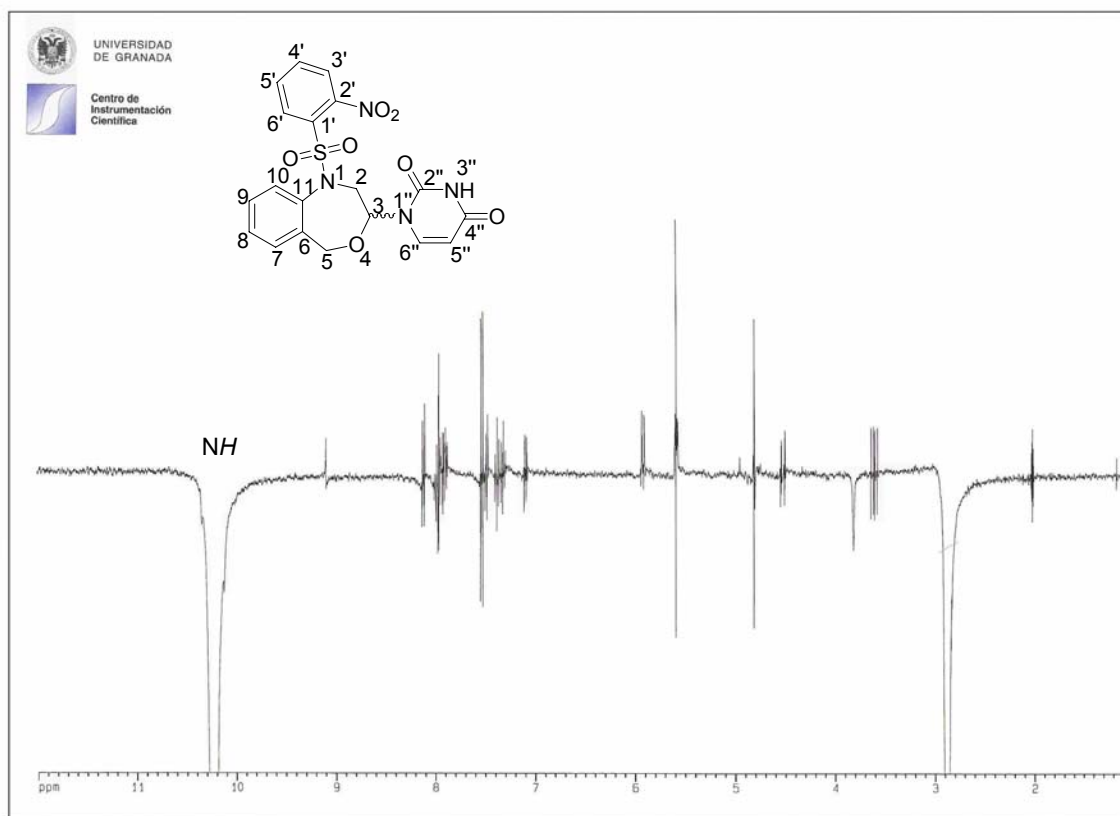


Figura A.8. Arriba, espectro  $^1\text{H}$ -RMN (acetona- $d_6$ / $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) de **MDG-612C**. Debajo, efectos NOE del hidrógeno acetálico H-3 $\beta$ , observados en el mismo compuesto (acetona- $d_6$ ).



**Figura A.8.** Arriba, irradiación de la amida libre del uracilo en **MDG-864B**, sin apreciarse efectos NOE. Debajo, efectos NOE observados al irradiar el hidrógeno acetálico, H-3β de **MDG-864B** (el efecto H3β-H6'' es característico de unión N1''). Ambos en acetona- $d_6$ .



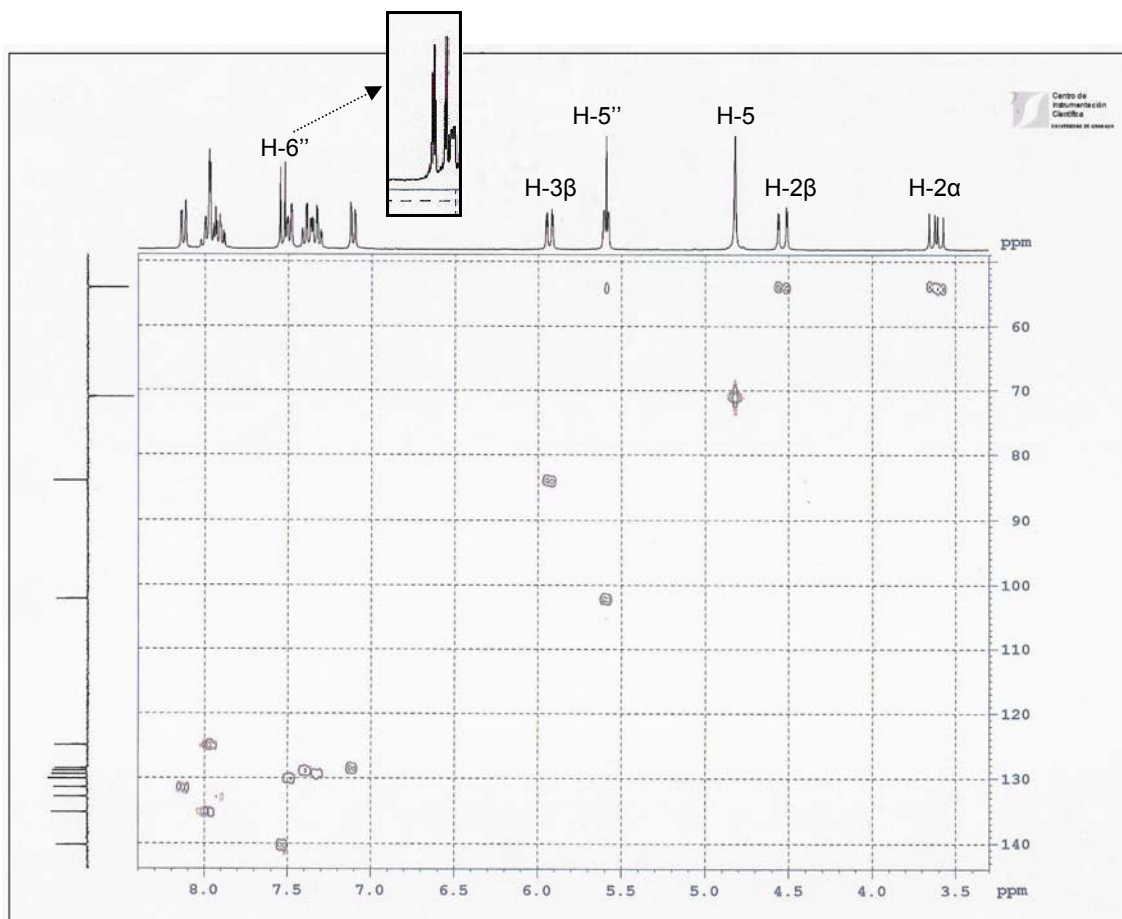


Figura A.10. Espectro HMQC (acetona- $d_6$ ) de **MDG-864B** (detalle del doblete del protón H-6'', característico de la unión N1'').

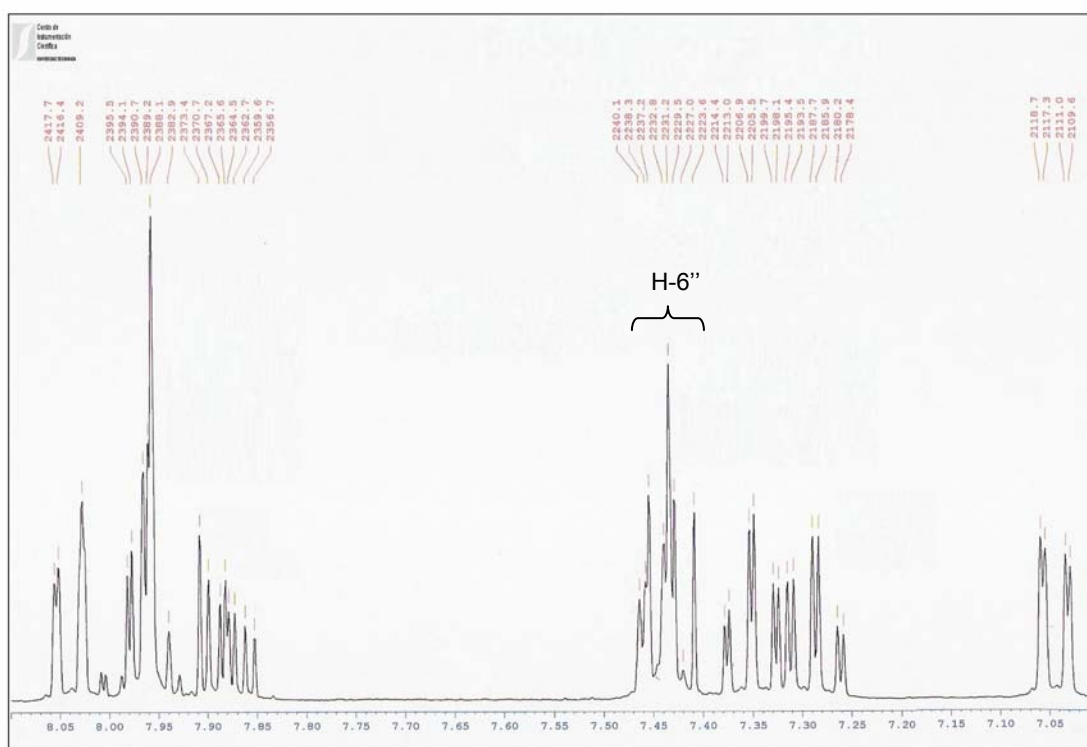
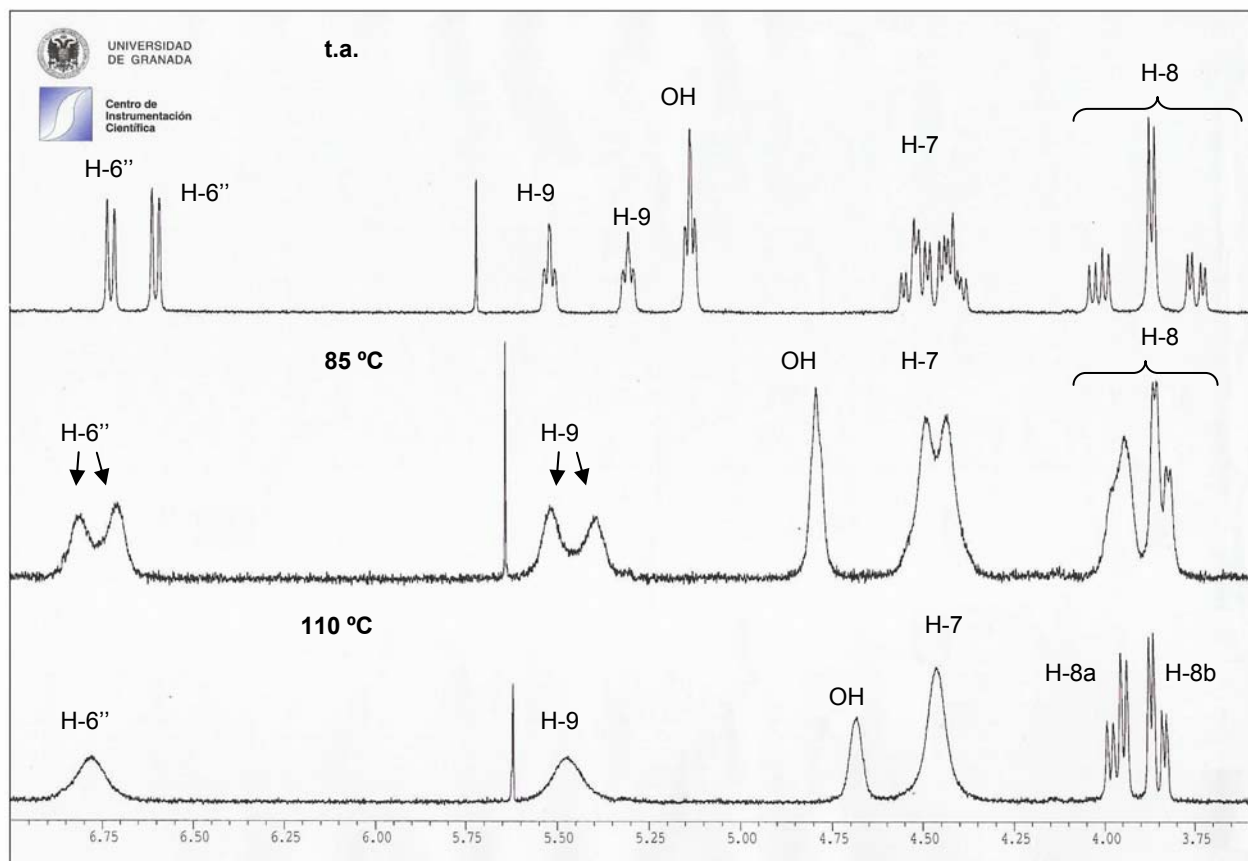
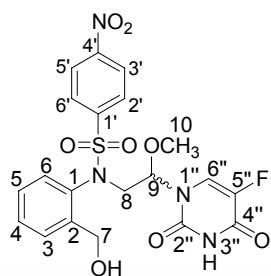


Figura A.11. Doble doblete correspondiente a H-6'', característico de la unión N3'', en **MDG-864C** (espectro registrado en acetona- $d_6$ ).



**Figura A.12.** Espectro  $^1\text{H}$ -RMN (7.0–3.5 ppm) del *O,N*-acetal abierto **MDG-612D** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz). A t.a. se observan las señales correspondientes a dos estructuras conforméras, las cuales presentan señales diastereotópicas para H-7 y H-8. Al aumentar la temperatura hasta los 110 °C, aparece una única estructura y, además, los protones bencílicos H-7 resuenan en un singlete ancho, mientras que los protones H-8 siguen siendo diastereotópicos.



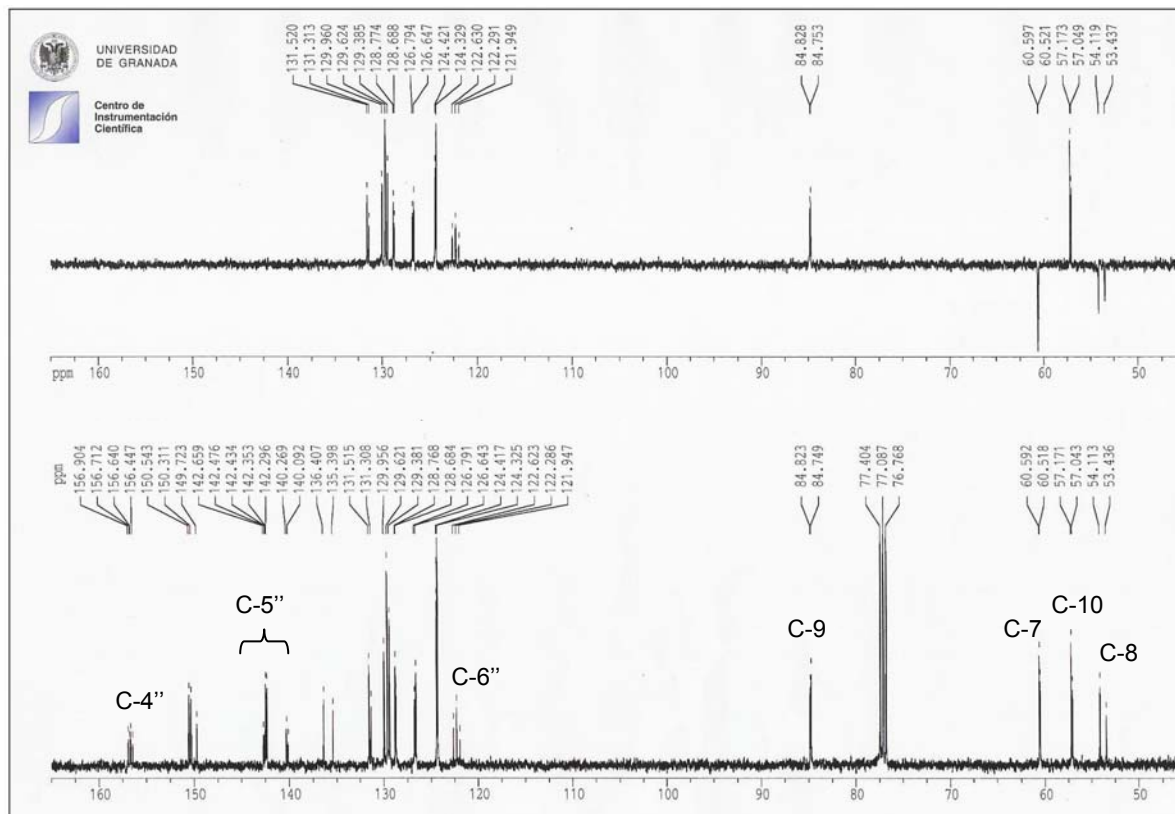


Figura A.13. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT de **MDG-612D** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz, t.a). Las señales aparecen duplicadas, por la presencia de dos estructuras confórmegas.

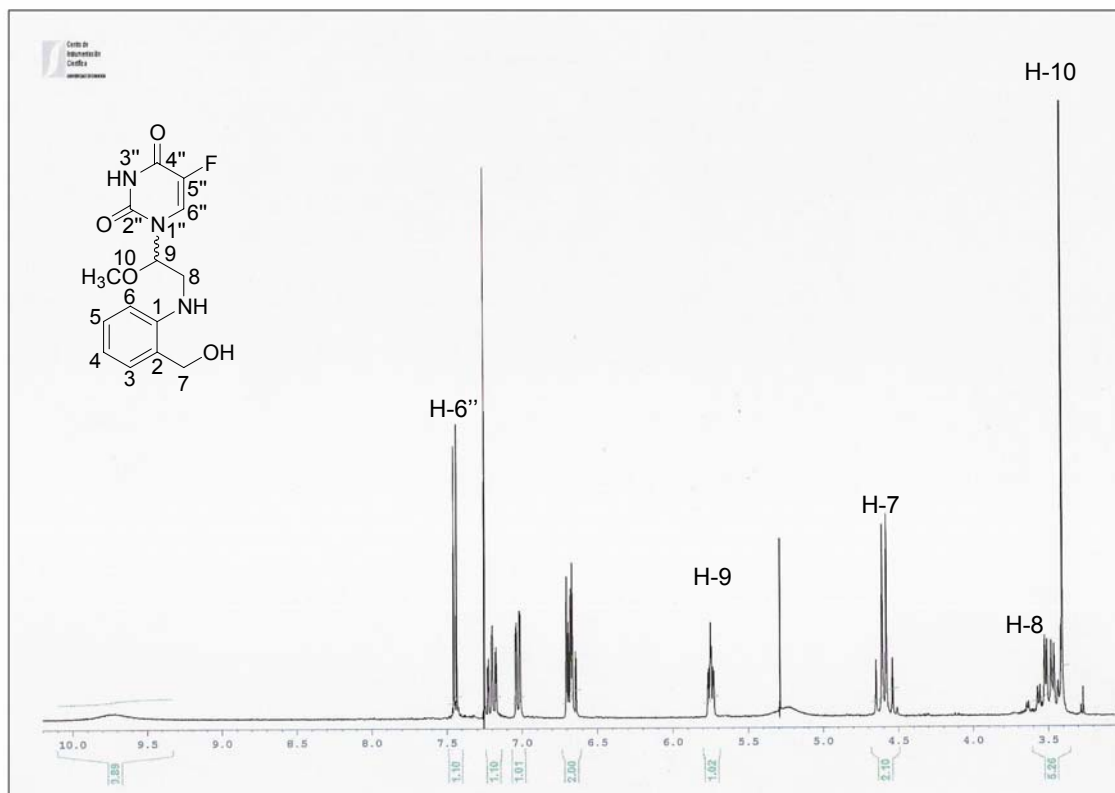


Figura A.14. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN de **MDG-708B** ( $\text{CDCl}_3$ , t.a). Las señales corresponden a una única estructura. Los hidrógenos H-7 y H-8 son diastereotópicos.

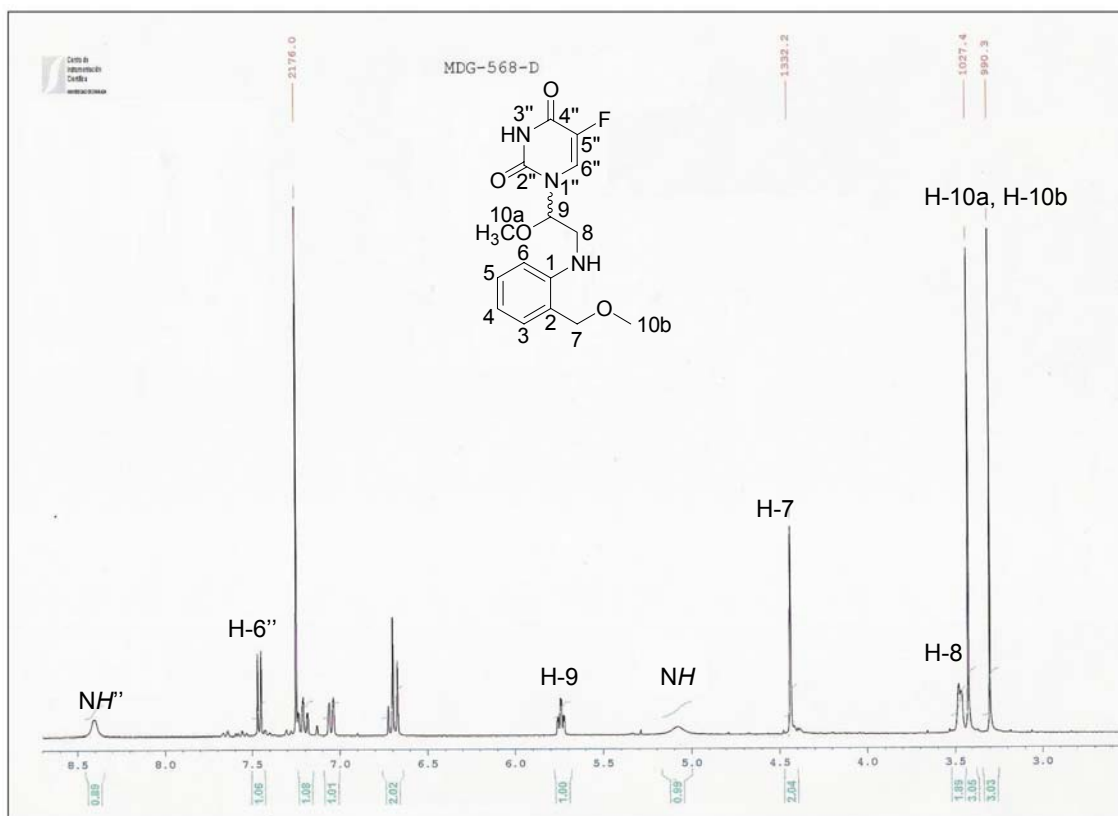


Figura A.15. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN de **MDG-568D** ( $\text{CDCl}_3$ , t.a). Las señales corresponden a una única estructura. No se observan grupos diastereotópicos.

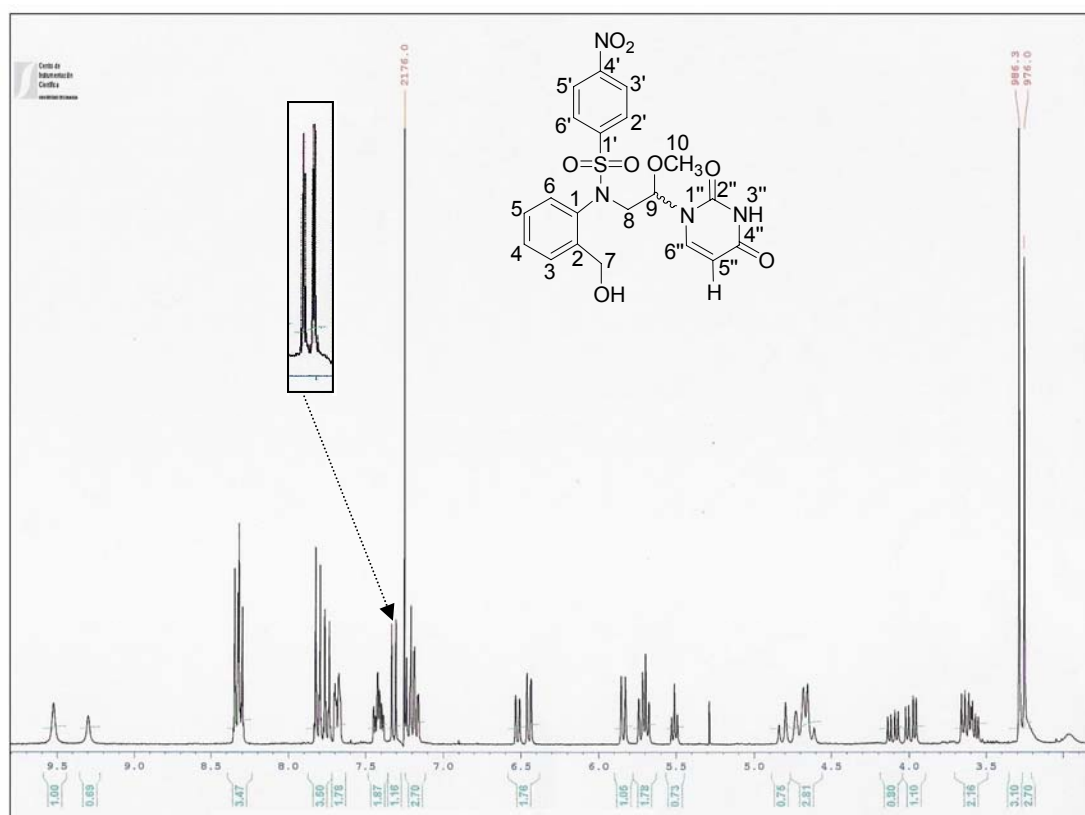
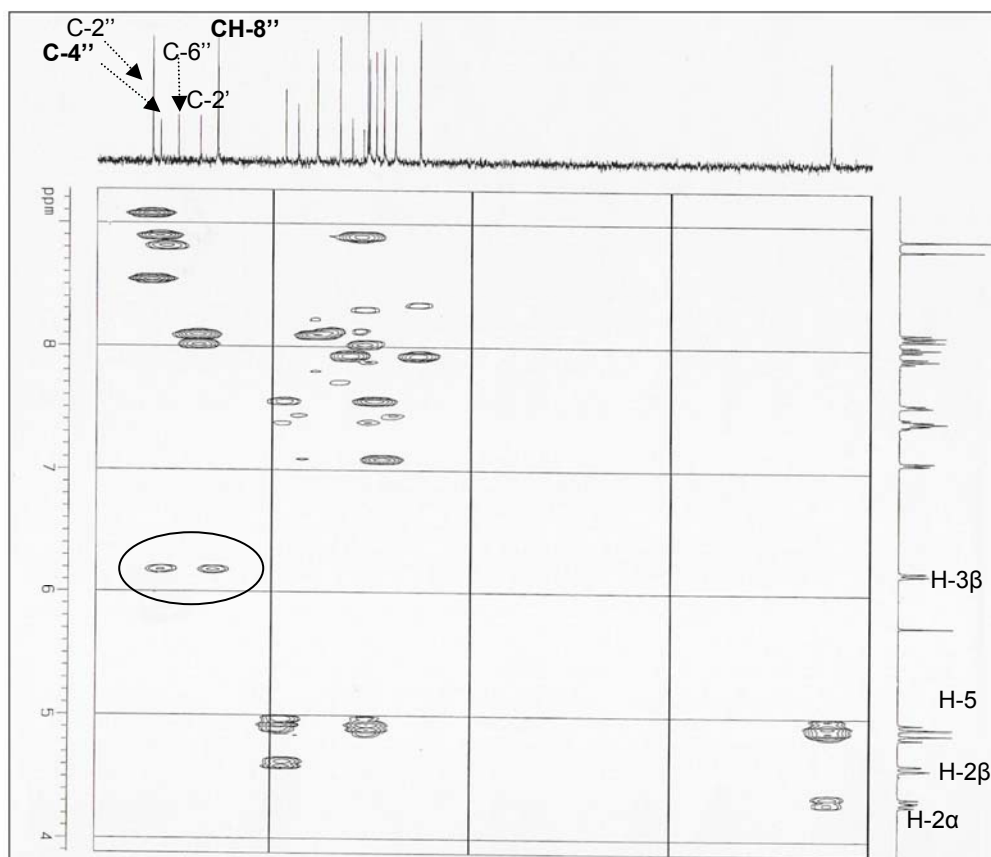
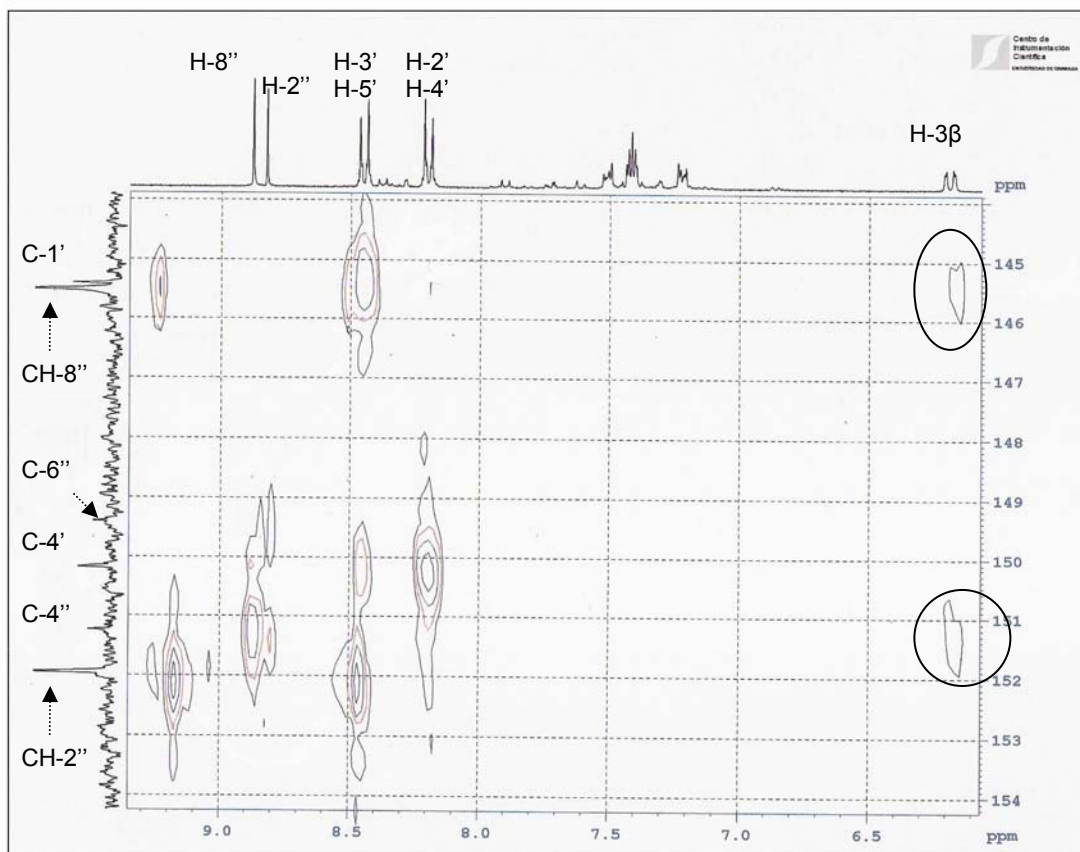


Figura A.16. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN de **MDG-850D** ( $\text{CDCl}_3$ , t.a). Se observa el doblete correspondiente a H-6'', característico de la unión N1''. Las señales aparecen duplicadas por la existencia de dos estructuras conformeras.



**Figura A.17.** Experimentos HMBC sobre *MDG-798C* (arriba) y *MDG-884A2* (debajo). Ambos están registrados en DMSO- $d_6$ . Las interacciones a tres enlaces H-3 $\beta$ /C-4'' y H-3 $\beta$ /C-8'', son indicativas de unión N9''.

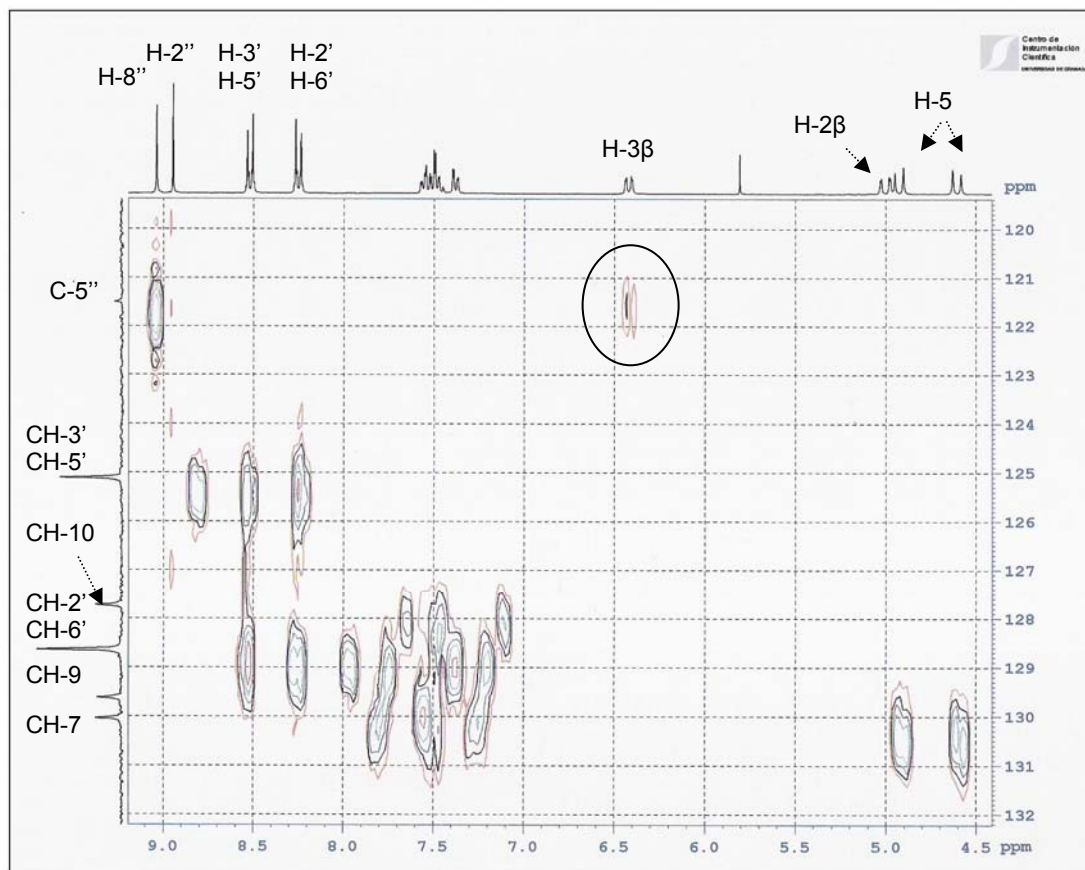


Figura A.18. Experimento HMBC sobre **MDG-798D** (DMSO- $d_6$ ). La interacción a tres enlaces entre el hidrógeno acetálico H-3 $\beta$  y C-5'', es indicativa de unión N7''.

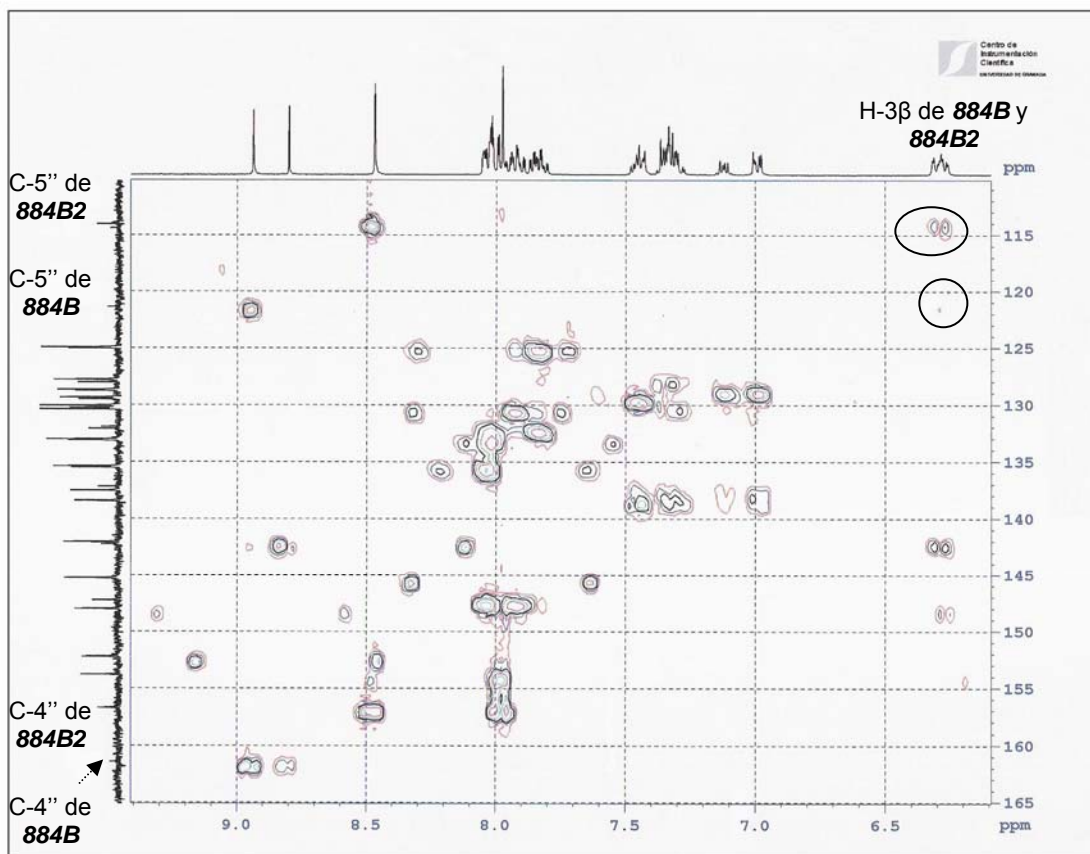


Figura A.19. Experimento HMBC sobre la mezcla **MDG-884B** y **MDG-884B2** (DMSO- $d_6$ ). La interacción a tres enlaces entre el hidrógeno acetálico H-3 $\beta$  y C-5'', es indicativa de unión N7''.

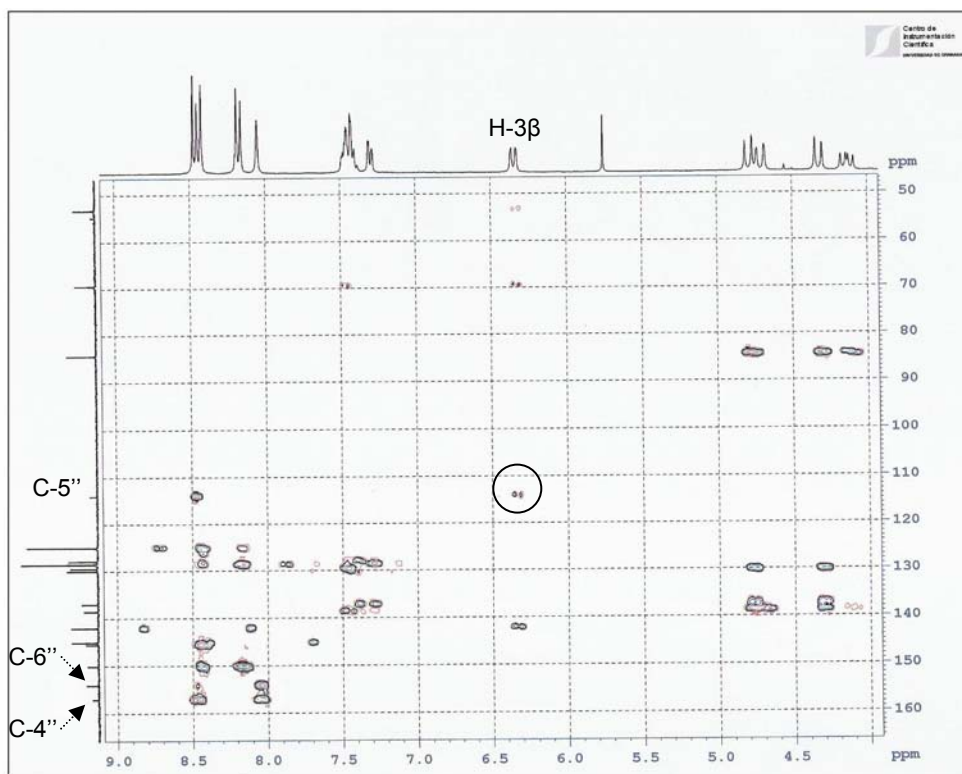


Figura A.20. Experimento HMBC sobre **MDG-798D2** (DMSO- $d_6$ ). La interacción a tres enlaces entre el hidrógeno acetálico H-3 $\beta$  y C-5'', es indicativa de unión N7''.

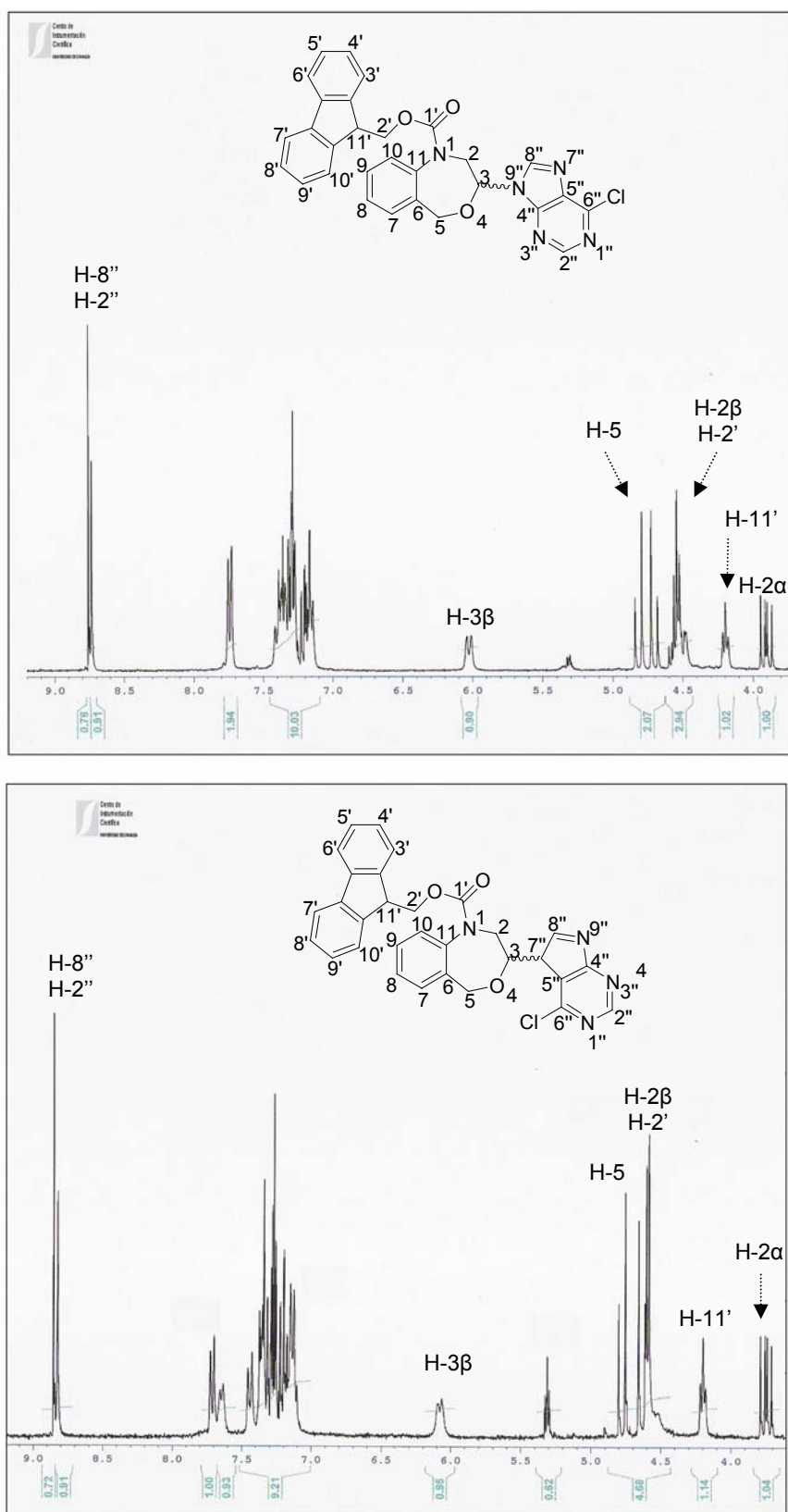


Figura A.21. Espectros <sup>1</sup>H-RMN de **MDG-828B** (arriba) y **MDG-828C** (debajo) registrados en DMSO-d<sub>6</sub> a 60 °C.

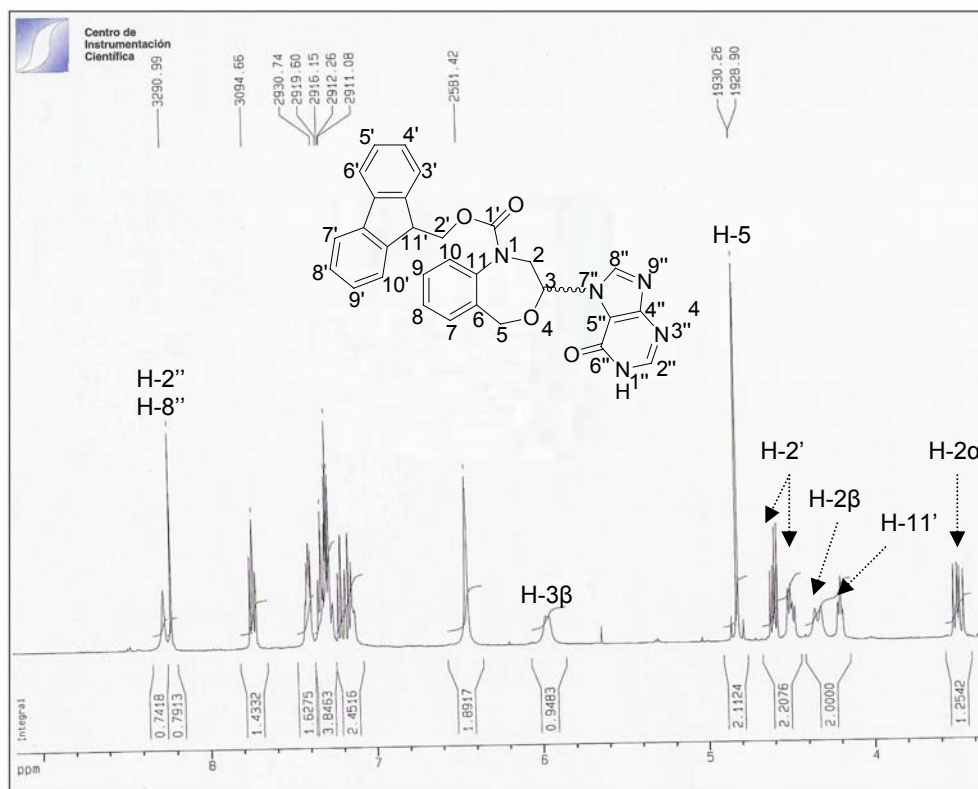


Figura A.22. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN de **MDG-828F** registrado en  $\text{DMSO-}d_6$ , a  $80\text{ }^\circ\text{C}$ .

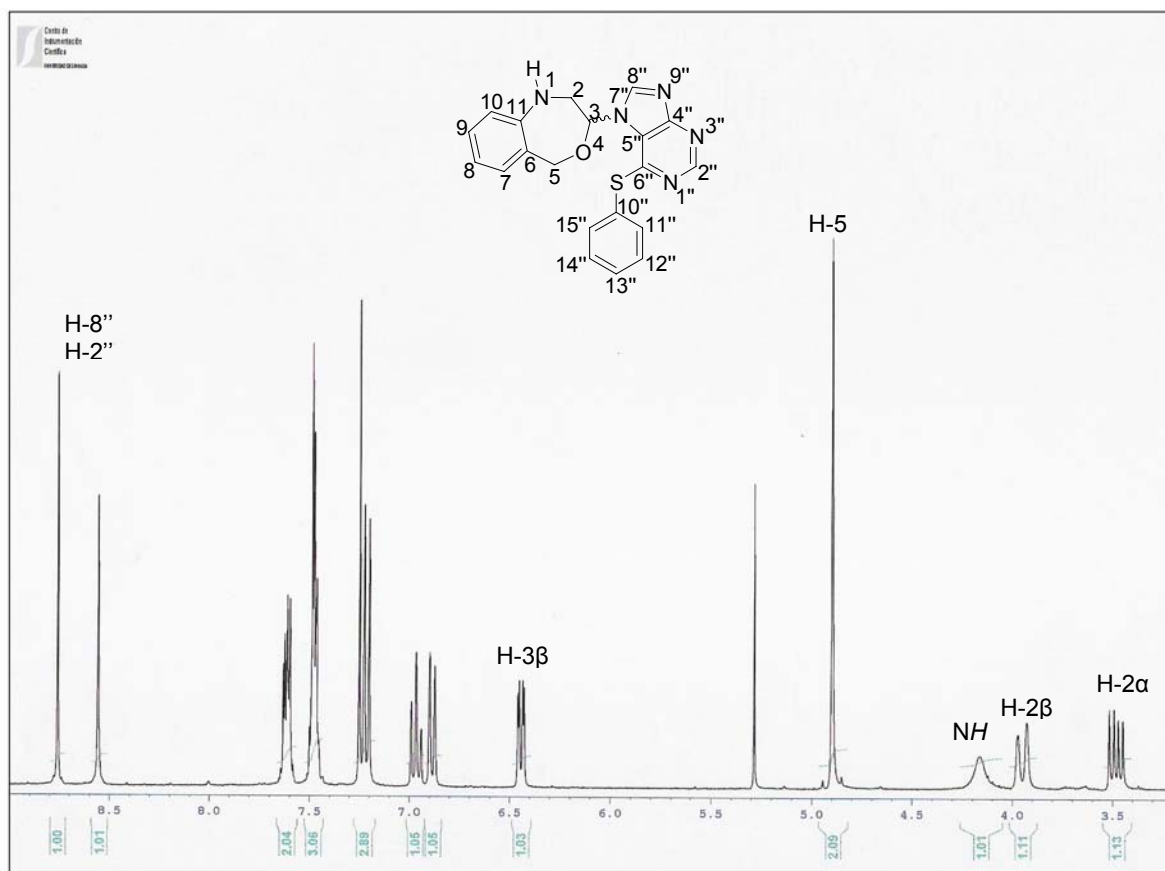


Figura A.23. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN de **MDG-940C** registrado en  $\text{CDCl}_3$ , a t.a.

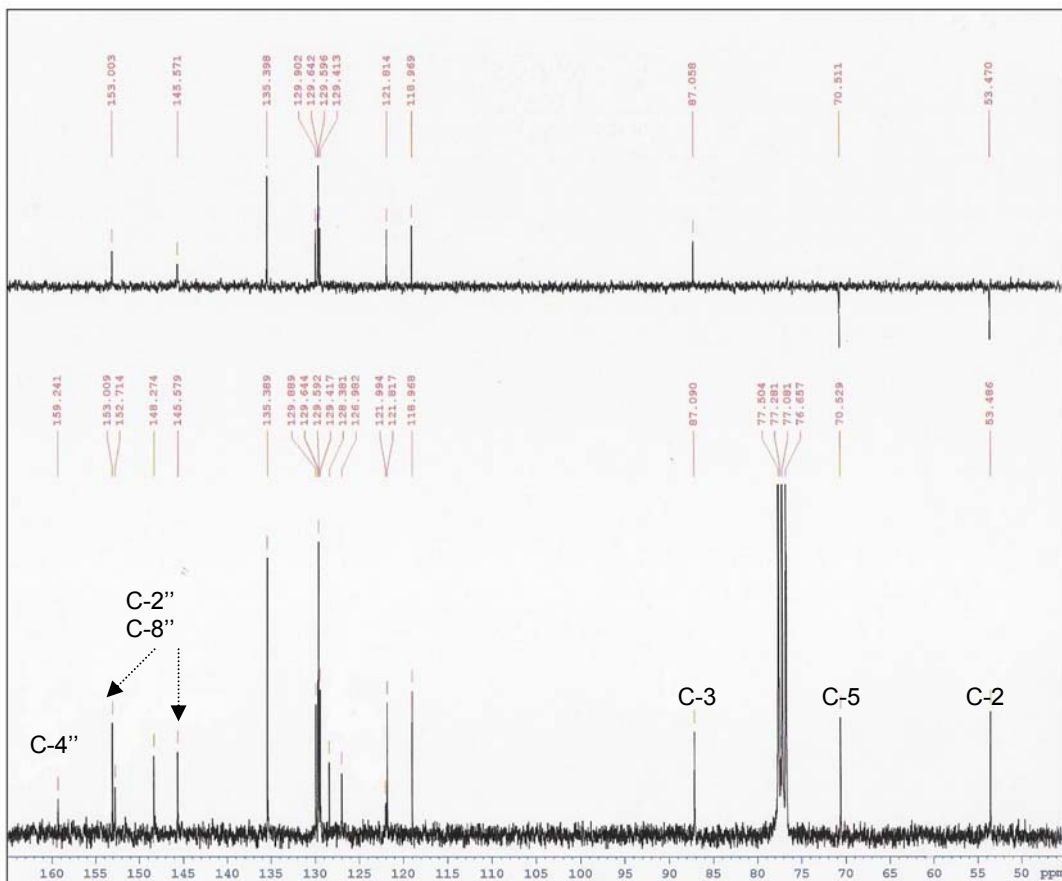


Figura A.24. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT de **MDG-940C**, registrado en  $\text{CDCl}_3$ , a t.a.

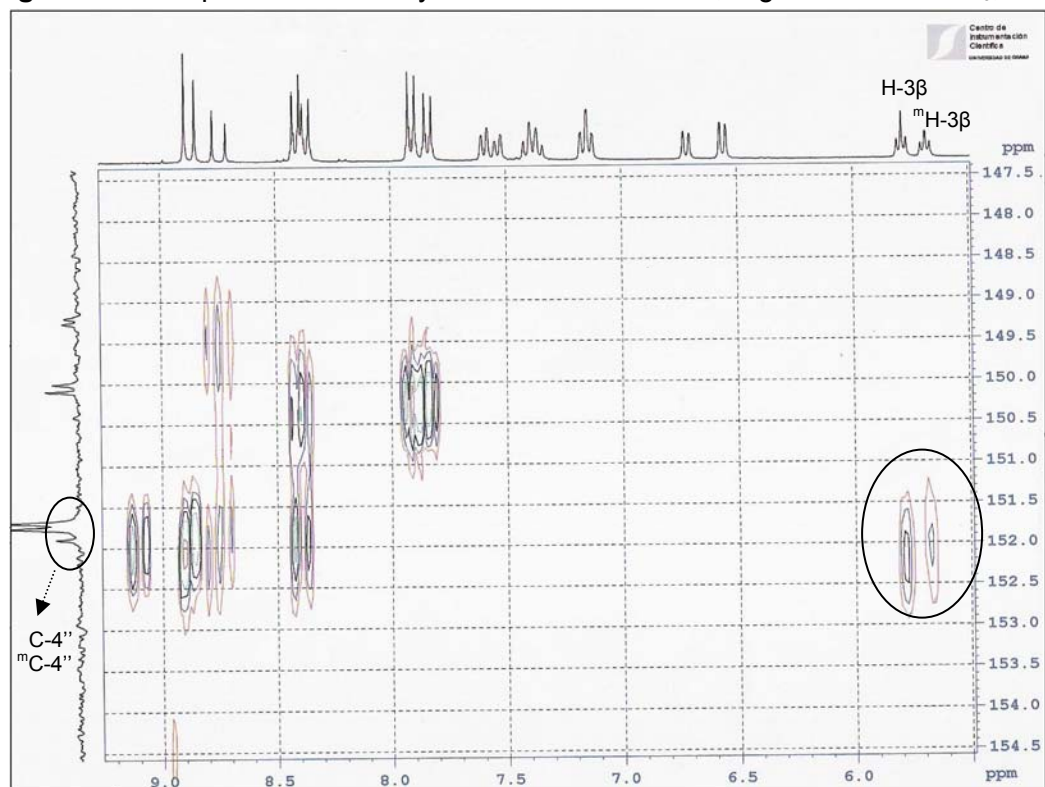
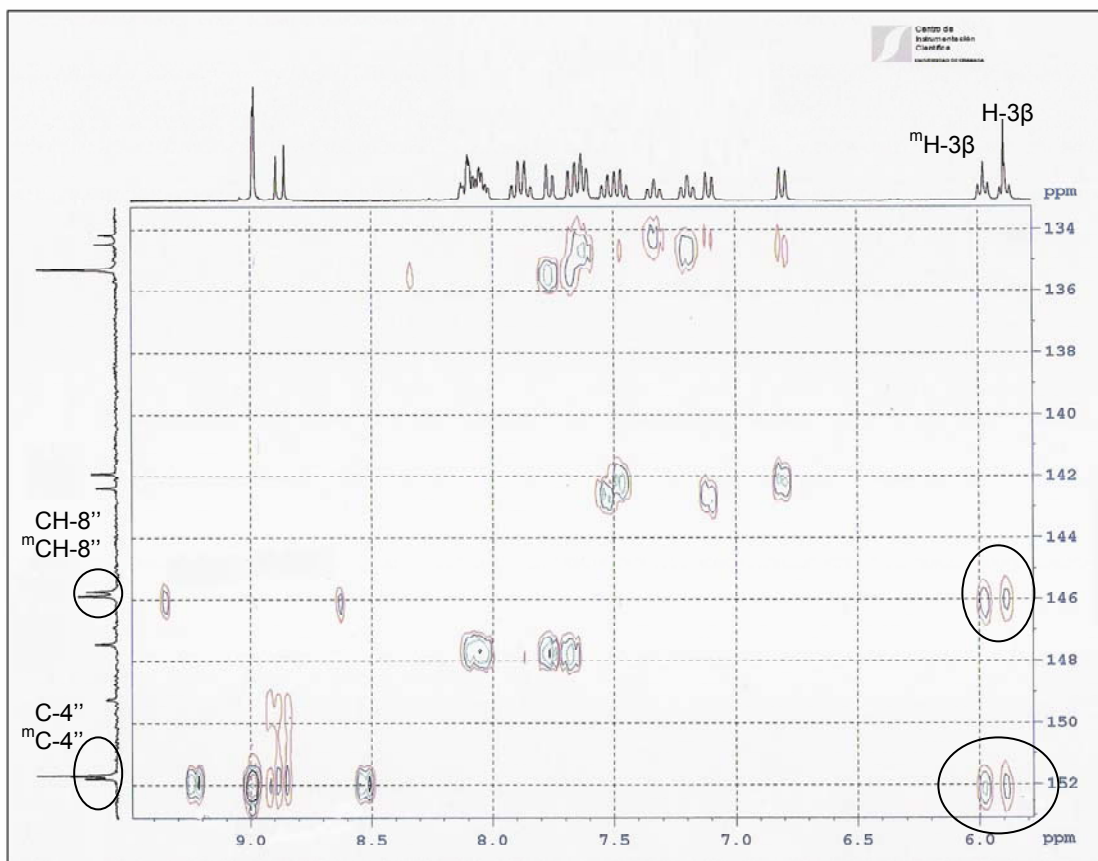


Figura A.25. Experimento HMBC sobre la mezcla de conformeros **MDG-798E** ( $\text{DMSO}-d_6$ ). Se indica la interacción a tres enlaces entre el hidrógeno acetálico  $\text{H}-3\beta$  y  $\text{C}-4''$ .





**Figura A.26.** Experimento HMBC sobre la mezcla de confómeros **MDG-884C** ( $\text{DMSO-}d_6$ ). Se indican las interacciones a tres enlaces  $\text{H-3}\beta/\text{C-4''}$  y  $\text{H-3}\beta/\text{C-8''}$ , indicativas de unión  $\text{N9''}$ .



## **5. Parte Experimental.**



### **5.1. Condiciones generales.**

Como atmósfera inerte en las reacciones que la han precisado, se ha utilizado argón. Los disolventes anhidros se han obtenido por destilación tras ebullición sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub>CN), mezcla Na/benzofenona (THF y Et<sub>2</sub>O), Na (tolueno) y Mg/I (CH<sub>3</sub>OH). Cuando se precisó el uso de DMF anhidra, se utilizó la comercialmente disponible (Aldrich). El resto de los compuestos comerciales se ha utilizado sin posteriores purificaciones.

Para el seguimiento rutinario de las reacciones se utilizó cromatografía en capa fina (CCF) en cromatofolios Merck AL de Silicagel 60 F<sub>254</sub> y para el revelado de los cromatogramas, luz ultravioleta, yodo y ninhidrina (solución al 0.2% en EtOH) según las características de cada compuesto.

La purificación mediante cromatografía flash se realizó en gel de sílice Silicagel Merck 60 (230-400 mesh ASTM). El modulo y las columnas preparadas para la cromatografía FLASH 40 fueron suministradas por Biotage UK Limited, 15 Harforde Court. Foxholes Business Park, John Tate Rd. Hertford, England SG13 7NM.

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Electrothermal Melting Point Apparatus y están sin corregir.

Los experimentos de resonancia magnética nuclear, a temperatura ambiente y a alta temperatura, se han realizado en espectrómetros Bruker AM-300 y AM-400. Como disolventes deuterados se han utilizado cloroformo- $d$ , acetona- $d_6$ , metanol- $d_4$  y dimetilsulfóxido- $d_6$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en Hz. El aspecto y la multiplicidad de las señales se indican mediante las abreviaturas s (singlete), ba (banda ancha), d (doblete), da (doblete ancho), dd (doble doblete), ddd (doble doble doblete), dddd (doble doble doble doblete), t (triplete), ta (triplete ancho), dt (doble triplete), pt (pseudotriplete), c (cuadruplete), m (multiplete). Para aquellas moléculas que se obtienen como mezclas de isómeros, las señales de resonancia correspondientes al isómero minoritario se han identificado con el superíndice <sup>m</sup>. El triclorofluorometano ( $\text{CFCl}_3$ ) se ha utilizado como referencia en los espectros de resonancia magnética nuclear de flúor.

Los espectros de masas de alta (HR) y baja resolución (LR) se realizaron mediante ionización secundaria en fase líquida LSIMS (Liquid Secondary Ionization Mass Spectrum) en matrices de tioglicerol o NOBA, o bien, mediante ionización química por impacto electrónico (IE, 70eV). Se utilizaron equipos Micromass modelos Autospec-Q y Platform II.

Los análisis elementales se han realizado en un aparato Perkin Elmer 240 C o en un aparato Fisons Carlo Erba EA 1108. Previamente, las muestras se han secado durante al menos 16 h en una estufa Gallencamp a presión reducida y t.a., con  $\text{P}_2\text{O}_5$  como agente desecante en su interior.

Los espectros y los análisis elementales han sido realizados por el Centro de Instrumentación Científica (C.I.C.) de la Universidad de Granada.

Todos los rendimientos se expresan sin tener en cuenta el producto de partida que se recupera en cada caso.

## 5.2. Síntesis de *O,O*-acetales de benzoxazepina (Librería 1).

### 5.2.1. (*RS*)-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas sustituidas sobre *N1*.

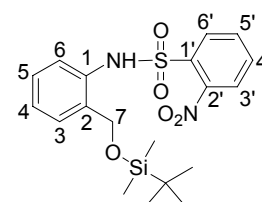
#### 5.2.1.1. Intermedio común: (*RS*)-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (*MDG-484D*)<sup>1</sup>.

##### 5.2.1.1.a. 2-(*tert*-Butildimetilsililoximetil)anilina (**61**)<sup>2</sup>.

Sobre una disolución de 2-aminofenilmetanol (1 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL/mmol de alcohol) se añadió *tert*-butilclorodimetilsilano sólido (3 equiv.) seguido de NEt<sub>3</sub> (3 equiv.) y 4-(dimetilamino)piridina (0.1 equiv.). Se mantuvo la mezcla en agitación a t.a. hasta que no se observó producto de partida en CCF (6 h) y se diluyó entonces (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). La fase orgánica se lavó con agua destilada, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó a vacío. La purificación del residuo mediante cromatografía flash (EtOAc/hexano 1/100), permitió el aislamiento de **61**, líquido amarillo, con rendimiento cuantitativo.

##### 5.2.1.1.b. *N*-[2-(*tert*-Butildimetilsililoximetil)fenil]-2-nitrobencénsulfonamida (*MDG-174A*).

A una disolución de **61** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (3 mL/mmol de **61**) se añadió cloruro de 2-nitrobencénsulfonilo sólido (1.1 equiv.) seguido de NEt<sub>3</sub> (1.5 equiv.). Se mantuvo la agitación a 30 °C durante 24 h, transcurridas las cuales la mezcla se diluyó (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)



y la fase orgánica resultante se lavó con agua y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Tras filtración y evaporación del disolvente a vacío, el residuo se purificó mediante cromatografía flash con elución en gradiente (EtOAc/hexano 1/100 a 1/8) y se obtuvo **MDG-174A** (62%) en forma de sólido amarillo de bajo punto de fusión (p.f. 83.0-83.9 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/2) = 0.41).

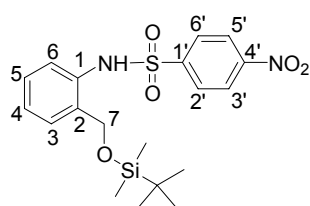
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.70 (bs, 1H, NH), 7.90 (dd, J<sub>1</sub> = 7.8 Hz, J<sub>2</sub> = 1.5 Hz, 1H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.82 (dd, J<sub>1</sub> = 7.9 Hz, J<sub>2</sub> = 1.4 Hz, 1H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.68 (ddd, J<sub>1</sub> = J<sub>2</sub> = 7.7 Hz, J<sub>3</sub> = 1.5 Hz, 1H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.61-7.54 (m, 2H), 7.28-7.23 (m, 1H), 7.12-7.08 (m,

2H), 4.58 (s, 2H, H-7), 0.91 [s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 0.07 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si]. <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 148.04 (C-2'), 135.58, 133.63 y 132.61 (C-1, C-2, C-1'), 133.81, 132.45, 131.26, 128.71, 128.28, 125.54, 125.14 y 122.89 (CH-aromáticos), 64.32 (CH<sub>2</sub>-7), 25.87 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 18.36 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], -5.30 [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si].

**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 448(2), 447 (13), 446 (27), 445 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 100), 423 (M+H<sup>+</sup>, 14), 367 (6), 366 (12), 365 (50), 291 (70). **HRMS** *m/z*: Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>SSiNa (M+Na)<sup>+</sup> 445.1229. Encontrado 445.1230 (desviación -0.1 ppm).

### 5.2.1.1.c. ***N*-[2-(*terc*-Butildimetilsililoximetil)fenil]-4-nitrobencénsulfonamida (MDG-400C).**

Se añadieron pequeñas porciones de cloruro de 4-nitrobencénsulfonilo (0.5 equiv.), sobre una disolución de **61** (1.0 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (3 mL/mmol de **61**). Después



de 3 h de agitación a t.a., la mezcla de reacción se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó con agua destilada. La fase orgánica resultante se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se eliminó a vacío. **MDG-400C** se aisló mediante cromatografía flash

(elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano 1/50 a 1/20), en forma de sólido blanco. [p.f. 103.6-103.8 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/6) = 0.23, rendimiento cuantitativo].

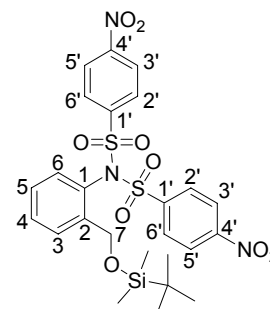
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.69 (s, 1H, NH), 8.27 (d, J<sub>3'-2'</sub> = J<sub>5'-6'</sub> = 8.8 Hz, 2H, H-3', 5'), 7.95 (d, J<sub>2'-3'</sub> = J<sub>6'-5'</sub> = 8.8 Hz, 2H, H-2', 6'), 7.56 (dd, J<sub>1</sub> = 8.1 Hz, J<sub>2</sub> = 0.9 Hz, 1H), 7.29 (ddd, J<sub>1</sub> = J<sub>2</sub> = 7.7 Hz, J<sub>3</sub> = 1.6 Hz, 1H), 7.08 (ddd, J<sub>1</sub> = J<sub>2</sub> = 7.5 Hz, J<sub>3</sub> = 1.2 Hz, 1H), 7.00 (dd, J<sub>1</sub> = 7.6 Hz, J<sub>2</sub> = 1.6 Hz, 1H), 4.36 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-7), 0.92 [s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 0.08 [s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si]. <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 150.23 (C-4'), 146.14 y 136.18 (C-1', C-1), 130.54 (C-2), 129.18, 128.24, 125.36 y 122.22 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 128.24 y 124.27 (CH-PhSO<sub>2</sub>), 65.25 (CH<sub>2</sub>-7), 25.80 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 18.19 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], -5.38 [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si].

**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 448 (12), 447 (17), 446 (22), 445 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 100). **HRMS** *m/z*: Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>SSiNa (M+Na)<sup>+</sup> 445.1229. Encontrado 445.1229 (desviación +0.2 ppm).



5.2.1.1.d. **N-[2-(*tert*-Butildimetilsililoximetil)fenil]bis(4-nitrobenzénsulfonil) imida (**MDG-338B**).**

Sobre una disolución de la amina **61** (1.0 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL/mmol de **61**), se añadieron cloruro de 4-nitrobenzénsulfonilo (1.1 equiv.) y NEt<sub>3</sub> (1.5 equiv.) como se ha descrito para la preparación de **MDG-174A**. Tras agitación durante 5 h a t.a., la fase orgánica se lavó con agua destilada y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Tras filtración y evaporación del disolvente, la purificación se llevó a cabo mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/50 hasta 1/10) obteniéndose **MDG-338B** con rendimiento cuantitativo (sólido blanco, p.f. 178.9-179.9 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/7) = 0.45).



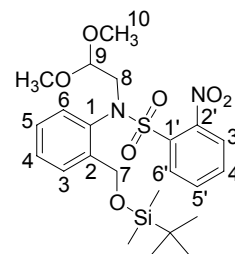
Cuando la misma reacción se llevó a cabo usando 1.0 equiv. de cloruro de 4-nitrobenzénsulfonilo y 1.36 equiv. de NEt<sub>3</sub>, tras agitación a t.a. durante 1 h se obtuvo una mezcla de **MDG-338B** (53%) y **MDG-400C** (23%).

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.42 (2d,  $J_{3'-2'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 4H, 2H-3', 5'), 8.17 (2d, 4H,  $J_{2'-3'} = J_{5'-6'} = 8.9$  Hz, 4H, H-2', 6'), 7.67 (dd,  $J_1 = 7.8$  Hz,  $J_2 = 1.1$  Hz, 1H), 7.55 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 1.1$  Hz, 1H), 7.27 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H), 6.83 (dd,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 1.1$  Hz, 1H), 4.32 (s, 2H, H-7), 0.87 [s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], -0.02 [s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si]. **<sup>13</sup>C RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 151.10 (2C, C-4'), 144.27 (2C, C-1'), 143.23 (C-1), 131.54, 129.07, 127.89 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 130.49, 124.42 (2CH-2', 2CH-3', 2CH-5', 2CH-6'), 129.92 (C-2), 60.59 (CH<sub>2</sub>-7), 25.86 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 18.36 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], -5.40 [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si].

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub>SiNa (M+Na)<sup>+</sup>: 630.1012. Encontrado: 630.1010 (desviación +0.3 ppm).

5.2.1.1.e. ***N*-[2-(*terc*-Butildimetilsililoximetil)fenil]-*N*-(2,2-dimetoxietil)-2-nitro bencénsulfonamida (**MDG-190C**).**

Una disolución de **MDG-174A** (1.0 equiv.), 2,2-dimetoxietanol (1.0 equiv.) y trifenilfosfina (1.2 equiv.) en THF anhidro (5 mL/mmol de **MDG-174A**) se preparó bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante se enfrió a -20 °C y a esa temperatura se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (1.1 equiv.). Se permitió elevarse la temperatura lentamente hasta 5 °C y después se calentó a 30 °C. Tras 21 h de agitación bajo argón, el disolvente se eliminó mediante evaporación a vacío y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano 1/20 a 1/8) para aislar **MDG-190C** (70%). Se trata de un sólido amarillo pálido de bajo punto de fusión (p.f. 83.5-84.5 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/2) = 0.40).

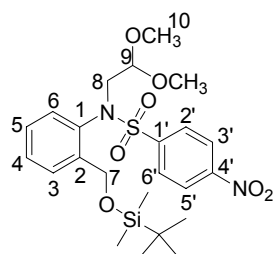


**$^1\text{H-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.68-7.57 (m, 3H), 7.48-7.34 (m, 3H), 7.16 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.7$  Hz, 1H), 6.98 (dd,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 1.3$  Hz, 1H), 4.85 (d,  $J_{\text{gem } 7-7} = 14.3$  Hz, 1H, H-7), 4.56 (d,  $J_{\text{gem } 7-7} = 14.3$  Hz, 1H, H-7), 4.42 (t,  $J_{9-8} = 5.6$  Hz, 1H, H-9), 3.92 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.6$  Hz,  $J_{8-9} = 5.8$  Hz, 1H, H-8), 3.71 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.6$  Hz,  $J_{8-9} = 5.3$  Hz, 1H, H-8), 3.30 (s, 3H, H-10a), 3.23 (s, 3H, H-10b), 0.91 [s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ], 0.06 [s, 3H,  $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$ ], 0.05 [s, 3H,  $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$ ].  **$^{13}\text{C-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 148.16 (C-2'), 142.56 y 135.11 (C-1, C-1'), 131.74 (C-2), 133.81, 132.19, 131.08, 129.86, 129.26, 128.21, 127.44 y 123.73 (CH-aromáticos), 101.58 (CH-9), 60.69 (CH<sub>2</sub>-7), 53.58 y 52.72 (CH<sub>3</sub>-10a, CH<sub>3</sub>-10b), 53.13 (CH<sub>2</sub>-8), 25.99 [ $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ], 18.41 [ $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ], -5.32 [ $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$ ].

**MS LSIMS**  $m/z$  (intensidad relativa) 536 (2), 535 (14), 534 (31), 533 ( $\text{M}^+ + \text{Na}^+$ , 100), 481 (3), 480 (7), 479 (22), 455 (2), 454 (6), 453 (18), 349 (1), 348 (3), 347 (8), 295 (4), 294 (12), 293 (50), 269 (1), 268 (2), 267 (8). **HRMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_7\text{SSiNa}$  ( $\text{M} + \text{Na}$ )<sup>+</sup> 533.1754. Encontrado 533.1758 (desviación -0.8 ppm).

**5.2.1.1.f. N-[2-(*terc*-Butildimetilsililoximetil)fenil]-N-(2,2-dimetoxietil)-4-nitro bencénsulfonamida (MDG-408D).**

El compuesto **MDG-408D** se obtuvo a partir de **MDG-400C** siguiendo la metodología



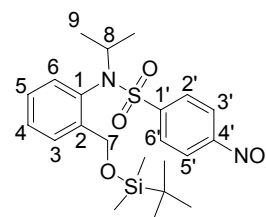
descrita para la obtención de **MDG-190C** (apartado 5.2.1.1.e.). Se aisló como un sólido blanco, de bajo punto de fusion (p.f. 92.0-93.0 °C), eluído, en cromatografía flash, con mezclas EtOAc/hexano en gradiente desde 1/50 a 1/20 (rendimiento 80%,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/6) = 0.18).

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 8.32 (d,  $J_{5'-6'} = J_{3'-2'} = 8.8$  Hz, 2H, H-3', 5'), 7.83 (d,  $J_{6'-5'} = J_{2'-3'} = 8.8$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.69 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.38 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.10 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 6.42 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 4.99 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 14.4$  Hz, 1H, H-7), 4.93 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 14.4$  Hz, 1H, H-7), 4.36 (t,  $J_{9-8} = 5.6$  Hz, 1H, H-9), 3.84 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.0$  Hz,  $J_{8-9} = 5.5$  Hz, 1H, H-8), 3.41 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.1$  Hz,  $J_{8-9} = 5.7$  Hz, 1H, H-8), 3.32 (s, 3H, H-10a), 3.15 (s, 3H, H-10b), 0.96 [s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 0.14 [s, 3H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si], 0.13 [s, 3H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si]. **<sup>13</sup>C RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 150.26 (C-4'), 143.97, 143.36 y 135.70 (C-1', C-1, C-2), 129.48 y 124.03 (CH-PhSO<sub>2</sub>), 129.29, 128.48, 127.30 y 127.10 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 101.26 (CH-9), 61.05 (CH<sub>2</sub>-7), 53.77 y 52.50 (CH<sub>3</sub>-10a, CH<sub>3</sub>-10b), 52.79 (CH<sub>2</sub>-8), 26.04 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 18.46 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], -5.25 [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si].

**MS LSIMS**  $m/z$  (intensidad relativa) 536 (3), 535 (15), 534 (34), 533 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 100), 482 (1), 481 (3), 480 (5), 479 (15), 455 (4), 454 (9), 453 (33), 349 (2), 348 (3), 347 (7), 295 (4), 294 (13), 293 (52). **HRMS**  $m/z$ : Calculado para C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>SSiNa (M+Na)<sup>+</sup> 533.1754. Encontrado 533.1753 (desviación +0.2 ppm).

**5.2.1.1.g. N-[2-(*terc*-Butildimetilsililoximetil)fenil]-N-isopropil-4-nitrobencén sulfonamida (MDG-408B).**

El compuesto **MDG-408B** se formó en las condiciones descritas para la síntesis de **MDG-408D** pero cuando se utilizaron 4.3 equiv. de 2,2-dimetoxietanol. Tras 18 h de agitación a 30 °C, la purificación del crudo de reacción mediante cromatografía flash permitió el



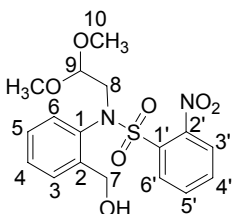
aislamiento de **MDG-408B** con rendimiento 38% [sólido blanco, p.f. 178.0-179.0 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/6) = 0.36] y **MDG-408D** (rendimiento 31%).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 8.33 (d,  $J_{5'-6'} = J_{3'-2'} = 8.8$  Hz, 2H, H-3', 5'), 7.89 (d,  $J_{6'-5'} = J_{2'-3'} = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.73 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.44 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 0.8$  Hz, 1H), 7.16 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.5$  Hz, 1H), 6.58 (dd,  $J_1 = 7.9$  Hz,  $J_2 = 0.8$  Hz, 1H), 4.90 (d,  $J_{\text{gem } 7-7} = 15.0$  Hz, 1H, H-7), 4.85 (d,  $J_{\text{gem } 7-7} = 15.0$  Hz, 1H, H-7), 4.61 (m, 1H, H-8), 1.13 (d,  $J_{8-9} = 6.7$  Hz, 3H, H-9a), 1.00 (d,  $J_{8-9} = 6.8$  Hz, 3H, H-9b), 0.96 [s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ], 0.14 [2s, 6H,  $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$ ].

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5\text{SSiNa}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$ : 487.1699. Encontrado: 487.1702 (desviación -0.6 ppm).

#### 5.2.1.1.h. *N*-(2,2-Dimetoxietil)-*N*-(2-hidroximetilfenil)-2-nitrobencénsulfonamida (**MDG-198B**).

Se añadió trihidrato de fluoruro de tetrabutilamonio (1.0 equiv.) a t.a. sobre una disolución de **MDG-190C** (1.0 equiv.) en THF (6 mL/mmol de **MDG-190C**). La reacción se agitó hasta la desaparición del producto de partida (1 h) y el disolvente se eliminó entonces al rotavapor. El residuo resultante se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se lavó con agua destilada. Después de secar la fase orgánica ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtrar y concentrarla a vacío, se purificó mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano 1/10 a 1/1). Se obtuvo así **MDG-198B**, rendimiento 83%, aceite amarillo,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/1) = 0.22.



$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.71-7.59 (m, 3H), 7.47 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 1.4$  Hz, 1H), 7.41-7.35 (m, 2H), 7.14 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H), 6.74 (dd,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 1.1$  Hz, 1H), 4.89 (d,  $J_{\text{gem } 7-7} = 12.4$  Hz, 1H, H-7), 4.65 (d,  $J_{\text{gem } 7-7} = 12.4$  Hz, 1H, H-7), 4.45 (t,  $J_{9-8} = 5.6$  Hz, 1H, H-9), 4.29 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.5$  Hz,  $J_{8-9} = 5.9$  Hz, 1H, H-8), 3.46 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.5$  Hz,  $J_{8-9} = 5.3$  Hz, 1H, H-8), 3.37 (s, 3H, H-10a), 3.14 (s, 3H, H-10b).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 148.46 (C-2'), 142.95 y 136.78 (C-1, C-1'), 130.86 (C-2), 134.11, 132.52, 131.94, 131.03, 129.81, 128.77, 128.38 y 123.86

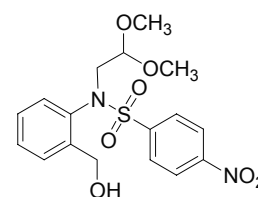
(CH-aromáticos), 101.20 (CH-9), 61.02 (CH<sub>2</sub>-7), 53.23 y 52.22 (CH<sub>3</sub>-10a, CH<sub>3</sub>-10b), 53.13 (CH<sub>2</sub>-8).

**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 420 (20), 419 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 100), 334 (8), 333 (37).

**HRMS** *m/z*: Calculado para C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 419.0889. Encontrado 419.0894 (desviación -1.1 ppm).

#### 5.2.1.1.i. *N*-(2,2-Dimetoxietil)-*N*-(2-hidroximetilfenil)-4-nitrobencénsulfonamida (**MDG-422B**).

El compuesto **MDG-422B** se preparó a partir de **MDG-408D** aplicando la metodología descrita para la síntesis de **MDG-198B** (apartado 5.2.1.1.h.). Se obtuvo **MDG-422B** en forma de sólido amarillo (p.f. 139.5-140.7 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/1) = 0.56), eluído mediante cromatografía flash utilizando mezclas EtOAc/hexano en gradiente desde 1/10 hasta 1/2 (rendimiento 90%).



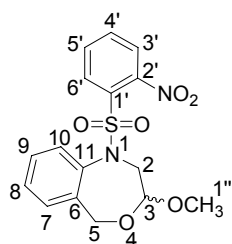
**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.34 (d, *J*<sub>3'-2'</sub> = *J*<sub>5'-6'</sub> = 8.9 Hz, 2H, H-3', 5'), 7.81 (d, *J*<sub>2'-3'</sub> = *J*<sub>6'-5'</sub> = 8.9 Hz, 2H, H-2', 6'), 7.64 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.6 Hz, 1H), 7.39 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.6 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.1 Hz, 1H), 7.16 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.6 Hz, 1H), 6.36 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 0.9 Hz, 1H), 4.94 (dd, *J*<sub>gem 7-7</sub> = 12.4 Hz, *J*<sub>7-OH</sub> = 6.7 Hz, 1H, H-7), 4.69 (dd, *J*<sub>gem 7-7</sub> = 12.4 Hz, *J*<sub>7-OH</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-7), 4.43 (t, *J*<sub>9-8</sub> = 5.8 Hz, 1H, H-9), 4.01 (dd, *J*<sub>gem 8-8</sub> = 13.9 Hz, *J*<sub>8-9</sub> = 5.9 Hz, 1H, H-8), 3.38 (s, 3H, H-10a), 3.35 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, OH), 3.24 (dd, *J*<sub>gem 8-8</sub> = 14.0 Hz, *J*<sub>8-9</sub> = 5.6 Hz, 1H, H-8), 3.09 (s, 3H, H-10b). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 150.43 (C-4'), 143.02, 142.99 y 136.95 (C-1', C-1, C-2), 132.10, 129.82, 128.77 y 126.48 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 129.48 (CH-2', CH-6'), 124.25 (CH-3', CH-5'), 100.62 (CH-9), 61.14 (CH<sub>2</sub>-7), 53.38 y 51.75 (CH<sub>3</sub>-10a, CH<sub>3</sub>-10b), 52.22 (CH<sub>2</sub>-8).

**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 421 (9), 420 (24), 419 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 100), 335 (4), 334 (6), 333 (27). **HRMS** *m/z*: Calculado para C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 419.0889, encontrado 419.0884 (desviación +1.2 ppm).

**5.2.1.1.j. (RS)-3-Metoxi-1-(2-nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxa\_ zepina (MDG-206A).**

Método A:

Sobre una disolución del compuesto **MDG-198B** (1.0 equiv.) en Et<sub>2</sub>O anhidro (5 mL/mmol de **MDG-198B**), preparada bajo atmósfera de argón, se añadió gota a gota BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> (2 equiv.) a t.a. y la mezcla se mantuvo en oscuridad hasta la desaparición del producto de partida (4-7 días). A continuación, se eliminó el disolvente y el residuo volvió a disolverse (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Tras sucesivos lavados de esta fase orgánica con agua destilada, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, se concentró al rotavapor y se purificó mediante cromatografía flash. La elución con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> permitió el aislamiento del sólido blanco **MDG-206A** con rendimiento cuantitativo (p.f. 128.7-129.3 °C, R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) = 0.52).



<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 7.92 (dd, J<sub>1</sub> = 7.9 Hz, J<sub>2</sub> = 1.3 Hz, 1H), 7.75-7.59 (m, 3H), 7.32-7.17 (m, 3H), 7.07 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 4.86 (d, J<sub>gem 5-5</sub> = 13.6 Hz, 1H, H-5), 4.74 (dd, J<sub>3-2</sub> = no det., 1H, H-3), 4.42 (d, J = 13.8 Hz, 1H, H-5), 3.90 (ba, 1H, H-2), 3.75 (ba, 1H, H-2), 3.39 (s, 3H, H-1''). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 148.02 (C-2'), 139.34, 138.28 (C-11, C-1'), 134.25 (C-6), 133.86, 132.08, 131.42, 129.63, 128.81, 128.54, 128.28, 124.24 (CH-aromáticos), 101.00 (ba, CH-3), 64.00 (ba, CH<sub>2</sub>-5), 55.58 (CH<sub>3</sub>-1''), 54.36 (CH<sub>2</sub>-2).

**MS LSIMS** m/z (intensidad relativa) 389 (25), 388 (13), 387 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 100), 386 (6), 385 (44), 327 (44), 311 (21). **HRMS** m/z: Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 387.0627. Encontrado 387.0626 (+0.2).

**Anál. elem.:** Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S+0.13H<sub>2</sub>O: C, 52.40; H, 4.47; N, 7.64; S, 8.74. Encontrado: C, 52.80; H, 4.17; N, 7.77; S, 8.34.

Metodo B:

**MDG-198B** (1.0 equiv.) se disolvió en tolueno (30 mL/mmol de **MDG-198B**) bajo atmósfera de argón y se añadió una cantidad catalítica de ácido *p*-toluensulfónico (0.03

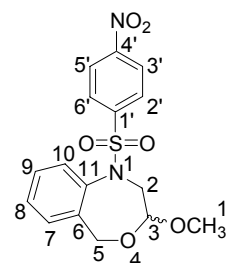
equiv.), calentando seguidamente hasta 110 °C durante 2 h. Transcurrido este tiempo, la mezcla se enfrió utilizando un baño de hielo y se neutralizó bajo argón mediante adición de un exceso de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sólido. La sal fue después eliminada mediante filtración y el filtrado fue neutralizado de nuevo con un exceso de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Tras una segunda filtración, el disolvente se eliminó al rotavapor. El compuesto **MDG-206A** se obtuvo con rendimiento cuantitativo tras purificación mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano 1/10 a 1/2).

**5.2.1.1.k. (RS)-3-Metoxi-1-(4-nitrobenzósulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-430A).**

Método A:

El procedimiento descrito para la preparación del compuesto **MDG-206A** (método A, apartado 5.2.1.1.j.), se aplicó sobre **MDG-422B** y se obtuvo así **MDG-430A** en forma de sólido blanco con un rendimiento del 67% [p.f. 171.8-172.6 °C, purificado mediante cromatografía flash con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente, R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) = 0.39].

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.24 (d, J<sub>3'-2'</sub> = J<sub>5'-6'</sub> = 8.9 Hz, 2H, H-3', 5'), 7.79 (d, J<sub>2'-3'</sub> = J<sub>6'-5'</sub> = 8.9 Hz, 2H, H-2', 6'), 7.67 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.37 (ddd, J<sub>1</sub> = J<sub>2</sub> = 7.7 Hz, J<sub>3</sub> = 1.7 Hz, 1H), 7.30 (ddd, J<sub>1</sub> = J<sub>2</sub> = 7.4 Hz, J<sub>3</sub> = 1.4 Hz, 1H), 7.18 (dd, J<sub>1</sub> = 7.4 Hz, J<sub>2</sub> = 1.7 Hz, 1H), 4.67 (dd, J<sub>3-2</sub> = no det., 1H, H-3), 4.25 (d, J<sub>gem 5-5</sub> = 13.6 Hz, 1H, H-5), 4.17 (ba, 1H, H-2), 3.99 (d, J<sub>gem 5-5</sub> = 13.8 Hz, 1H, H-5), 3.68 (da, J<sub>gem 2-2</sub> = 13.4 Hz, 1H, H-2), 3.29 (s, 3H, H-1"). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 149.94 (C-4'), 145.95, 138.94, 136.87 (C-1', C-11, C-6), 129.36, 129.13, 129.00, 128.49 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 129.00, 123.54 (CH-2', CH-3', CH-5', CH-6'), 99.36 (ba, CH-3), 62.75 (ba, CH<sub>2</sub>-5), 54.79 (CH<sub>3</sub>-1"), 53.73 (CH<sub>2</sub>-2).



**MS LSIMS** m/z (intensidad relativa) 389 (10), 388 (6), 387 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 100), 386 (10), 385 (66). **HRMS** m/z: Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 387.0627. Encontrado 387.0627 (-0.1).

**Anál. elem.:** Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S: C, 52.75; H, 4.40; N, 7.69. Encontrado: C, 52.70; H, 4.39; N, 8.03.

Método B:

El procedimiento descrito para la obtención de **MDG-206A** (método B en el apartado 5.2.1.1.j.) se aplicó a **MDG-422B** para la obtención de **MDG-430A** con rendimiento cuantitativo (purificación por cromatografía flash, elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/20 a 1/9).

**5.2.1.1.i. N-(2-Clorometilfenil)-N-(2,2-dimetoxietil)-2-nitrobencénsulfonamida (MDG-218A).**

Se preparó una disolución de **MDG-198B** (1.0 equiv.) y PPh<sub>3</sub> (1.0 equiv.) en CCl<sub>4</sub> (3 mL/mmol de **MDG-198B**) que se llevó a 110 °C y se mantuvo en agitación durante 30 min. Transcurrido dicho tiempo se permitió el enfriamiento de la reacción a t.a., el disolvente se eliminó al rotavapor y el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía flash (elución con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Se obtuvo así un **MDG-218A**, sólido blanco, con un rendimiento del 40% [p.f. 65.4-66.4 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/1) = 0.68].

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 7.69-7.59 (m, 3H), 7.48-7.35 (m, 3H), 7.20 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.4$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H), 6.99 (dd,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 1.2$  Hz, 1H), 4.86 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 12.6$  Hz, 1H, H-7), 4.59 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 12.6$  Hz, 1H, H-7), 4.47 (dd,  $J_{9-8} = 5.8$  Hz,  $J_{9-8} = 5.2$  Hz, 1H, H-9), 4.05 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.6$  Hz,  $J_{8-9} = 5.8$  Hz, 1H, H-8), 3.69 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.6$  Hz,  $J_{8-9} = 5.2$  Hz, 1H, H-8), 3.34 (s, 3H, H-10a), 3.28 (s, 3H, H-10b). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 148.18 (C-2'), 139.04, 136.39 (C-1, C-1'), 134.05, 132.28, 131.20, 131.04, 129.64, 128.96, 123.99 (CH-aromáticos), 131.40 (C-2), 101.76 (CH-9), 53.71 (CH<sub>2</sub>-8), 53.66, 53.28 (CH<sub>3</sub>-10a, CH<sub>3</sub>-10b), 41.56 (CH<sub>2</sub>-7).

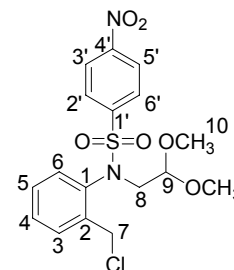
**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 440 [(M+3)+Na, 7], 439 [(M+2)+Na, 39], 437 (M+Na<sup>+</sup>, 100). **HRMS** *m/z*: Calculado para C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SClNa (M+Na)<sup>+</sup> 437.0550. Encontrado 437.0557 (desviación -1.5 ppm).



**5.2.1.1.m. N-(2-Clorometilfenil)-N-(2,2-dimetoxietil)-4-nitrobenzénsulfonamida (MDG-444B).**

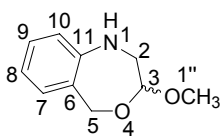
**MDG-444B** se preparó a partir de **MDG-422B** de la forma descrita para la preparación de **MDG-218A** en el apartado 5.2.1.1.i. De la purificación mediante cromatografía flash (elución con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) se obtuvo **MDG-444B**, sólido blanco, con rendimiento cuantitativo [p.f. 100.0-101.0 °C, R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) = 0.25].

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.33 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.8$  Hz, 2H, H-3', 5'), 7.80 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.73 (dd,  $J_1 = 7.8$  Hz,  $J_2 = 1.3$  Hz, 1H), 7.41 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.1$  Hz, 1H), 7.18 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.5$  Hz, 1H), 6.46 (dd,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 1.0$  Hz, 1H), 5.04 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 12.8$  Hz, 1H, H-7), 4.73 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 12.8$  Hz, 1H, H-7), 4.43 (dd,  $J_{9-8} = 5.3$  Hz,  $J_{9-8} = 5.8$  Hz, 1H, H-9), 3.93 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.1$  Hz,  $J_{8-9} = 5.3$  Hz, 1H, H-8), 3.42 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.2$  Hz,  $J_{8-9} = 5.8$  Hz, 1H, H-8), 3.36 (s, 3H, H-10), 3.19 (s, 3H, H-10).



**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SClNa (M+Na)<sup>+</sup>: 437.0550. Encontrado: 437.0548 (desviación +0.5 ppm).

**5.2.1.1.n. (RS)-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-484D).**



El producto **MDG-484D** se preparó a partir de los compuestos **MDG-206A** o **MDG-430A** (1.0 equiv.) disueltos en DMF (5 mL/mmol de **MDG-206A** o **MDG-430A**) a t.a. Tras la adición de una porción sólida de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 equiv.) seguida de PhSH (1.1 equiv.), se mantuvo la agitación durante 1 h, transcurrida la cual, la reacción se detuvo mediante adición de EtOAc y agua destilada. La fase acuosa fue extraída (EtOAc) y la fase orgánica final se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al rotavapor. La purificación y la eliminación de la DMF retenida en la fase orgánica se realizaron ambas mediante cromatografía flash, para lo que se eluyó en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/50 hasta 1/15. El rendimiento en la obtención de la amina libre **MDG-484D** [sólido blanco, p.f. 89.5-90.5

°C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/3) = 0.33] fue del 98% cuando la reacción se realizó a partir de **MDG-206A** y del 90% cuando se hizo desde **MDG-430A**.

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.10-7.02 (m, 2H), 6.79 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.4$  Hz,  $J_3 = 1.0$  Hz, 1H), 6.67 (dd,  $J = 7.8$  Hz,  $J = 0.8$  Hz, 1H), 5.20 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 14.3$  Hz, 1H, H-5), 4.78 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 7.2$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 3.5$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.33 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 14.3$  Hz, 1H, H-5), 3.48 (s, 3H, H-1''), 3.41 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 13.9$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 7.2$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ), 3.25 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha} = 14.0$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 3.5$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  (ppm) 148.48 (C-11), 128.88, 128.23, 119.94 y 117.64 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 126.84 (C-6), 102.28 (CH-3), 63.99 (CH<sub>2</sub>-5), 55.28 (CH<sub>3</sub>-1''), 50.38 (CH<sub>2</sub>-2).

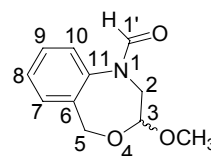
**MS (EI)**  $m/z$  181 (M+2); 179 (M<sup>+</sup>); 178 (M-1); 177 (M-2).

#### 5.2.1.2. (RS)-3-Metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas sustituidas sobre N. Modificación estructural del intermedio **MDG-484D**.

##### 5.2.1.2.a. (RS)-N-Acil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas. Formación de carboxamidas.

##### 5.2.1.2.a.i. (RS)-1-Formil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (**MDG-908B**).

**MDG-908B** se obtuvo como producto no deseado, por reacción entre **MDG-484D** (1.0 equiv.) y *N,N*-dimetilformamida en presencia de NaH (1 equiv.), cuando se intentó la síntesis de los productos **MDG-904B** (método A) y **MDG-946C** (método B). Se siguió el procedimiento



descrito para la preparación de **MDG-791D** (apartado 5.2.1.2.b.i.) pero se utilizó como disolvente DMF anhidra en lugar de THF. Los cloruros de *p*-metilsulfonilo (3 equiv.) y de *p*-nitrobenzoílo (3 equiv.) se añadieron a t.a. y -10 °C respectivamente. En el primer caso, el producto de partida **MDG-484D** desaparece por completo tras 16 h de reacción a 70 °C. En el segundo caso, se mantuvo la temperatura a 70 °C durante 25 h, tras las cuales aún se observó producto de partida mediante CCF. A continuación, las mezclas de reacción se enfriaron con baño de hielo/sal y se destruyó el NaH que pudiera quedar, con EtOH. El pH en ambos casos se encontró próximo a 2, por lo que se

procedió a la neutralización en frío ( $\text{NaHCO}_3$ ). Tras dilución ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), se lavaron las fases orgánicas con agua destilada y se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Tras filtración y eliminación del disolvente al rotavapor, se procedió a la eliminación de los restos de DMF y la purificación del producto final mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/50 hasta 1/2). **MDG-908B** resultó ser un líquido incoloro.  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/2) = 0.23.

Método A: Se obtuvo **908B** como único producto de reacción (rendimiento 36%).

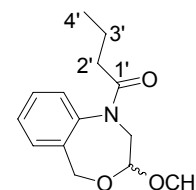
Método B: Se obtuvo **908B** (rendimiento 18%) junto a **946C** (rendimiento 9%).

$\text{CDCl}_3$ , t.a.: Confórmero mayoritario (aproximadamente 81%), confórmero minoritario (aproximadamente 19%).  **$^1\text{H-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 8.46 (s, 1H, H-1'), 8.26 (s, 1H,  $^m\text{H-1}'$ ), 7.35-7.08 (m, 4H, 4 $^m\text{H}$ ), 5.10 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 14.6$  Hz, 1H, H-5), 5.02 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.6$ , 1H,  $^m\text{H-5}$ ), 4.84 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 6.4$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 3.1$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.70 (pt,  $J_1 = 2.8$  Hz,  $J_2 = 3.3$  Hz, 1H,  $^m\text{H-3}$ ), 4.41 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 14.6$  Hz, 1H, H-5), 4.25 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.7$  Hz, 1H,  $^m\text{H-5}$ ), 4.15-4.05 y 3.80-3.65 (2ba, 4H, 2H-2, 2 $^m\text{H-2}$ ), 3.47 (s, 6H, H-1'',  $^m\text{H-1}''$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  (ppm) 162.81 ( $^m\text{CH-1}'$ ), 162.40 (CH-1'), 140.57, 134.42, 129.42, 128.95, 128.86, 127.59, 127.11 y 123.88 (aromáticos), 99.78 (CH-3), 63.19, (CH<sub>2</sub>-5), 55.75 (CH<sub>3</sub>-1''), 52.91 ( $^m\text{CH}_3\text{-1}''$ ), 47.32 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_3$  (M)<sup>+</sup>: 207.0895. Encontrado: 207.0894 (desviación +0.7 ppm).

#### 5.2.1.2.a.ii. (RS)-1-Butiril-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina<sup>1</sup> (**MDG-530B**).

Bajo argón y a t.a., se preparó una disolución de **MDG-484D** (1.0 equiv.) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro (3 mL/mmol de **MDG-484D**). Sobre ella, tras enfriar a 0 °C, se añadió  $\text{NEt}_3$  (3.0 equiv.) seguida de cloruro de butirilo



(2 equiv.), ambos gota a gota. Se permitió calentarse la mezcla hasta t.a. y se mantuvo la agitación durante 17 h. Tras este tiempo, se añadió  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y la fase orgánica resultante se lavó con agua destilada, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y se concentró al rotavapor. **MDG-530B**, con aspecto de líquido incoloro, se aisló mediante cromatografía

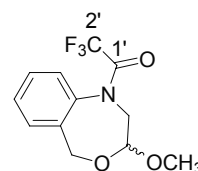
flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/20 hasta 1/5). Rendimiento 69%,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/3) = 0.27.

$\text{CDCl}_3$ , t.a.: Confórmero mayoritario (60%), confórmero minoritario (40%).  **$^1\text{H-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.39-7.10 (m, 4H,  $4^m\text{H}$ ), 5.15 (da,  $J = 12.9$  Hz,  $1^m\text{H}$ ), 5.05 (da,  $J = 14.0$  Hz,  $1^m\text{H}$ ), 4.82 (da,  $J = 13.7$  Hz, 1H), 4.76-4.67 (m, 2H,  $1^m\text{H}$ ), 4.49 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 14.1$  Hz, 1H, H-5), 4.15 (da,  $J = 13.0$  Hz, 1H,  $^m\text{H-5}$ ), 3.49 (s, 3H, H-1''), 3.43 (s, 3H,  $^m\text{H-1}''$ ), 2.85 (da,  $J = 14.0$  Hz,  $1^m\text{H}$ ), 2.70 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 13.6$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 8.8$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ), 2.26 (m, 2H, H-2',  $^m\text{H-2}'$ ), 2.06 (m, 2H, H-2',  $^m\text{H-2}'$ ), 1.58 (m, 4H, H-3',  $^m\text{H-3}'$ ), 0.83 (t,  $J_{4'-3'} = 7.4$  Hz, 6H, H-4',  $^m\text{H-4}'$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 173.01 (C-1'), 143.60 ( $^m\text{C-11}$ ), 142.00 (C-11), 136.70 ( $^m\text{C-6}$ ), 136.27 (C-6), 129.81-127.24 (CH-aromáticos), 102.67 (CH-3), 99.03 ( $^m\text{CH-3}$ ), 66.05 ( $\text{CH}_2$ -5), 61.58 ( $^m\text{CH}_2$ -5), 56.28 ( $\text{CH}_3$ -1''), 55.09 ( $^m\text{CH}_3$ -1''), 50.71 ( $\text{CH}_2$ -2), 48.94 ( $^m\text{CH}_2$ -2), 36.07 ( $\text{CH}_2$ -2',  $^m\text{CH}_2$ -2'), 18.83 ( $\text{CH}_2$ -3',  $^m\text{CH}_2$ -3'), 13.85 ( $\text{CH}_3$ -4',  $^m\text{CH}_3$ -4').

**MS LSIMS**  $m/z$  (intensidad relativa) 274 (13), 273 (17), 272 ( $\text{M}^+\text{Na}^+$ , 66), 266 (16), 265 (50), 264 (25), 263 (34), 251 (11), 250 ( $\text{M}^+\text{H}^+$ , 47), 249 (20), 248 (23), 247 (30), 237 (42), 235 (21), 234 (15), 233 (29), 232 (18), 231 (35), 230 (21), 229 (30), 228 (17), 227 (38), 226 (16), 225 (8), 222 (37), 221 (100), 220 (27), 219 (49), 218 (53). **HRMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_3\text{Na}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  272.1263. Encontrado 272.1260 (desviación +1.0 ppm).

### 5.2.1.2.a.iii. (*RS*)-3-Metoxi-1-trifluoroacetyl-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina<sup>1</sup> (*MDG-540A*).

La amida ***MDG-540A*** se preparó mediante reacción de ***MDG-484D*** con anhídrido trifluoroacético según el procedimiento descrito para la preparación de ***MDG-530B*** (apartado 5.2.1.2.a.ii.). Después de 18 h de agitación a t.a., la reacción se diluyó ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) y la fase orgánica se lavó con agua destilada, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y se eliminó a continuación el disolvente a vacío. La purificación se llevó a cabo mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/50 hasta 1/16) y el producto final ***MDG-540A*** se aisló así en forma de sólido blanco con un rendimiento del 79% [p.f. 76.0-77.0 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/4) = 0.35].

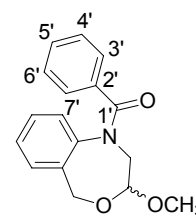


CDCl<sub>3</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (55%), confórmero minoritario (45%). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 7.39-7.18 (m, 4H, 4<sup>m</sup>H), 5.21 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.3$  Hz, 1H, H-5), 4.91 (dd,  $J_{\text{gem } 2-2} = 13.8$  Hz,  $J_{2-3} = 1.4$  Hz, 1H, H-2), 4.75-4.68 (m, 4H, H-3, <sup>m</sup>H-3, <sup>m</sup>H-5, <sup>m</sup>H-2), 4.56 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 14.0$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-5), 4.18 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.2$  Hz, 1H, H-5), 3.51 (s, 3H, <sup>m</sup>H-1''), 3.44 (s, 3H, H-1''), 3.06 (d,  $J_{\text{gem } 2-2} = 13.8$  Hz, 1H, H-2), 2.85 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 13.0$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 8.2$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-2 $\alpha$ ). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 156.74 (c,  $J_{\text{C-F}} = 36.0$  Hz, <sup>m</sup>C-1'), 156.65 (c,  $J_{\text{C-F}} = 36.0$  Hz, C-1'), 140.40 (C-11), 138.85 (<sup>m</sup>C-11), 136.55 (C-6), 136.42 (<sup>m</sup>C-6), 129.77-126.75 (CH-aromáticos), 116.44 (c,  $J_{\text{C-F}} = 287.0$  Hz, C-2'), 116.25 (c,  $J_{\text{C-F}} = 287.0$  Hz, <sup>m</sup>C-2'), 102.24 (<sup>m</sup>CH-3), 98.56 (CH-3), 66.32 (<sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-5), 61.30 (CH<sub>2</sub>-5), 56.44 (<sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-1''), 55.24 (CH<sub>3</sub>-1''), 52.90 (<sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-2), 51.27 (CH<sub>2</sub>-2).

**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 331 (7), 330 (26), 329 (100), 299 (12), 298 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 51), 277 (9), 276 (M<sup>+</sup>+H<sup>+</sup>, 34), 274 (15), 273 (15), 245 (22), 244 (61), 243 (13). **HRMS** *m/z*: Calculado para C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>3</sub>F<sub>3</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 298.0670. Encontrado 298.0673 (desviación -2.0 ppm).

#### 5.2.1.2.a.iv. (RS)-1-Benzoil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina<sup>1</sup> (MDG-616A).

Una disolución de **MDG-484D** (1.0 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (3 mL/mmol de **MDG-484D**) se preparó bajo argón y se enfrió a 0 °C. A esta temperatura se añadió gota a gota NEt<sub>3</sub> (3 equiv.), seguida de cloruro de benzoilo (2 equiv.). La mezcla se agitó durante 3 h, entre 0 y 5 °C, y se diluyó a continuación (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Después de lavar la fase orgánica con agua destilada, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró a vacío. El producto final **MDG-616A**, se eluyó en cromatografía flash utilizando mezclas de EtOAc/hexano en gradiente desde 1/20 hasta 1/4 [sólido blanco, p.f. 104.5-105.0 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/4) = 0.17, rendimiento cuantitativo].



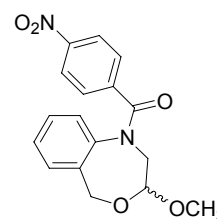
CDCl<sub>3</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (86%), confórmero minoritario (14%). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.10 (d, 2<sup>m</sup>H), 7.59 (t, 1<sup>m</sup>H), 7.47 (t, 2<sup>m</sup>H), 7.38-7.04 (m, 7H, 4<sup>m</sup>H), 6.93 (t, 1H), 6.61 (d, 1H), 5.39-5.06 (ba), 4.87 (sa, 1H, 1<sup>m</sup>H), 4.70-4.33 (bs), 3.51

(s, 6H, H-1'', <sup>m</sup>H-1''). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 170.11 (C-1'), 135.59, 133.55, 130.18, 130.01, 129.17, 128.65, 128.49, 128.07, 127.86, 126.68, 126.34 (aromáticos), 101.54 (CH-3), 64.60 (CH<sub>2</sub>-5), 55.74 (CH<sub>3</sub>-1''), 50.47 (CH<sub>2</sub>-2). DMSO-*d*<sub>6</sub>, 80 °C: Confórmero mayoritario (90%), confórmero minoritario (10%): <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 7.91 (m, 2<sup>m</sup>H), 7.56 (dddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.4 Hz, *J*<sub>3</sub> = *J*<sub>4</sub> = 1.4 Hz, 1<sup>m</sup>H), 7.45-7.38 (m, 3<sup>m</sup>H), 7.32 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.4 Hz, 2H), 7.30-7.17 (m, 4H, 3<sup>m</sup>H), 7.09 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.5 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.2 Hz, 1H), 6.97 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.6 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.5 Hz, 1H), 6.69 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.07 (d, *J* = 13.9 Hz, 2H, H-5, <sup>m</sup>H-5), 4.77 (dd, *J*<sub>1</sub> = 5.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2.9 Hz, 2H, H-3, <sup>m</sup>H-3), 4.56 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.9 Hz, 2H, H-5, <sup>m</sup>H-5), 3.90 (bs), 3.40 (s, 6H, H-1'', <sup>m</sup>H-1''), 3.29 (m).

**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 285 (15), 284 (M<sup>+</sup>+H<sup>+</sup>, 100), 283 (M<sup>+</sup>, 30), 282 (12). **HRMS** *m/z*: Calculado para C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub> (M+H)<sup>+</sup> 284.1287. Encontrado 284.1282 (desviación +1.6 ppm).

#### 5.2.1.2.a.v. (RS)-3-Metoxi-1-(4-nitrobenzoil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxa\_zepina (MDG-946C).

Se preparó bajo argón una suspensión de NaH (1.0 equiv.) en THF anhidro (3 mL/mmol de NaH), que se enfrió hasta 0 °C. Alcanzada esa temperatura se añadió, gota a gota, una disolución de **MDG-484D** (1.0 equiv.) en THF anhidro (3 mL/mmol de **MDG-484D**). Tras la adición se mantuvo la agitación en frío durante 15 min y después, a t.a., durante 20 min más. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se llevó hasta 0 °C para la incorporación del cloruro de *p*-nitrobenzoilo (3.0 equiv.) en pequeñas porciones de sólido. Se permitió entonces que se alcanzara la t.a. y se mantuvo la agitación en atmósfera inerte durante 18 h. Para el tratamiento de la reacción, se añadió EtOH sobre la mezcla y se eliminó el disolvente al rotavapor. El residuo se volvió a disolver (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) y la fase orgánica resultante se lavó con agua destilada, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al rotavapor. La amida final se aisló mediante cromatografía flash utilizando mezclas eluyentes EtOAc/hexano en gradiente desde 1/8 hasta 1/3 [sólido blanco, p.f. 164.5-165.5 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/1) = 0.49, rendimiento 58%].



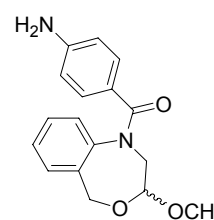
DMSO- $d_6$ , 60 °C: Confórmero mayoritario, confórmero minoritario.  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 8.04 (d,  $J = 8.8$  Hz), 7.48 (d,  $J = 8.6$  Hz), 7.36 (dd,  $J_1 = 7.5$  Hz,  $J_2 = 1.3$  Hz), 7.14 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.5$  Hz,  $J_3 = 1.2$  Hz), 7.01 (m), 6.92 (m), 6.80 (m), 5.09 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.9$  Hz, 1H, H-5), 4.82 (m, H-3), 4.65 (m), 4.59 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.9$  Hz, H-5), 4.51 (d,  $J = 5.6$  Hz), 3.97 (d,  $J = 5.1$  Hz), 3.42 (s, 3H, H-1''), 3.35 (s, 3H,  $^m\text{H-1''}$ ).

$\text{CDCl}_3$ , t.a.: Dos estructuras isómeras.  $^{13}\text{C-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) 167.89, 156.82, 148.32, 141.96, 130.21-127.42, 123.19, 121.53, 112.21 (aromáticos), 101.89 (CH-3), 67.75, 62.31 (2C,  $\text{CH}_2$ ), 55.81 ( $^m\text{CH}_3\text{-1''}$ ), 54.10 ( $\text{CH}_3\text{-1''}$ ).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  351.0957. Encontrado 351.0962 (desviación -1.3 ppm).

#### 5.2.1.2.a.vi. (RS)-1-(4-Aminobenzoil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-964B).

Sobre una suspensión de **MDG-946C** (1.0 equiv.) en EtOH (5 mL/mmol de **MDG-946C**), se añadió  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (5 equiv.). La mezcla se calentó a reflujo durante 1 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se dejó enfriar hasta t.a. y se llevó a 0 °C para la neutralización con  $\text{NaHCO}_3$ . Una vez a pH 7-8, se extrajo la fase acuosa en primer lugar, con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y después, con EtOAc. Las fases orgánicas resultantes se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtraron y se mezclaron antes de concentrarse al rotavapor. La purificación del residuo mediante cromatografía flash (elución con mezclas EtOAc/hexano en gradiente desde 1/6 hasta 1/1) permitió el aislamiento de **MDG-964B** (67%) con aspecto de sólido blanco [p.f. 78.5-79.5 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 2/1) = 0.32].



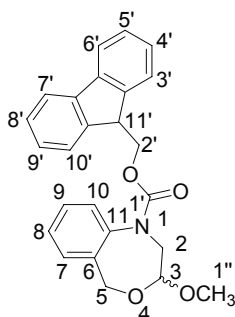
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.25 (da,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 7.12-7.05 (m, 3H), 6.99 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.5$  Hz, 1H), 6.68 (dd,  $J_1 = 7.8$  Hz,  $J_2 = 0.8$  Hz, 1H), 6.39 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 5.20 (ba, 1H), 4.81 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 5.6$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.4$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.52 (ba, 1H), 3.79 (sa, 2H), 3.49 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 169.89, 148.38, 131.11, 128.95, 128.34, 128.03, 126.26, 124.91, 113.64, 106.45, 55.71.

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $C_{17}H_{18}N_2O_3Na$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>: 321.1215. Encontrado: 321.1213 (desviación +0.6 ppm).

**5.2.1.2.b. (RS)-N-Oxicarbonil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas. Formación de carbamatos.**

**5.2.1.2.b.i. (RS)-1-(9H-9-Fluorenilmetoxicarbonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-791D).**

Se preparó bajo argón una suspensión de NaH (1.0 equiv.) en THF anhidro (3 mL/mmol de NaH), que se enfrió posteriormente a 0 °C. A esa temperatura se añadió gota a gota una disolución de la amina de partida **MDG-484D** (1.0 equiv.) en THF anhidro (5 mL/mmol de **MDG-484D**).



Tras la adición, se mantuvo la agitación en frío durante 15 min y después, a t.a. durante 20 min más. El Fmoc-Cl (3.0 equiv.) se añadió sólido entonces, sin enfriar la mezcla, en pequeñas porciones. A continuación, la temperatura de la reacción se incrementó hasta 30 °C y se mantuvo así la agitación durante 8.5 h, hasta la desaparición del producto de partida. Tras añadir EtOH a la mezcla de reacción, se diluyó ( $CH_2Cl_2$ ), se filtró y se concentró al rotavapor. El residuo se redisolvió en  $CH_2Cl_2$  y la fase orgánica resultante se lavó con agua destilada y se concentró a vacío tras secado ( $Na_2SO_4$ ) y filtración. El carbamato final (**MDG-791D**) se aisló mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano desde 1/20 hasta 1/7), en forma de sólido blanco [p.f. 61.2-62.2 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/3) = 0.37], con rendimiento 85%.

El residuo se redisolvió en  $CH_2Cl_2$  y la fase orgánica resultante se lavó con agua destilada y se concentró a vacío tras secado ( $Na_2SO_4$ ) y filtración. El carbamato final (**MDG-791D**) se aisló mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano desde 1/20 hasta 1/7), en forma de sólido blanco [p.f. 61.2-62.2 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/3) = 0.37], con rendimiento 85%.

DMSO- $d_6$ , 100 °C: <sup>1</sup>H-RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.80 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.45 (pt,  $J_1 = 9.3$  Hz,  $J_2 = 8.4$  Hz, 2H), 7.36 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 7.23 (m, 3H), 7.16 (m, 2H), 7.05 (sa, 1H), 4.81 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 14.3$  Hz, 1H, H-5), 4.49 (m, 3H, H-3, H-2'), 4.28 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 14.3$  Hz, 1H, H-5), 4.19 (t,  $J_{3'-2'} = 5.7$  Hz, 1H, H-11'), 3.67 (da,  $J_{gem\ 2-2} = 14.3$  Hz, 1H, H-2), 3.31 (d, 1H, H-2), 3.31 (s, 3H, H-1''). <sup>13</sup>C-RMN (DMSO- $d_6$ , 100 MHz):  $\delta$  (ppm) 153.70 (C-1'), 143.31, 143.29, 140.50, 140.42, 134.34, 127.61, 127.17, 127.02,



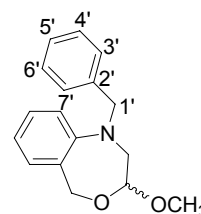
126.90, 126.42, 126.41, 125.63, 124.29, 124.26, 119.42 (aromáticos), 99.77 (CH-3), 66.34, 62.72, 50.91 (3C, CH<sub>2</sub>), 54.37, 46.44 (CH-11', CH<sub>3</sub>-1'').

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup>: 424.1525. Encontrado: 424.1524 (desviación +0.2 ppm).

**5.2.1.2.c. (RS)-N-Alquil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas. Formación de aminas terciarias.**

**5.2.1.2.c.i. (RS)-1-Bencil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-804B).**

Sobre una suspensión de NaH (1.0 equiv.) en THF anhidro (2 mL/mmol de NaH), que se preparó bajo argón y se enfrió a -10 °C, se goteó una disolución de **MDG-484D** (1.0 equiv.) en THF anhidro (7 mL/mmol de **MDG-484D**) igualmente preparada bajo argón. Tras agitación en frío durante 10 min, se mantuvo la mezcla durante 30 min más a t.a. y bajo atmósfera inerte. Transcurrido este tiempo, se volvió a enfriar hasta los -10 °C para la adición del bromuro de bencilo (1.05 equiv.) y se mantuvo esta temperatura durante 10 min más. Posteriormente se calentó hasta 60 °C. Tras 12 h se añadió EtOH y se eliminó el disolvente al rotavapor. El residuo volvió a disolverse, esta vez en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, y la fase orgánica se lavó con agua destilada, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró a sequedad. La purificación de la amina final se llevó a cabo mediante cromatografía flash. La elución de los restos apolares se consiguió con mezcla EtOAc/hexano 1/40 y la separación de los productos final y de partida, con mezcla EtOAc/hexano 1/8. **MDG-804B** resultó ser un líquido incoloro que se obtuvo con un rendimiento del 18%. R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/5) = 0.47.



**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 7.35-7.25 (m, 5H), 7.12 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 7.07 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.6 Hz, 1H), 6.81 (m, 2H), 5.24 (d, *J*<sub>gem</sub> = 14.3 Hz, 1H), 4.72 (dd, *J*<sub>3β-2α</sub> = 8.0 Hz, *J*<sub>3β-2β</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-3β), 4.58 (d, *J*<sub>gem</sub> = 15.4 Hz, 1H), 4.43 (2d, 2H, H-5, H-1'), 3.45 (dd, *J*<sub>gem 2α-2β</sub> = 14.9 Hz, *J*<sub>2α-3β</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-2α), 3.40 (s, 3H, H-1''), 3.19 (dd, *J*<sub>gem 2β-2α</sub> = 14.9 Hz, *J*<sub>2β-3β</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-2β). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 150.28, 138.87, 128.39 (C-cuaternarios), 128.93, 128.61, 128.34, 127.70,

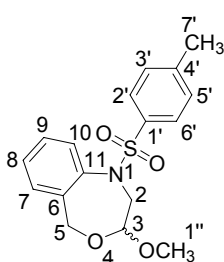
127.19, 119.82, 116.51 (CH-aromáticos), 101.64 (CH-3), 64.70, 57.43 y 55.37 (3C, CH<sub>2</sub>), 55.25 (CH<sub>3</sub>-1'').

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 292.1313. Encontrado 292.1310 (desviación +1.4 ppm).

**5.2.1.2.d. (RS)-N-Sulfonil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas.**  
Formación de sulfonamidas.

**5.2.1.2.d.i. (RS)-1-(*p*-Metilbencénsulfonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-904B).**

**MDG-904B** se preparó a partir de **MDG-484D** siguiendo el método descrito para la



síntesis de **MDG-616A** (apartado 5.2.1.2.a.iv.) con la diferencia de que la reacción transcurrió aplicando un poco de calor (35 °C) y se prolongó durante 21 h. A continuación se diluyó la mezcla de reacción (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) y se lavó la fase orgánica resultante con agua destilada. Tras secado (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y filtración, el disolvente se eliminó

al rotavapor y se purificó el residuo mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/20 hasta 1/10). Se obtuvo **MDG-904B** como sólido blanco [p.f. 106.0-107.0 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/3) = 0.46], con rendimiento 26%.

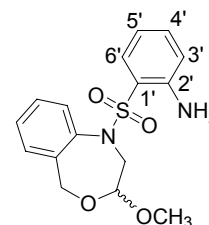
**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 7.56 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.51 (da, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.31-7.14 (m, 5H), 4.67 (pt, *J*<sub>1</sub> = 4.3 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3.6 Hz, 1H, H-3), 4.43 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.7 Hz, 1H, H-5), 4.09 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.7 Hz, 1H, H-5), 3.87 (da, *J* = 12.5 Hz, 1H, H-2), 3.74 (ba, 1H, H-2), 3.37 (s, 3H, H-1''), 2.40 (s, 3H, H-7'). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 144.35, 140.53, 138.64 y 138.20 (C-cuaternarios), 130.15 (2C, CH-PhSO<sub>2</sub>), 130.04, 129.72, 129.66 y 128.69 (CH-aromáticos), 128.51 (2C, CH-PhSO<sub>2</sub>), 101.68 (ba, CH-3), 65.11 (ba, CH<sub>2</sub>-5), 56.18 (CH<sub>3</sub>-1''), 54.37 (CH<sub>2</sub>-2), 22.54 (CH<sub>3</sub>-7').

**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 358 (8), 357 (20), 356 [(M+Na)<sup>+</sup> 100], 340 (22), 332 (24), 312 (10), 302 (15), 288 (6), 259 (7), 257 (57), 255 (16), 254 (52), 250 (16).

**HRMS**  $m/z$ : Calculado para  $C_{17}H_{19}NO_4SNa$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup> 356.0933. Encontrado 356.0933 (desviación -0.1 ppm).

**5.2.1.2.d.ii. (RS)-1-(o-Aminobencénsulfonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-858B).**

**MDG-858B** se preparó a partir del compuesto **MDG-206A** siguiendo el método descrito para la preparación de **MDG-964B**



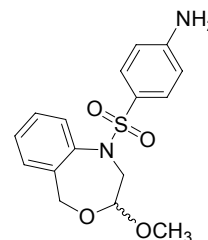
(apartado 5.2.1.2.a.vi.). Tras 1 hora a reflujo, la reacción se dejó enfriar hasta t.a. y se llevó a 0 °C para la neutralización del pH. La fase acuosa se extrajo con  $CH_2Cl_2$  y EtOAc y las fases orgánicas resultantes se secaron ( $Na_2SO_4$ ), se filtraron y se mezclaron antes de concentrarse al rotavapor. La purificación del residuo mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano 1/6 a 1/3) permitió el aislamiento del producto reducido **MDG-858B**, en forma de líquido amarillento (rendimiento 86%).  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/2) = 0.23.

**$^1H$ -RMN** ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.54 (dd,  $J_1 = 8.3$  Hz,  $J_2 = 1.5$  Hz, 1H), 7.41 (da,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 7.28-7.19 (m, 4H), 6.68-6.63 (m, 2H), 4.88 (sa, 2H,  $NH_2$ ), 4.71 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 13.5$  Hz, 1H, H-5), 4.60 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 6.1$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.1$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.29 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 13.5$  Hz, 1H, H-5), 3.92 (da,  $J_{gem\ 2\alpha-2\beta} = 13.6$  Hz, 1H, H-2), 3.57 (ba, 1H, H-2), 3.39 (s, 3H, H-1").  **$^{13}C$ -RMN** ( $CDCl_3$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 145.66, 139.93, 137.81, 121.58 (C-cuaternarios), 134.41, 130.70, 129.29, 128.71, 128.60, 127.76, 117.42 y 117.00 (CH-aromáticos), 101.41 (CH-3), 65.23 y 53.37 (CH<sub>2</sub>-5, CH<sub>2</sub>-2), 55.66 (CH<sub>3</sub>-1").

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $C_{16}H_{18}N_2O_4SNa$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup> 357.0885. Encontrado 357.0881 (desviación +1.0 ppm).

5.2.1.2.d.iii (RS)-1-(p-Aminobencénsulfonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (**MDG-872B**).

**MDG-872B** se preparó siguiendo el procedimiento descrito para **MDG-964B** (apartado 5.2.1.2.a.vi.) a partir del compuesto con grupo nitro **MDG-430A**. La reacción se mantuvo 1 h a reflujo tras la cual, se comprobó mediante CCF la desaparición del producto de partida y la aparición de un nuevo compuesto. La neutralización de la disolución y la posterior extracción de la fase acuosa utilizando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y EtOAc, proporcionaron un residuo que se sometió a purificación mediante cromatografía flash. La elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano desde 1/3 hasta 1/1 permitió el aislamiento de **MDG-872B** con aspecto de líquido incoloro [rendimiento 57%,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/2) = 0.30].



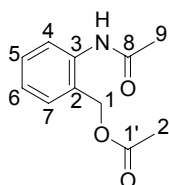
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.48 (da,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.44 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H, H- $\text{PhSO}_2$ ), 7.25 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.5$  Hz,  $J_3 = 1.1$  Hz, 1H), 7.19 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.3$  Hz,  $J_3 = 1.5$  Hz, 1H), 7.14 (dd,  $J_1 = 7.4$  Hz,  $J_2 = 2.1$  Hz, 1H), 6.56 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H, H- $\text{PhSO}_2$ ), 4.67 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 5.8$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.4$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.49 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.7$  Hz, 1H, H-5), 4.15 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.7$  Hz, 1H, H-5), 4.10 (ba,  $\text{NH}_2$ ), 3.89 (da,  $J = 14.6$  Hz, 1H, H-2), 3.63 (ba, 1H, H-2), 3.39 (s, 3H, H-1").  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 150.61, 139.89, 137.33 y 128.95 (C-cuaternarios), 129.70 (2C, CH- $\text{PhSO}_2$ ), 129.05, 128.70, 128.68 y 127.53 (CH-aromáticos), 113.70 (2C, CH- $\text{PhSO}_2$ ), 101.16 (CH-3), 64.68 ( $\text{CH}_2$ -5), 54.43 ( $\text{CH}_3$ -1"), 53.34 ( $\text{CH}_2$ -2).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{SNa}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  357.0885. Encontrado 357.0883 (desviación +0.6 ppm).

### 5.2.1.3. Otros compuestos obtenidos en la exploración de la ruta sintética hacia MDG-484D.

#### 5.2.1.3.a. Acetato de 2-acetamidofenilmetilo (**64**)<sup>3</sup>.

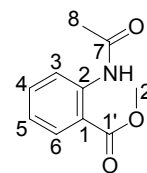
Una disolución de 2-aminofenilmetanol (1.0 equiv.) en piridina (1 mL/mmol de alcohol) se preparó a t.a. y sobre ella se añadió anhídrido acético (3.0 equiv.). La mezcla se mantuvo en agitación durante 7 h transcurridas las cuales, no se observó producto de partida mediante CCF. La mayor parte del disolvente de reacción se eliminó mediante evaporación a vacío y las trazas remanentes mediante disolución del residuo en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y posteriores lavados con HCl (10%). Tras el secado de la fase orgánica (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y filtración, se eliminó el disolvente a vacío y se obtuvo así **64** (sólido blanco, p.f. 96.0-97.0 °C, rendimiento 89%).



**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 230.0793. Encontrado 230.0794 (desviación -0.3 ppm).

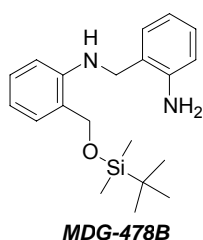
#### 5.2.1.3.b. 2-Acetamidobenzoato de metilo (**65**)<sup>4</sup>.

Sobre una disolución de 2-aminobenzoato de metilo (1.0 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL/mmol del éster) se añadieron, lentamente, NEt<sub>3</sub> (1.5 equiv.) y anhídrido acético (1.0 equiv.), ambos a 0 °C. Tras las adiciones la agitación se mantuvo a t.a. durante 3 h, transcurridas las cuales, la fase orgánica se sometió a sucesivos lavados con HCl (10%), NaOH (2M), agua y una disolución saturada de NaCl. La fase orgánica final se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se filtró antes de eliminarse el disolvente a presión reducida. El sólido resultante, **65**, se purificó mediante recristalización en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexano con un rendimiento del 39% [sólido blanco, p.f. 102.0-104.0 °C (99.0-100.0 °C descrito por Pandey y cols<sup>4a</sup>), R<sub>f</sub> (Et<sub>2</sub>O/hexano) 1/1 = 0.45].



**MS (EI)** *m/z*: 193 (M<sup>+</sup>), 194 (M+1), 195 (M+2).

**5.2.1.3.c. N-(2-Aminofenilmetil)-2-(*terc*-butildimetilsililoximetil)anilina (MDG-478B).**



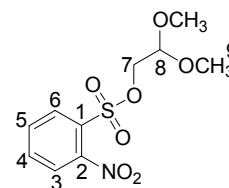
Sobre una disolución de **61** (1.0 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL/mmol de **61**) se añadió 2-bromo-1,1-dimetoxietano (0.5 equiv.) a t.a. La temperatura se elevó entonces a 35 °C y se agitó la mezcla durante 19 h. Transcurrido este tiempo se lavó la fase orgánica con agua destilada y se procedió a la purificación de los productos mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano 0/1 a 1/60). Se obtuvo así, como producto no esperado, **MDG-478B** (líquido, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/12) = 0.27, rendimiento 15%).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 7.25-7.03 (m, 4H), 6.81-6.69 (m, 4H), 4.65 (s, 2H), 4.23 (s, 2H), 0.75 [s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], -0.03 [s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si].

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Si (M+H)<sup>+</sup> 343.2206. Encontrado 343.2208 (desviación -0.7 ppm).

**5.2.1.3.d. 2-Nitrobencénsulfonato de 2,2-dimetoxietilo<sup>1</sup> (MDG-302A).**

Sobre una disolución de 2,2-dimetoxietanol (1.0 equiv.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (3 mL/mmol alcohol) que se preparó bajo argón y se enfrió a 0 °C, se añadieron cloruro de 2-nitrobencénsulfonilo (1.0 equiv.) y NEt<sub>3</sub> (1.0 equiv.). La agitación se mantuvo durante 3 h a t.a. Tras lavado con agua se purificó el compuesto final por cromatografía flash (elución con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) con rendimiento 92% [líquido amarillo, R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) = 0.46].

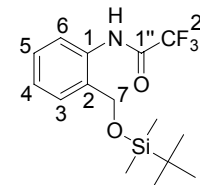


<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.12 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.84-7.70 (m, 3H), 4.60 (t, *J*<sub>8-7</sub> = 5.3 Hz, 1H, H-8), 4.22 (d, *J*<sub>7-8</sub> = 5.3 Hz, 2H, H-7), 3.36 (s, 6H, H-9). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 134.93, 132.38, 131.43, 124.93 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 129.72 (C-1), 101.09 (CH-8), 69.62 (CH<sub>2</sub>-7), 54.73 (CH<sub>3</sub>-9).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>7</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 314.0310. Encontrado 314.0309 (desviación +0.4 ppm).

**5.2.1.3.e. N-[2-(*tert*-Butildimetilsililoximetil)fenil]-2,2,2-trifluoroacetamida<sup>1</sup> (MDG-237A).**

Una disolución de **61** (1.0 equiv.) y 1-trifluoroacetilbenzotriazol<sup>6</sup> (2.5 equiv.) en THF (3 mL/mmol de **61**) se agitó a t.a. durante 3 h. Transcurrido dicho tiempo, el disolvente se evaporó a vacío y el residuo se sometió a purificación mediante cromatografía FLASH 40 (elución con mezcla EtOAc/hexano 1/100) obteniéndose **MDG-237A** en forma de aceite amarillo con rendimiento 66%.

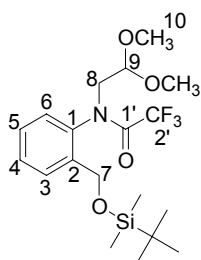


<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 10.15 (sa, 1H, NH), 8.22, (d, *J* = 8.12 Hz, 1H), 7.36 (m, 1H), 7.17-7.11 (m, 2H), 4.80 (s, 2H, H-7), 0.89 [s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 0.10 [s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si]. <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 135.77, 129.43 (2C, C-cuaternarios), 128.98, 127.92, 125.50, 121.76 (CH-aromáticos), 115.69 (c, *J*<sub>C-F</sub> = 290.0 Hz, C-2''), 65.61 (CH<sub>2</sub>-7), 25.66 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 18.26 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], -5.44 [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si].

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>2</sub>F<sub>3</sub>SiNa (M+Na)<sup>+</sup> 356.1270. Encontrado 356.1268 (desviación +0.5 ppm).

**5.2.1.3.f. N-[2-(*tert*-Butildimetilsililoximetil)fenil]-N-(2,2-dimetoxietil)-2,2,2-trifluoroacetamida<sup>1</sup> (MDG-320B).**

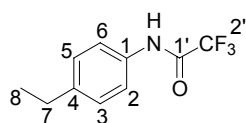
Sobre una disolución de **MDG-237A** (1.0 equiv.) en DMF anhidra (3 mL/mmol de **MDG-237A**) preparada bajo argón, se añadió gota a gota MTBD (7-metil-1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]-5-deceno) (1.0 equiv.) a t.a. La mezcla se mantuvo en agitación durante 1 h transcurrida la cual, se añadió una disolución del sulfonato **MDG-302A** (1.0 equiv.) en DMF anhidra (3 mL/mmol de sulfonato). La temperatura se elevó entonces hasta 100 °C y tras 24 h la mezcla se enfrió a t.a. y se diluyó con agua destilada y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase orgánica resultante se sometió a sucesivos lavados con agua, se secó



(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó al rotavapor. La purificación mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/150 hasta 1/100) permitió el aislamiento de **MDG-320B** (líquido amarillo, rendimiento 7%).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 7.18, (t, 1H), 7.01 (d, 1H), 6.65 (m, 2H), 4.66 (s, 2H, H-7), 4.62 (t, 1H, H-9), 3.41 (s, 6H, H-10), 3.28 (d, 2H, H-8), 0.89 [s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C], 0.06 [s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si].

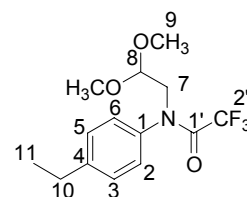
### 5.2.1.3.g. *N*-(4-Etilfenil)-2,2,2-trifluoroacetamida<sup>5</sup> (**66**).



Sobre una disolución de 4-etilanilina (1.0 equiv.) en THF (3 mL/mmol) que se mantuvo cerrada con torre de sílica azul, se añadió, a t.a., el 1-(trifluoroacetyl)benzotriazol<sup>6</sup> (1.5 equiv.). Tras 3 h de agitación a t.a. se observó la desaparición del producto de partida. El crudo de la reacción se concentró al rotavapor y se procedió a su purificación mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/25 a 1/20). Se obtuvo así **66**, como un sólido blanco, con rendimiento cuantitativo [p.f. 104.4-104.6 °C (104.0-105.0 °C descrito por Vigorita y cols<sup>5b</sup>), R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/9) = 0.70].

### 5.2.1.3.h. *N*-(2,2-Dimetoxietil)-*N*-(4-etilfenil)-2,2,2-trifluoroacetamida (**MDG-382D**).

El compuesto **MDG-382D** se preparó a partir de **66** utilizando las condiciones descritas en el apartado 5.2.1.1.e para la formación de **MDG-190C**. La reacción se mantuvo a reflujo durante 22 h, tras las cuales el crudo de la reacción se concentró al rotavapor y se purificó por cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano desde 0/1 hasta 1/40). Se aisló **MDG-382D** como un líquido amarillo con un rendimiento del 8%.



CDCl<sub>3</sub>, t.a.: Dos estructuras isómeras. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 7.27-7.16 (m, 4H, 4<sup>m</sup>H), 4.65-4.58 (m, 2H, H-8, <sup>m</sup>H-8), 3.82 (d, J<sub>7-8</sub> = 5.7 Hz, 2H, H-7, <sup>m</sup>H-7), 3.33



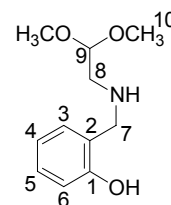
(s, 12H, H-9,  $^m\text{H}$ -9), 2.68 (c,  $J_{10-11} = 7.6$  Hz, 4H, H-10,  $^m\text{H}$ -10), 1.25 (t,  $J_{11-10} = 7.6$  Hz, 6H, H-11,  $^m\text{H}$ -11).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}_3\text{F}_3\text{Na}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  328.1136. Encontrado 328.1139 (desviación -0.8 ppm).

### 5.2.2. (RS)-2-Metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepinas sustituidas sobre $\text{N}4^1$ .

#### 5.2.2.1. 2-(2,2-Dimetoxietilaminometil)fenol (MDG-84A).

Bajo argón y a t.a., se preparó una disolución de 2-hidroxibenzaldehído (1.0 equiv.) en EtOH (0.2 mL/mmol de 2-hidroxibenzaldehído) sobre la que se añadió 2,2-dimetoxietilamina (1.0 equiv.). A continuación se calentó la mezcla a reflujo y tras 5 h de agitación, se observó la desaparición del aldehído inicial (CCF). Tras enfriamiento de la reacción hasta t.a., se eliminó el disolvente a vacío. El residuo resultante se disolvió bajo atmósfera inerte en MeOH anhidro y se le añadió gota a gota y a t.a. una suspensión de  $\text{NaBH}_4$  (2.5 equiv.) en MeOH anhidro (1 mL/mmol de  $\text{NaBH}_4$ ). Tras agitar 30 min, se elevó la temperatura hasta 65 °C y se mantuvo así durante 75 min. A continuación se permitió el enfriamiento de la mezcla y se le añadió agua destilada hasta que cesó el burbujeo. Se eliminó el metanol a vacío, quedando una fase acuosa de pH básico que se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La fase orgánica resultante se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se concentró al rotavapor. La purificación del producto final se llevó a cabo mediante cromatografía flash, eluyéndose éste con mezcla de EtOAc/hexano 3/10, en forma de aceite amarillo (rendimiento cuantitativo,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/1) = 0.35).

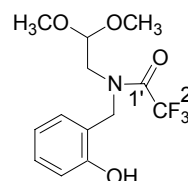


$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.16 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H), 6.98 (dd,  $J_1 = 7.4$  Hz,  $J_2 = 1.2$  Hz, 1H), 6.83 (dd,  $J_1 = 8.1$  Hz,  $J_2 = 0.9$  Hz, 1H), 6.77 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.4$  Hz,  $J_3 = 1.1$  Hz, 1H), 4.48 (t,  $J_{9-8} = 5.4$  Hz, 1H, H-9), 4.00 (s, 2H, H-7), 3.38 (s, 6H, H-10), 2.78 (d,  $J_{8-9} = 5.4$  Hz, 2H, H-8).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 158.19 (C-1), 128.87, 128.46, 119.14, 116.47 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 122.35 (C-2), 103.20 (CH-9), 54.33 ( $\text{CH}_3$ -10), 52.59 y 49.73 ( $\text{CH}_2$ -7,  $\text{CH}_2$ -8).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 234.1106. Encontrado 234.1107 (desviación -0.3 ppm).

### 5.2.2.2. *N*-(2,2-Dimetoxietil)-2,2,2-trifluoro-*N*-(2-hidroxibencil)acetamida (**MDG-267A**).

Una disolución de **MDG-84A** (1.0 equiv.) y 1-trifluoroacetilbenzotriazol (2.5 equiv.)<sup>6</sup> en THF (2 mL/mmol de **MDG-84A**) se agitó a t.a. durante 3 h. Transcurrido dicho tiempo, el disolvente se evaporó a vacío y el residuo se sometió a purificación mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano desde 1/15 hasta 1/13) obteniéndose **MDG-267A** en forma de aceite amarillo con un rendimiento del 72%.



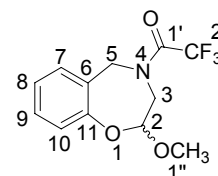
DMSO-*d*<sub>6</sub>, t.a.: Dos estructuras isómeras. **<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 9.77 (s, OH), 9.70 (s, <sup>m</sup>OH), 7.12-7.05 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 6.98 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.2 Hz, 1H o 1<sup>m</sup>H), 6.93 (pd, *J* = 7.0 Hz, 1H o 1<sup>m</sup>H), 6.81-6.71 (m, 2H, 2<sup>m</sup>H), 4.60 y 4.57 (2s, H-7, <sup>m</sup>H-7), 4.54-4.51 (m, H-9, <sup>m</sup>H-9), 3.42 (d, *J*<sub>8-9</sub> = 5.0 Hz, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.32 (d, *J*<sub>8-9</sub> = 5.4 Hz, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.29, 3.26 y 3.24 (3s, CH<sub>3</sub>-10, <sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 155.65 (C-1), 132.14, 130.80, 120.19 y 117.71 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 129.76, 129.24, 121.33 y 116.62 (<sup>m</sup>CH-3, <sup>m</sup>CH-4, <sup>m</sup>CH-5, <sup>m</sup>CH-6), 114.92 (C-cuaternario), 104.43 (CH-9), 102.67 (<sup>m</sup>CH-9), 55.44 (CH<sub>3</sub>-10, <sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10), 48.25 y 47.36 (CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8), 47.08 y 46.44 (<sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-7, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-8).

DMSO-*d*<sub>6</sub>, 80 °C: Una única estructura. **<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 9.47 (sa, OH), 7.14 (pt, *J*<sub>1</sub> = 7.4 Hz), 7.03 (da), 6.87 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.1 Hz, *J*<sub>2</sub> = 0.9 Hz), 6.82 (pt, *J*<sub>1</sub> = 7.2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7.1 Hz), 4.68 (s, H-7), 4.57 (t, *J*<sub>9-8</sub> = 5.2 Hz, H-9), 3.45 (ba, H-8), 3.33 (s, H-10).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>4</sub>F<sub>3</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 330.0929. Encontrado 330.0927 (desviación +0.7 ppm).

5.2.2.3. (RS)-2-Metoxi-4-trifluoroacetyl-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepina (MDG-292A).

A una disolución de **MDG-267A** (1.0 equiv.) en Et<sub>2</sub>O anhidro (4 mL/mmol de **MDG-267A**) preparada bajo argón, se le añadió gota a gota y a t.a., BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (2 equiv). La mezcla resultante se mantuvo alejada de la luz, conservándose la atmósfera de argón, hasta que no se observó producto de partida mediante CCF (5 días). Para el tratamiento de la reacción se añadió Et<sub>2</sub>O y se lavó con agua destilada. La fase orgánica final se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, se concentró y se purificó inmediatamente mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano desde 1/50 hasta 1/25). El producto cíclico **MDG-292A** se aisló en forma de aceite incoloro, con un rendimiento del 49% (R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/2) = 0.59).

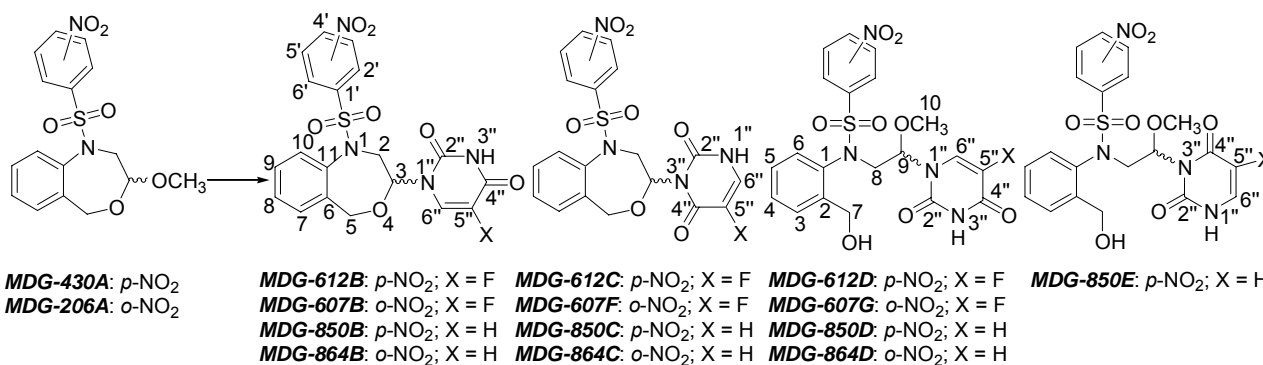


CDCl<sub>3</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (63%), confórmero minoritario (37%). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 7.33-7.09 (m, 4H, <sup>m</sup>H), 4.91 (d, J<sub>gem 5-5</sub> = 14.4 Hz, 1H, H-5), 4.79 (dd, J<sub>2-3</sub> = 2.2 Hz, J<sub>2-3</sub> = 7.1 Hz, 1H, H-2 o <sup>m</sup>H-2), 4.73 (d, 1H, <sup>m</sup>H-5), 4.73 (dd, J<sub>2-3</sub> = 2.3 Hz, J<sub>2-3</sub> = 7.8 Hz, 1H, H-2 o <sup>m</sup>H-2), 4.57 (d, J<sub>gem 5-5</sub> = 15.5 Hz, 1H, <sup>m</sup>H-5), 4.40 (da, J = 13.9 Hz, 1H, <sup>m</sup>H-3), 4.35 (d, J<sub>5-5</sub> = 14.5 Hz, 1H, H-5), 4.04 (da, J = 15.1 Hz, 1H, H-3), 3.61 (s, 3H, H-1''), 3.59 (s, 3H, <sup>m</sup>H-1''), 3.56-3.48 (m, 2H, H-3, <sup>m</sup>H-3). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 156.06 (2c, J<sub>CO-F</sub> = 36.0 Hz, C-1', <sup>m</sup>C-1'), 153.53 y 153.33 (C-11, <sup>m</sup>C-11), 130.25-122.34 (CH-aromáticos), 116.46 (c, J<sub>C-F</sub> = 286.3 Hz, <sup>m</sup>C-2'), 116.31 (c, J<sub>C-F</sub> = 286.0 Hz, C-2'), 102.93 (CH-2), 102.39 (<sup>m</sup>CH-2), 56.63 (<sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-1''), 56.53 (CH<sub>3</sub>-1''), 51.51 y 49.85 (CH<sub>2</sub>-3, CH<sub>2</sub>-5), 51.19 y 50.42 (<sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-3, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-5).

**HRMS LSIMS** m/z: Calculado para C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>3</sub>F<sub>3</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 298.0667. Encontrado 298.0666 (desviación +0.3 ppm).

### 5.3. Síntesis de *O,N*-acetales a partir de *O,O*-acetales de tetrahydrobenzoxazepinas con grupos atrayentes de electrones sobre *N1* o *N4* (Librerías 2 y 3).

#### 5.3.1. Reacción de (*RS*)-3-metoxi-*N*-nitrobencénsulfonil-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepinas con pirimidinas mediada por ácidos de Lewis.



#### 5.3.1.1. Síntesis de *O,N*-acetales a partir de la (*RS*)-3-metoxi-1-(*p*-nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepina (*MDG-430A*) y el 5-fluorouracilo (*MDG-612B*, *MDG-612C*, *MDG-612D*).

Se preparó, bajo argón, una suspensión de **MDG-430A** (1.0 equiv.) y 5-fluorouracilo (5-FU, 2.5 equiv.) en CH<sub>3</sub>CN anhidro (5 mL/mmol de **MDG-430A**) que se enfrió hasta 0 °C. Sobre ella se añadió TCS (4.0 equiv.) en primer lugar y HMDS (4.0 equiv.) a continuación. El ácido de Lewis, SnCl<sub>4</sub> (disolución comercial 1M en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), se añadió gota a gota en último lugar y aún en frío. Se permitió alzarse la temperatura, hasta aproximadamente los 10 °C, antes de calentar a 50 °C para el desarrollo de la reacción. La agitación se mantuvo bajo atmósfera inerte durante 91 h. El progreso de la reacción se controló por CCF observándose siempre la permanencia de cierta cantidad de producto de partida. Se detuvo la reacción diluyéndola con agua destilada tras enfriarla a 0 °C, se ajustó el pH a 7-8 con una disolución de NaHCO<sub>3</sub> (10%) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Cuando las fases orgánicas juntas se hubieron secado (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), tras filtración, el disolvente se eliminó al rotavapor. La purificación se realizó mediante cromatografía flash con elución en gradiente. Pueden utilizarse mezclas

EtOAc/hexano o bien, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Algunas características de los productos finales se muestran en la Tabla 5.1.

**Tabla 5.1.** Productos obtenidos en la reacción de formación de *O,N*-acetales a partir de **MDG-430A** y 5-FU, todos ellos con aspecto de sólidos blancos.

		<b>612B</b>	<b>612C</b>	<b>612D</b>
<b>Elución en cromatografía flash</b>	EtOAc/hexano	1/1	1.5/1	1.5/1
	MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.2/10	0.2/10	0.2/10
<b>R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano)</b>		1/1 0.33	2/1 0.25	2/1 0.20
<b>p.f. ( °C)</b>		174.0-175.0	185.4-186.2	142.0-143.0
<b>Rendimientos</b>		15%	5%	24%

**MDG-612B.** (*RS*)-1-[1-(*p*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-5-fluorouracilo.

**<sup>1</sup>H-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]: δ (ppm) 10.60 (sa, 1H, NH), 8.47 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.9$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.12 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.73 (d,  $J_{6'-F} = 6.8$  Hz, 1H, H-6''), 7.45-7.40 (m, 4H, H-7,8,9,10), 5.82 (ddd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.0$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{3\beta-F} = 1.7$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.70 (d,  $J_{gem\ 5\alpha-5\beta} = 13.9$  Hz, 1H, H-5 $\alpha$ ), 4.64 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.0$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.29 (d,  $J_{gem\ 5\beta-5\alpha} = 13.8$  Hz, 1H, H-5 $\beta$ ), 3.57 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.1$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ). **<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 75 MHz]: δ (ppm) 156.52 (d,  $J_{C-F} = 33.2$  Hz, C-4''), 140.69 (d,  $J_{C-F} = 231.3$  Hz, C-5''), 150.73, 148.54, 146.56, 139.04 y 137.38 (C-6, C-11, C-1', C-4', C-2''), 130.10, 129.63 y 129.06 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 128.80 y 125.04 (CH-2', CH-3', CH-5', CH-6'), 124.37 (d,  $J_{C-F} = 34.8$  Hz, CH-6''), 83.35 (CH-3), 71.01 (CH<sub>2</sub>-5), 53.47 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS *m/z*:** Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>FSNa (M+Na)<sup>+</sup> 485.0543. Encontrado 485.0540 (desviación +0.6 ppm).

**MDG-612C.** (*RS*)-3-[1-(*p*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-5-fluorouracilo.

**<sup>1</sup>H-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO/gotas CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz]: δ (ppm) 9.90 (ba, NH), 8.46 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.9$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.08 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.68 (d,  $J_{6''-F} = 5.2$  Hz, 1H, H-6''), 7.40-7.35 (m, 4H, H-7,8,9,10), 6.12 (ddd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 9.3$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.0$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.62 (d,  $J_{gem\ 5\alpha-5\beta} = 13.7$  Hz, 1H, H-5 $\alpha$ ), 4.54 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 14.9$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.2$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.44 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 14.9$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 9.3$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ), 4.20 (d,  $J_{gem\ 5\beta-5\alpha} = 13.8$  Hz, 1H, H-5 $\beta$ ). **<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO/gotas CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz]: δ (ppm) 158.15 (d,  $J_{C-F} = 25.0$  Hz, C-4''), 140.62 (d,  $J_{C-F} = 226.6$  Hz, C-5''), 151.38, 150.17, 147.63, 140.23 y 138.70 (C-6, C-11, C-1', C-4', C-2''), 130.90, 130.21, 129.53, 129.40 y 125.74 (CH-aromáticos), 125.68 (d,  $J_{C-F} = 32.5$  Hz, CH-6''), 84.67 (CH-3), 72.53 (CH<sub>2</sub>-5), 54.18 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>FSNa (M+Na)<sup>+</sup> 485.0543. Encontrado 485.0545 (desviación -0.5 ppm).

**MDG-612D.** (RS)-1-{2-[N-(2-Hidroximetilfenil)-4-nitrobencénsulfonamido]-1-metoxi\_etil}-5-fluorouracilo.

CDCl<sub>3</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (59%), confórmero minoritario (41%). **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 9.18 (da,  $J_{NH-F} = 4.6$  Hz, 1H, NH), 8.88 (da,  $J_{NH-F} = 4.3$  Hz, 1H, <sup>m</sup>NH), 8.34 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.8$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.33 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.8$  Hz, 2H, <sup>m</sup>H-3', 5'), 7.80 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.8$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.76 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.8$  Hz, 2H, <sup>m</sup>H-2', 6'), 7.72-7.68 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 7.47-7.40 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 7.35 (d,  $J_{6''-F} = 5.5$  Hz, 1H, H-6''), 7.22-7.18 (m, 1H, 2<sup>m</sup>H), 6.49 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1<sup>m</sup>H), 6.44 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 5.70 (ddd,  $J_{9-8} = J_{9-8} = 6.3$  Hz,  $J_{9-F} = 1.5$  Hz, 1H, H-9), 5.55 (ddd,  $J_{9-8} = J_{9-8} = 5.9$  Hz,  $J_{9-F} = 1.6$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-9), 4.82-4.63 (m, 4H, H-7, <sup>m</sup>H-7), 4.15 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.0$  Hz,  $J_{8-9} = 5.8$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 3.98 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.5$  Hz,  $J_{8-9} = 6.4$  Hz, 1H, H-8), 3.60 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.5$  Hz,  $J_{8-9} = 6.2$  Hz, 1H, H-8), 3.51 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 13.9$  Hz,  $J_{8-9} = 5.8$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 3.32 (s, 3H, H-10), 3.29 (s, 3H, <sup>m</sup>H-10), 3.10 (ba, 1H, OH), 2.85 (ba, 1H, <sup>m</sup>OH). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 156.77 (d,  $J_{C-F} = 26.4$  Hz, C-4''), 156.58 (d,  $J_{C-F} = 26.5$  Hz, <sup>m</sup>C-4''), 150.54, 150.31 y 149.72 (C-2'', <sup>m</sup>C-2'', C-4', <sup>m</sup>C-4'), 142.48, 142.43, 142.35, 142.30, 136.41 y 135.40 (C-1, <sup>m</sup>C-1, C-1', <sup>m</sup>C-1', C-2, <sup>m</sup>C-2), 141.46 (d,  $J_{C-F} = 239.0$  Hz, C-5''), 141.28 (d,  $J_{C-F} = 238.4$  Hz, <sup>m</sup>C-5''), 131.52, 131.31, 129.96, 129.62, 129.38, 128.77, 128.68, 126.79, 126.64, 124.42 y 124.33, (CH-aromáticos), 122.45 (d,  $J_{C-F} = 33.7$  Hz, CH-6'' o <sup>m</sup>CH-6''), 122.12 (d,  $J_{C-F} = 33.9$  Hz, CH-6'' o <sup>m</sup>CH-6''), 84.82 y 84.75 (CH-9,

<sup>m</sup>CH-9), 60.59 y 60.52 (CH<sub>2</sub>-7, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-7), 57.17 y 57.04 (CH<sub>3</sub>-10, <sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10), 54.11 y 53.44 (CH<sub>2</sub>-8, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-8).

DMSO-*d*<sub>6</sub>, t.a.: Uno de los confórmers es ligeramente mayoritario. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 11.80 (sa, NH), 8.38 (d, *J*<sub>3'-2'</sub> = *J*<sub>5'-6'</sub> = 8.9 Hz, H-3', 5' o H-3', 5'), 8.37 (d, *J*<sub>3'-2'</sub> = *J*<sub>5'-6'</sub> = 8.9 Hz, H-3', 5' o <sup>m</sup>H-3', 5'), 7.90-7.82 (m), 7.58-7.56 (m), 7.40-7.35 (m), 7.19-7.13 (m), 6.72 (d, *J* = 7.9 Hz), 6.60 (d, *J* = 7.65 Hz), 5.52 (pt, *J*<sub>1</sub> = 5.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 6.3 Hz, H-9 o <sup>m</sup>H-9), 5.31 (t, *J* = 5.3 Hz, H-9 o <sup>m</sup>H-9), 5.14 (t, *J*<sub>OH-7</sub> = 5.4 Hz, OH o <sup>m</sup>OH), 4.56-4.38 (m, H-7, <sup>m</sup>H-7), 4.01 (dd, *J*<sub>gem 8-8</sub> = 14.4 Hz, *J*<sub>8-9</sub> = 7.0 Hz, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.87 (d, *J* = 6.1 Hz, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.74 (dd, *J*<sub>gem 8-8</sub> = 14.3 Hz, *J*<sub>8-9</sub> = 4.9 Hz, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.14 (s, H-10 o <sup>m</sup>H-10), 3.08 (s, H-10 o <sup>m</sup>H-10).

DMSO-*d*<sub>6</sub>, 110 °C: <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 11.40 (ba, NH), 8.34 (d, *J* = 8.8 Hz), 7.88 (d, *J* = 8.2 Hz), 7.66 (d, *J* = 6.3 Hz), 7.58 (d, *J* = 7.7 Hz), 7.36 (t, *J* = 7.5 Hz), 7.17 (t, *J* = 7.6 Hz), 6.78 (ba), 5.47 (ba, 1H, H-9), 4.68 (sa, 1H, OH), 4.46 (sa, 2H, H-7), 3.97 (dd, *J*<sub>gem 8-8</sub> = 14.8 Hz, *J*<sub>8-9</sub> = 6.7 Hz, H-8), 3.86 (ddd, *J*<sub>gem 8-8</sub> = 14.8 Hz, *J*<sub>8-9</sub> = 5.2 Hz, H-8), 3.15 (s, H-10).

**HRMS LSIMS *m/z*:** Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>FSNa (M+Na)<sup>+</sup> 517.0805. Encontrado 517.0805 (desviación +0.1 ppm).

### 5.3.1.2. Síntesis de *O,N*-acetales a partir de la (*RS*)-3-metoxi-1-(*o*-nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (*MDG-206A*) y el 5-FU (*MDG-607B*, *MDG-607F*, *MDG-607G*).

Se siguió el procedimiento descrito en el apartado 5.3.1.1 para la preparación de los *O,N*-acetales de *MDG-430A* aplicado al sustrato de partida *MDG-206A*. La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 51 h. La neutralización de la disolución y la extracción de la fase acuosa se llevaron a cabo de la forma descrita en el apartado 5.3.1.1. La purificación de los productos finales se realizó mediante cromatografía flash con elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano o bien MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Algunas características de los productos finales se exponen en la Tabla 5.2.

**Tabla 5.2.** Productos obtenidos en la reacción de formación de *O,N*-acetales a partir de **MDG-206A** y 5-FU, todos ellos con aspecto de sólidos blancos.

		<b>607B</b>	<b>607F</b>	<b>607G</b>
<b>Elución en cromatografía flash</b>	EtOAc/hexano	2/1	1/0	1/0
	MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0/1	0.1/6	0.1/6
<b>R<sub>f</sub></b>	EtOAc/hexano	2/1 0.33	ND	ND
	MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.25/10 0.38	0.5/10 0.46	0.5/10 0.36
<b>p.f. ( °C)</b>		178.1-179.1	171.6-172.6	179.0-180.0
<b>Rendimiento</b>		19%	4%	30%

ND: No determinados.

**MDG-607B.** (*RS*)-1-[1-(*o*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-5-fluorouracilo.

**<sup>1</sup>H-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]: δ (ppm) 10.60 (sa, 1H, NH), 8.12-7.96 (m, 3H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.90 (ddd, *J*<sub>1</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>2</sub> = 6.4 Hz, *J*<sub>3</sub> = 2.4 Hz, 1H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.80 (d, *J*<sub>6''-F</sub> = 6.8 Hz, 1H, H-6''), 7.51 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7.4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.8 Hz, 1H), 7.40 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.4 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.4 Hz, 1H), 7.33 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.8 Hz, 1H), 7.09 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.4 Hz, 1H), 5.94 (ddd, *J*<sub>3β-2α</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>3β-2β</sub> = 1.8 Hz, *J*<sub>3β-F</sub> = 1.8 Hz, 1H, H-3β), 4.84 (s, 2H, H-5), 4.53 (dd, *J*<sub>gem 2β-2α</sub> = 14.9 Hz, *J*<sub>2β-3β</sub> = 2.1 Hz, 1H, H-2β), 3.64 (dd, *J*<sub>gem 2β-2α</sub> = 14.9 Hz, *J*<sub>2α-3β</sub> = 10.1 Hz, 1H, H-2α). **<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100 MHz]: δ (ppm) 156.72 (d, *J*<sub>C-F</sub> = 26.5 Hz, C-4''), 148.64 y 147.93 (C-2' y C-2''), 140.76 (d, *J*<sub>C-F</sub> = 231.4 Hz, C-5''), 139.17, 138.26, y 133.21 (C-6, C-11 y C-1'), 135.29, 132.82, 131.50, 130.18, 129.51, 128.94, 128.49 y 125.03 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10, CH-3', CH-4', CH-5', CH-6'), 124.70 (d, *J*<sub>C-F</sub> = 34.7 Hz, CH-6''), 84.20 (CH-3), 71.06 (CH<sub>2</sub>-5), 53.80 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>FSNa (M+Na)<sup>+</sup> 485.0543. Encontrado 485.0539 (desviación +0.9 ppm).

**MDG-607F.** (*RS*)-3-[1-(*o*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-5-fluorouracilo.



**<sup>1</sup>H-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]: δ (ppm) 9.80 (ba, 1H, NH), 8.06-7.97 (m, 3H), 7.90 (ddd,  $J_1 = 7.9$  Hz,  $J_2 = 6.3$  Hz,  $J_3 = 2.6$  Hz, 1H), 7.69 (pt,  $J_1 = 6.1$  Hz,  $J_2 = 5.4$  Hz, 1H, H-6''), 7.47 (dd,  $J_1 = 7.4$  Hz,  $J_2 = 1.8$  Hz, 1H), 7.37 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.4$  Hz,  $J_3 = 1.4$  Hz, 1H), 7.30 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 1.8$  Hz, 1H), 7.05 (dd,  $J_1 = 7.7$  Hz,  $J_2 = 1.3$  Hz, 1H), 6.20 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 9.4$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.1$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.78 (s, 2H, H-5), 4.55 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 9.3$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ), 4.44 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.1$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.2$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ). **<sup>13</sup>C-RMN** [CDCl<sub>3</sub>/gotas (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100 MHz]: δ (ppm) 156.96 (d,  $J_{C-F} = 24.8$  Hz, C-4''), 150.51 y 147.91 (C-2' y C-2''), 139.80 (d,  $J_{C-F} = 331.6$  Hz, C-5''), 139.12, 134.15 y 128.63 (C-6, C-11 y C-1'), 134.41, 132.21, 131.75, 130.50, 129.45, 129.05 y 124.73 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10, CH-3', CH-4', CH-5', CH-6'), 123.46 (d,  $J_{C-F} = 31.8$  Hz, CH-6''), 72.81 (CH<sub>2</sub>-5), 53.77 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>FSNa (M+Na)<sup>+</sup> 485.0543. Encontrado 485.0542 (desviación +0.3 ppm).

**MDG-607G.** (RS)-1-{2-[N-(2-Hidroximetilfenil)-2-nitrobencénsulfonamido]-1-metoxi\_etil}-5-fluorouracilo.

CDCl<sub>3</sub>/gotas de (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, t.a.: Confórmero mayoritario (53%), confórmero minoritario (47%). **<sup>1</sup>H-RMN** [CDCl<sub>3</sub>/gotas (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]: δ (ppm) 9.75 (sa, 1H, NH), 9.58 (sa, 1H, <sup>m</sup>NH), 7.67-7.53 (m, 3H, 3<sup>m</sup>H), 7.44-7.10 (m, 4H, 4<sup>m</sup>H), 7.31 (d,  $J_{6''-F} = 6.0$  Hz, 1H, H-6'' o <sup>m</sup>H-6''), 7.28 (d,  $J_{6''-F} = 5.8$  Hz, 1H, H-6'' o <sup>m</sup>H-6''), 6.93-6.89 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 5.55 (ddd,  $J_{9-8} = J_{9-8} = 5.7$  Hz,  $J_{9-F} =$  no det., 1H, H-9 o <sup>m</sup>H-9), 5.49 (ddd,  $J_{9-8} = J_{9-8} = 6.1$  Hz,  $J_{9-F} = 1.8$  Hz, 1H, H-9 o <sup>m</sup>H-9), 4.57 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 13.0$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.49 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 13.0$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.47 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 13.0$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.30 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 13.0$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.13 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.6$  Hz,  $J_{8-9} = 6.3$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 4.11 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 15.2$  Hz,  $J_{8-9} = 6.8$  Hz, 1H, H-8), 3.92 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 15.1$  Hz,  $J_{8-9} = 5.9$  Hz, 1H, H-8), 3.79 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.7$  Hz,  $J_{8-9} = 5.9$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 3.24 (s, 3H, <sup>m</sup>H-10), 3.20 (s, 3H, H-10).

(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, t.a.: Confórmero mayoritario (51%), confórmero minoritario (49%). **<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 75 MHz]: δ (ppm) 156.62 (d,  $J_{C-F} = 26.9$  Hz, C-4''), 150.02, 149.96 y 148.21 (C-2'', <sup>m</sup>C-2'', C-2', <sup>m</sup>C-2'), 142.82, 142.15, 135.64, 131.06 y 130.50 (C-1, <sup>m</sup>C-1, C-1', <sup>m</sup>C-1', C-2, <sup>m</sup>C-2), 141.18 (d,  $J_{C-F} = 225.0$  Hz, C-5'' o <sup>m</sup>C-5''), 141.04 (d,  $J_{C-F} =$

225.0 Hz, C-5'' o <sup>m</sup>C-5''), 135.03, 134.96, 131.82, 131.76, 131.63, 131.42, 130.21, 130.08, 129.79, 129.57, 129.40, 129.35, 127.99, 127.93, 124.25 y 124.20 (CH-aromáticos), 123.30 (d,  $J_{C-F} = 33.9$  Hz, CH-6'' o <sup>m</sup>CH-6''), 122.99 (d,  $J_{C-F} = 34.0$  Hz, CH-6'' o <sup>m</sup>CH-6''), 84.71 y 84.14 (CH-9, <sup>m</sup>CH-9), 59.51 (CH<sub>2</sub>-7, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-7), 55.95 y 55.90 (CH<sub>3</sub>-10, <sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10), 54.04 y 53.33 (CH<sub>2</sub>-8, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-8).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>FSNa (M+Na)<sup>+</sup> 517.0805. Encontrado 517.0811 (desviación -1.1 ppm).

**5.3.1.3. Síntesis de O,N-acetales a partir de la (RS)-3-metoxi-1-(p-nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-430A) y el uracilo (MDG-850B, MDG-850C, MDG-850D, MDG-850E).**

Se aplicó el método descrito en el apartado 5.3.1.1. Se utilizaron las mismas proporciones de reactivos, cambiando la base nitrogenada a uracilo. La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 69 h en atmósfera de argón. El residuo resultante de la neutralización de la disolución y la extracción de la fase acuosa, se purificó mediante cromatografía flash con elución en gradiente. Pudieron utilizarse mezclas EtOAc/hexano o bien, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Los productos finales se describen en la Tabla 5.3.

**Tabla 5.3.** Productos obtenidos en la reacción de formación de O,N-acetales a partir de **MDG-430A** y uracilo, todos ellos con aspecto de sólidos blancos.

		<b>850B</b>	<b>850C</b>	<b>850D</b>	<b>850E</b>
<b>Elución en cromatografía flash</b>	EtOAc/hexano	1.5/1	1.5/1	2/1	1/0
	MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.1/10	0.3/10	0.3/10	0.4/10
<b>R<sub>f</sub> MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>		0.3/10 0.30	0.4/10 0.53	0.4/10 0.43	0.5/10 0.13
<b>p.f. ( °C)</b>		255.0-257.0	276.9*	110.0-111.0	ND**
<b>Rendimiento</b>		11%	49%	11%	2%

\* Funde con descomposición. \*\* El punto de fusión de **MDG-850E** no se determinó por no disponerse de este producto en cantidad suficiente.

**MDG-850B.** (RS)-1-[1-(*p*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]uracilo.

**<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 11.45 (sa, 1H, NH), 8.43 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.8$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.12 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.8$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.53 (d,  $J_{6''-5''} = 8.1$  Hz, 1H, H-6''), 7.48-7.45 (m, 1H), 7.41-7.34 (m, 2H), 7.19-7.16 (m, 1H), 5.74 (da,  $J = 8.5$  Hz, 1H, H-3β), 5.51 (d,  $J_{5''-6''} = 8.1$  Hz, 1H, H-5''), 4.75 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 13.8$  Hz, 1H, H-5), 4.42 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.1$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} =$  no det., 1H, H-2β), 4.35 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 13.7$  Hz, 1H, H-5), 3.60 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 14.9$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.1$  Hz, 1H, H-2α). **<sup>13</sup>C-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 163.39 (C-4''), 150.74 y 150.45 (C-4', C-2''), 146.24, 139.42 y 137.66 (C-6, C-11, C-1'), 141.40 (CH-6''), 130.70, 130.11, 129.07 y 128.29 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 129.15 y 125.69 (CH-2', CH-3', CH-5', CH-6'), 102.49 (CH-5''), 83.78 (CH-3), 70.81 (CH<sub>2</sub>-5), 53.55 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS *m/z*:** Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 467.0637. Encontrado 467.0645 (desviación -1.7 ppm).

**MDG-850C.** (RS)-3-[1-(*p*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]uracilo.

**<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 11.20 (sa, 1H, NH), 8.41 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.9$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.09 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.44-7.33 (m, 4H), 7.15-7.12 (m, 1H), 6.03 (dd,  $J_1 = 7.8$  Hz,  $J_2 =$  no det., 1H, H-3β), 5.56 (d,  $J_{5''-6''} = 7.6$  Hz, 1H, H-5''), 4.69 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 13.7$  Hz, 1H, H-5), 4.41 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 1.8$  Hz, 1H, H-2β), 4.26 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 9.4$  Hz, 1H, H-2α), 4.25 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 13.3$  Hz, 1H, H-5). **<sup>13</sup>C-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 163.21 (C-4''), 151.35 y 150.64 (C-4', C-2''), 146.54, 139.80 y 138.06 (C-6, C-11, C-1'), 142.32 (CH-6''), 130.72, 129.97, 128.95 y 128.15 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 129.10 y 125.61 (CH-2', CH-3', CH-5', CH-6'), 100.46 (CH-5''), 83.63 (CH-3), 71.53 (CH<sub>2</sub>-5), 53.76 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS *m/z*:** Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 467.0637. Encontrado 467.0633 (desviación +0.9 ppm).

**MDG-850D.** (RS)-1-{2-[N-(2-Hidroximetilfenil)-4-nitrobencénsulfonamido]-1-metoxi\_etil}uracilo.

CDCl<sub>3</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (59%), confórmero minoritario (41%). **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 9.50 (sa, 1H, NH), 9.30 (sa, 1H, <sup>m</sup>NH), 8.34 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.8$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.32 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.7$  Hz, 2H, <sup>m</sup>H-3', 5'), 7.81 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.8$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.75 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.8$  Hz, 2H, <sup>m</sup>H-2', 6'), 7.71-7.67 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 7.45-7.39 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 7.32 (d,  $J_{6''-5''} = 8.1$  Hz, 1H, H-6''), 7.25-7.16 (m, 1H, 2<sup>m</sup>H), 7.23 (d,  $J_{6''-5''} = 8.0$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-6''), 6.52 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1<sup>m</sup>H), 6.45 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 5.84 (d,  $J_{5''-6''} = 8.1$  Hz, 1H, H-5''), 5.74-5.68 (m, 2H, <sup>m</sup>H-5'', H-9), 5.51 (t,  $J_{9-8} = 5.9$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-9), 4.82 (d,  $J_{gem\ 7-7} = 12.8$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-7), 4.73-4.61 (m, 3H, H-7, <sup>m</sup>H-7), 4.11 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.0$  Hz,  $J_{8-9} = 6.2$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 3.99 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.5$  Hz,  $J_{8-9} = 6.2$  Hz, 1H, H-8), 3.62 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.5$  Hz,  $J_{8-9} = 6.6$  Hz, 1H, H-8), 3.58 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 13.9$  Hz,  $J_{8-9} = 5.6$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 3.29 (s, 3H, H-10), 3.25 (s, 3H, <sup>m</sup>H-10).

**<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 75 MHz]: δ (ppm) 162.47 (C-4''), 151.33, 151.06 y 150.64 (C-2'', <sup>m</sup>C-2'', C-4', <sup>m</sup>C-4'), 143.85, 143.57, 143.38 y 143.08 (C-1, <sup>m</sup>C-1, C-1', <sup>m</sup>C-1'), 139.06 (CH-6''), 138.89 (<sup>m</sup>CH-6''), 136.65 y 135.75 (C-2, <sup>m</sup>C-2), 129.70, 129.43, 129.30, 129.12, 128.20, 127.86, 127.79, 124.47 y 124.32 (CH-aromáticos), 102.90 (<sup>m</sup>CH-5''), 102.82 (CH-5''), 84.32 (CH-9), 83.75 (<sup>m</sup>CH-9), 59.87 (CH<sub>2</sub>-7, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-7), 55.85 (<sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10), 55.78 (CH<sub>3</sub>-10), 53.92 (CH<sub>2</sub>-8), 53.75 (<sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-8).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 499.0900. Encontrado 499.0896 (desviación +0.8 ppm).

**MDG-850E.** (RS)-3-{2-[N-(2-Hidroximetilfenil)-4-nitrobencénsulfonamido]-1-metoxi\_etil}uracilo.

(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO/gotas CD<sub>3</sub>OD, t.a.: Confórmero mayoritario (56%), confórmero minoritario (44%). **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>/gotas CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz): δ (ppm) 8.43 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.8$  Hz, 4H, H-3', 5', <sup>m</sup>H-3', 5'), 7.93 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.89 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.8$  Hz, 2H, <sup>m</sup>H-2', 6'), 7.69-7.65 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 7.44-7.30 (m, 2H, 2<sup>m</sup>H), 7.19 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H o 1<sup>m</sup>H), 7.15 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H o 1<sup>m</sup>H), 6.74 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 6.02 (ta, 1H), 5.92 (ta, 1<sup>m</sup>H), 5.56 (da,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 5.43 (da,  $J =$

7.6 Hz, 1<sup>m</sup>H), 4.79-4.63 (m, 4H, H-7, <sup>m</sup>H-7), 4.52 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.3$  Hz,  $J_{8-9} = 6.3$  Hz, 1H, H-8), 4.41 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.9$  Hz,  $J_{8-9} = 6.5$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 4.33 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.8$  Hz,  $J_{8-9} = 5.2$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 4.23 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.2$  Hz,  $J_{8-9} = 5.4$  Hz, 1H, H-8), 3.17 (s, 3H, <sup>m</sup>H-10), 3.12 (s, 3H, H-10).

**HRMS LSIMS  $m/z$ :** Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 499.0900. Encontrado 499.0895 (desviación +1.0 ppm).

**5.3.1.4. Síntesis de *O,N*-acetales a partir de la (*RS*)-3-metoxi-1-(*o*-nitrobenzénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (*MDG-206A*) y el uracilo (*MDG-864B*, *MDG-864C*, *MDG-864D*).**

La reacción se realizó a partir de ***MDG-206A*** (1.0 equiv.), aplicando las condiciones y método descritos en el apartado 5.3.1.1 y utilizando la base nitrogenada uracilo. La agitación de la mezcla de reacción a 50 °C, se mantuvo durante 67 h. La neutralización de la disolución y la extracción de la fase acuosa se llevaron a cabo de la forma descrita en el apartado 5.3.1.1. La purificación de los productos de reacción se realizó mediante cromatografía flash (elución con EtOAc o en gradiente con mezclas MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Algunas características de los productos obtenidos se exponen en la Tabla 5.4.

**Tabla 5.4.** Productos obtenidos en la reacción de formación de *O,N*-acetales a partir de ***MDG-206A*** y uracilo, todos ellos con aspecto de sólidos amarillos pálidos.

		<b>864B</b>	<b>864C</b>	<b>864D</b>
<b>Elución en cromatografía flash</b>	EtOAc/hexano	1/0	1/0	ND
	MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ND	0.2/10	0.3/10
<b>R<sub>f</sub> MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>		0.3/10 0.25	0.4/10 0.47	0.4/10 0.40
<b>p.f. ( °C)</b>		179.0-180.0	158.0-159.0	97.0-98.0
<b>Rendimiento</b>		27%	33%	11%

**MDG-864B.** (RS)-1-[1-(*o*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]uracilo.

**<sup>1</sup>H-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]: δ (ppm) 10.20 (sa, 1H, NH), 8.13 (dd,  $J_1 = 7.8$  Hz,  $J_2 = 1.2$  Hz, 1H, H-PhSO<sub>2</sub>), 8.03-7.89 (m, 3H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.54 (d,  $J_{6''-5''} = 8.1$  Hz, 1H, H-6''), 7.50 (dd,  $J_1 = 7.3$  Hz,  $J_2 = 1.8$  Hz, 1H), 7.40 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.4$  Hz,  $J_3 = 1.4$  Hz, 1H), 7.33 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 1.8$  Hz, 1H), 7.11 (dd,  $J_1 = 7.8$  Hz,  $J_2 = 1.4$  Hz, 1H), 5.93 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.1$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.1$  Hz, 1H, H-3β), 5.59 (dd,  $J_{5''-6''} = 7.9$  Hz,  $J_{5''-NH} = 1.3$  Hz, 1H, H-5''), 4.82 (s, 2H, H-5), 4.54 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.1$  Hz, 1H, H-2β), 3.61 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.1$  Hz, 1H, H-2α). **<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 75 MHz]: δ (ppm) 162.59 (C-4''), 149.99 y 147.96 (C-2', C-2''), 140.25 (CH-6''), 139.22 y 138.23 (C-11, C-1'), 133.27 (C-6), 135.22, 132.78 y 131.46 (CH-PhSO<sub>2</sub>), 130.09, 129.44, 128.88 y 128.55 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 124.94 (CH-PhSO<sub>2</sub>), 102.24 (CH-5''), 84.07 (CH-3), 71.10 (CH<sub>2</sub>-5), 54.05 (CH<sub>2</sub>-2) (Desplazamientos de protones y carbonos confirmados por HMQC en (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>SNa (M+Na)<sup>+</sup> 467.0637. Encontrado 467.0630 (desviación +1.5 ppm).

**MDG-864C.** (RS)-3-[1-(*o*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]uracilo.

**<sup>1</sup>H-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]: δ (ppm) 9.90 (ba, 1H, NH), 8.06-7.94 (m, 3H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.88 (ddd,  $J_1 = 7.8$  Hz,  $J_2 = 6.1$  Hz,  $J_3 = 2.8$  Hz, 1H, H-PhSO<sub>2</sub>), 7.45 (dd,  $J_1 = 7.3$  Hz,  $J_2 = 1.8$  Hz, 1H), 7.43 (dd,  $J_{6''-5''} = 7.7$  Hz,  $J_{6''-NH} = 6.0$ , 1H, H-6''), 7.35 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.4$  Hz,  $J_3 = 1.5$  Hz, 1H), 7.29 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 1.9$  Hz, 1H), 7.05 (dd,  $J_1 = 7.7$  Hz,  $J_2 = 1.4$  Hz, 1H), 6.24 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.9$  Hz, 1H, H-3β), 5.58 (dd,  $J_{5''-6''} = 7.7$  Hz,  $J_{5''-NH} = 1.6$  Hz, 1H, H-5''), 4.77 (s, 2H, H-5), 4.57 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 9.6$  Hz, 1H, H-2α), 4.41 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 1.8$  Hz, 1H, H-2β). **<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 75 MHz]: δ (ppm) 162.75 (C-4''), 150.96 y 148.04 (C-2', C-2''), 140.80 (CH-6''), 139.75 y 138.84 (C-11, C-1'), 133.67 (C-6), 134.98, 132.66, 131.18, 130.17, 129.17, 128.65, 128.27 y 124.88 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10, CH-3', CH-4', CH-5', CH-6'), 100.53 (CH-5''), 84.45 (CH-3), 71.84 (CH<sub>2</sub>-5), 54.29 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $C_{19}H_{16}N_4O_7SNa$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup> 467.0637. Encontrado 467.0640 (desviación -0.6 ppm).

**MDG-864D.** (RS)-1-{2-[N-(2-Hidroximetilfenil)-2-nitrobencénsulfonamido]-1-metoxi\_etil}uracilo.

( $CD_3$ )<sub>2</sub>CO, t.a.: Confórmero mayoritario (52%), confórmero minoritario (48%). **<sup>1</sup>H-RMN** [( $CD_3$ )<sub>2</sub>CO, 300 MHz]:  $\delta$  (ppm) 10.10 y 10.05 (2sa, 2H, NH, <sup>m</sup>NH), 7.94-7.14 (m, 8H, 8<sup>m</sup>H), 7.50 (d,  $J_{6''-5''} = 8.2$  Hz, 1H, H-6'' o <sup>m</sup>H-6''), 7.41 (d,  $J_{6''-5''} = 8.0$  Hz, 1H, H-6'' o <sup>m</sup>H-6''), 5.69 (t,  $J_{9-8} = 6.3$  Hz, 1H, H-9 o <sup>m</sup>H-9), 5.65 (dd,  $J_{5''-6''} = 8.0$  Hz,  $J_{5''-NH} = 1.8$  Hz, 1H, H-5'' o <sup>m</sup>H-5''), 5.60 (t,  $J_{9-8} = 6.2$  Hz, 1H, H-9 o <sup>m</sup>H-9), 5.56 (dd,  $J_{5''-6''} = 8.2$  Hz,  $J_{5''-NH} = 1.8$  Hz, 1H, H-5'' o <sup>m</sup>H-5''), 4.69 (dd,  $J_{gem\ 7-7} = 13.6$  Hz,  $J_{7-OH} = 4.2$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.55 (dd,  $J_{gem\ 7-7} = 13.4$  Hz,  $J_{7-OH} = 4.3$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.39 (dd,  $J_{gem\ 7-7} = 13.7$  Hz,  $J_{7-OH} = 4.1$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.29 (dd,  $J_{gem\ 7-7} = 13.5$  Hz,  $J_{7-OH} = 4.0$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.24-3.99 (m, 6H, H-8, <sup>m</sup>H-8, OH, <sup>m</sup>OH), 3.29 (s, 3H, <sup>m</sup>H-10), 3.26 (s, 3H, H-10). **<sup>13</sup>C-RMN** [( $CD_3$ )<sub>2</sub>CO, 75 MHz]:  $\delta$  (ppm) 162.47 (C-4'', <sup>m</sup>C-4''), 151.40, 151.25 y 148.25 (C-2'', <sup>m</sup>C-2'', C-2', <sup>m</sup>C-2'), 142.93, 142.30, 135.54, 131.10 y 130.58 (C-1, <sup>m</sup>C-1, C-1', <sup>m</sup>C-1', C-2, <sup>m</sup>C-2), 139.08 y 138.88 (CH-6'', <sup>m</sup>CH-6''), 134.96, 134.91, 131.77, 131.73, 131.65, 131.44, 130.08, 129.75, 129.54, 129.38, 129.33, 127.97, 124.22 y 124.18 (CH-aromáticos), 102.92 (CH-5'', <sup>m</sup>CH-5''), 84.13 y 83.61 (CH-9, <sup>m</sup>CH-9), 59.52 (CH<sub>2</sub>-7, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-7), 55.83 y 55.77 (CH<sub>3</sub>-10, <sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10), 54.31 y 53.51 (CH<sub>2</sub>-8, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-8).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $C_{20}H_{20}N_4O_8SNa$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup> 499.0900. Encontrado 499.0890 (desviación +1.8 ppm).

**5.3.2. Reacción de (RS)-N-acil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con pirimidinas mediada por ácidos de Lewis.**

**5.3.2.1. Reacción de la (RS)-1-butanoil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-530B) con el 5-FU.**

Sobre una suspensión de los sustratos **MDG-530B** (1.0 equiv.) y 5-FU (1.2 equiv.) en  $CH_2Cl_2$  anhidro (4 mL/mmol de **MDG-530B**), preparada bajo argón, se añadió, gota a gota y a t.a., HMDS (3.0 equiv.) seguido de TCS (3.0 equiv.). A continuación, se enfrió

la mezcla a 0 °C antes de la adición lenta de SnCl<sub>4</sub> (1M en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 3.0 equiv.). Transcurridos unos 10 min se retiró el baño y se mantuvo la reacción a t.a. durante 23 h, tras las cuales, se diluyó (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) y se lavó la fase orgánica con una disolución de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10%). La fase acuosa se extrajo (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) y tras juntar las fases orgánicas, la mezcla final se lavó con agua destilada y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Tras filtración y una vez eliminado el disolvente al rotavapor, se procedió a la purificación de los productos finales mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> desde 0/1 hasta 0.2/10). De este modo se aisló un producto final cuya identificación no fue posible.

**5.3.2.2. Síntesis de O,N-acetales a partir de la (RS)-3-metoxi-1-trifluoroacetyl-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-540A) y el 5-FU (MDG-568D).**

Método A:

El procedimiento descrito en el apartado 5.3.2.1, se aplicó a **MDG-540A** para la preparación de los compuestos **MDG-568**. La reacción se mantuvo en agitación a t.a. durante 54 h y la purificación de los productos finales se llevó a cabo mediante cromatografía flash. Algunas características de los mismos se describen en la Tabla 5.5.

**Tabla 5.5.** Productos obtenidos en la reacción de formación de O,N-acetales a partir de **MDG-540A** y **5-FU**, todos ellos con aspecto de sólidos blancos.

		<b>568B</b> (inestable)	<b>568D</b>
<b>Elución en cromatografía flash</b>	EtOAc/hexano	1/2	1/1.5
	MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.15/10	0.15/10
<b>R<sub>f</sub></b>	EtOAc/hexano	1/1 0.56	1/1 0.29
	MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ND	ND
<b>p.f. ( °C)</b>		ND*	ND*
<b>Rendimiento</b>		ND	16%

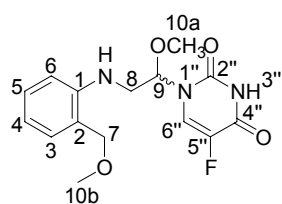
\* Datos no determinados por no disponerse de los compuestos en cantidad suficiente.



**MDG-568B.**

CDCl<sub>3</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (65%), confórmero minoritario (35%). **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 9.05 (ba, 1H, NH), 8.80 (ba, 1H, <sup>m</sup>NH), 7.60 (d, 1H), 7.50-7.25 (m, 4H, 4<sup>m</sup>H), 7.05 (d, 1<sup>m</sup>H), 5.85-5.75 (m, 2H, H-9, <sup>m</sup>H-9), 4.65-4.45 (m, 6H, 2H-7, 2<sup>m</sup>H-7, 1H-8, 1<sup>m</sup>H-8), 3.50-3.35 (m, 2H, H-8, <sup>m</sup>H-8), 3.35 (s, 3H, <sup>m</sup>H-10), 3.30 (s, 3H, H-10).

**MDG-568D.** (RS)-1-{1-Metoxi-2-[2-(metoximetil)fenilamino]etil}-5-fluorouracilo.



**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.40 (ba, 1H, NH-3''), 7.46 (d,  $J_{6''-F} = 5.9$  Hz, 1H, H-6''), 7.21 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.8$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H), 7.05 (da,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 6.73-6.67 (m, 2H), 5.74 (ddd,  $J_{9-8} = 5.0$  Hz,  $J_{9-F} = 1.7$  Hz, 1H, H-9), 5.10 (ba, 1H, NH), 4.44 (s, 2H, H-7), 3.48 (dd,  $J_{8-9} = 4.9$  Hz,  $J_{8-NH} = 2.1$  Hz, 2H, H-8), 3.42 y 3.30 (2s, 6H, H-10a, H-10b). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 156.52 (d,  $J_{C-F} = 27.3$  Hz, C-4''), 149.30 y 146.56 (C-2'', C-1), 140.79 (d,  $J_{C-F} = 237.6$  Hz, C-5''), 130.37, 129.83, 117.62 y 110.46 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 123.43 (d,  $J_{C-F} = 33.3$  Hz, CH-6''), 122.12 (C-2), 86.02 (CH-9), 74.06 (CH<sub>2</sub>-7), 57.57 y 57.33 (CH<sub>3</sub>-10a, CH<sub>3</sub>-10b), 46.46 (CH<sub>2</sub>-8). **<sup>19</sup>F-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 282 MHz): δ (ppm) -164.47 (pt,  $J_1 = 4.8$  Hz,  $J_2 = 4.5$  Hz). **<sup>19</sup>F-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 282 MHz, desacoplamiento de protones): δ (ppm) -164.47 (s).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>FNa (M+Na)<sup>+</sup> 346.1179. Encontrado 346.1184 (desviación -1.5 ppm).

Método B:

El procedimiento fue análogo al método A, pero se aplicó calor (40 °C) durante 24 h. Transcurrido dicho tiempo se pudo apreciar la aparición de un elevado número de compuestos entre los que no se pudieron identificar los productos finales deseados.

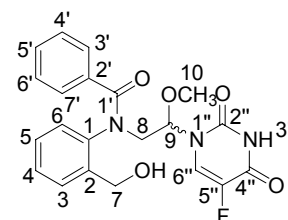
**5.3.2.3. Síntesis de O,N-acetales a partir de la (RS)-1-benzoil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-616A) y el 5-FU (MDG-680G).**

Método A:

Bajo argón, se preparó una suspensión del producto de partida **MDG-616A** (1.0 equiv.) y 5-FU (1.2 equiv.) en CH<sub>3</sub>CN anhidro (5 mL/mmol de **MDG-616A**). A continuación se procedió al enfriamiento de la mezcla hasta 0 °C, para la adición de TCS (1.2 equiv.) y HMDS (1.2 equiv.) en este orden. El SnCl<sub>4</sub> (1M en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1.4 equiv.) se inyectó en último lugar, a la misma temperatura. Una vez añadidos todos los reactivos, se le permitió a la mezcla alcanzar la t.a. lentamente y se mantuvo la agitación durante 48 h, tras las cuales se llevó a cabo la neutralización de la disolución. Para ello, se diluyó la mezcla de reacción con agua destilada y, tras enfriarla a 0 °C, se adicionó NaHCO<sub>3</sub> sólido. Se extrajo la fase acuosa con EtOAc y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se mezclaron las fases orgánicas, se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se evaporaron los disolventes al rotavapor. El residuo así obtenido se sometió a cromatografía flash para su purificación (elución en gradiente con mezclas MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> desde 0/1 hasta 0.4/10). El compuesto final **MDG-680G** se obtuvo como un sólido amarillo, con un rendimiento del 5 % [p.f. = 137.0-138.0 °C, R<sub>f</sub> (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) = 0.25].

**MDG-680G.** (RS)-1-{2-[N-(2-hidroximetilfenil)benzamido]-1-metoxietil}-5-fluoro\_ uracilo.

CDCl<sub>3</sub>/gotas CD<sub>3</sub>OD, t.a.: Confórmero mayoritario (50%), confórmero minoritario (50%). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>/gotas CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz): δ (ppm) 7.48-6.94 (m, 19H), 6.70 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.84 (pt, J = 5.5 Hz, J = 4.8 Hz, 2H, H-9, <sup>m</sup>H-9), 4.57-4.47 (m, 3H, H-7 o <sup>m</sup>H-7, H-8, <sup>m</sup>H-8), 4.43 (d, J<sub>gem7-7</sub> = 13.2 Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.35 (d, J<sub>gem 7-7</sub> = 12.8 Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.18 (d, J<sub>gem 7-7</sub> = 13.2 Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 3.77 (dd, J<sub>gem 8-8</sub> = 14.2 Hz, J<sub>8-9</sub> = 7.1 Hz, 1H, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.57 (dd, J<sub>gem 8-8</sub> = 14.2 Hz, J<sub>8-9</sub> = 4.7 Hz, 1H, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.25 (s, 6H, H-10, <sup>m</sup>H-10). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>/gotas CD<sub>3</sub>OD, 75 MHz):



δ (ppm) 171.79 y 171.52 (C-1', <sup>m</sup>C-1'), ~157.60 (d, J<sub>C-F</sub> ~ 35.0 Hz, C-4'' o <sup>m</sup>C-4''), 157.41 (d, J<sub>C-F</sub> = 35.3 Hz, C-4'' o <sup>m</sup>C-4''), 150.42 y 150.29 (C-2'', <sup>m</sup>C-2''), 141.15 (d, J<sub>C-F</sub> = 315.4 Hz, C-5'' o <sup>m</sup>C-5''), 140.91 (d, J<sub>C-F</sub> = 316.2 Hz, C-5'' o <sup>m</sup>C-5''), 140.37, 140.19, 137.70,

137.26 y 134.71 (C-1, <sup>m</sup>C-1, C-2, <sup>m</sup>C-2, C-2', <sup>m</sup>C-2'), 130.27, 130.18, 130.11, 129.39, 128.82, 128.71, 128.51, 128.43, 128.20, 128.06, 127.78 y 127.69 (CH-aromáticos), 123.57 (d,  $J_{C-F} = 44.7$  Hz, CH-6'' o <sup>m</sup>CH-6''), 123.04 (d,  $J_{C-F} = 44.2$  Hz, CH-6'' o <sup>m</sup>CH-6''), 84.26 y 83.85 (CH-9, <sup>m</sup>CH-9), 60.31 (CH<sub>2</sub>-7, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-7), 56.61 y 56.53 (CH<sub>3</sub>-10, <sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10), 51.86 y 51.47 (CH<sub>2</sub>-8, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-8).

**HRMS LSIMS  $m/z$ :** Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>FNa (M+Na)<sup>+</sup> 436.1285. Encontrado 436.1288 (desviación -0.8 ppm).

Método B:

Respecto al método A, se cambiaron los siguientes parámetros:

**Ácido de Lewis:** Triflato de escandio.

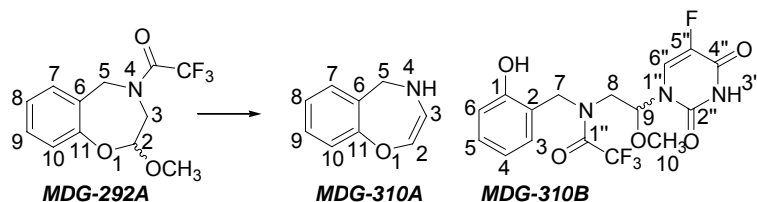
<b>Proporciones de reactivos:</b>	Ácido de Lewis	0.6 equiv.
	HMDS	1.0 equiv.
	TCS	1.0 equiv.

**Temperatura de reacción:** 40 °C

**Tiempo de reacción:** 26 h

El tratamiento de la reacción se llevó a cabo de la forma descrita en el método A de este mismo apartado y la purificación se realizó mediante cromatografía flash, utilizando mezclas MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en gradiente. Se aisló así el compuesto abierto **MDG-680G** como único producto (rendimiento 11%).

### 5.3.3. Reacción de la (*RS*)-2-metoxi-4-trifluoroacetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepina (*MDG-292A*) con el 5-FU mediada por ácidos de Lewis.



A una suspensión de **MDG-292A** (1.0 equiv.) y 5-FU (1.2 equiv.) preparada bajo argón en CH<sub>3</sub>CN anhidro (5 mL/mmol de **MDG-292A**), se añadieron gota a gota y a t.a., los reactivos TCS (1.2 equiv.) y HMDS (1.2 equiv.) en ese orden. Se enfrió entonces la mezcla hasta los 0 °C antes de la adición lenta de SnCl<sub>4</sub> (1.4 equiv., 1M en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Se permitió alcanzarse a continuación la temperatura ambiente y se mantuvo así la agitación durante 70 h. Tras este tiempo, se diluyó la mezcla de reacción con agua destilada y la disolución se neutralizó con NaHCO<sub>3</sub> (5%) obteniéndose una fase acuosa que se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase orgánica final se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó a vacío. La purificación del residuo mediante cromatografía flash utilizando elución en gradiente (mezclas MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> desde 0/1 hasta 1/125) permitió el aislamiento de dos compuestos, **MDG-310A** [rendimiento 55%, elución MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1/150, sólido blanco, p.f. 170.3-172.3 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/1) = 0.52] y **MDG-310B** [rendimiento 33%, elución MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1/125, sólido blanco, p.f. 202.0-203.0 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc/hexano 1/1) = 0.26].

#### **MDG-310A.** 4,5-Dihidro-1,4-benzoxazepina.

<sup>1</sup>H-RMN [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 400 MHz]: δ (ppm) 8.98 (s, 1H, NH), 7.32 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H), 7.22 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 9.0 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.6 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.97 (m, 2H), 6.87 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H, H-5). <sup>13</sup>C-RMN [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100 MHz]: δ (ppm) 155.74 (C-11), 130.51, 129.75, 129.04, 125.42, 120.69 y 116.14 (CH-2, CH-3, CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 123.20 (C-6), 46.57 (CH<sub>2</sub>-5).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>NO 147.0684. Encontrado 147.0684 (desviación 0.0 ppm).

**MDG-310B.** (RS)-1-{1-Metoxi-2-[2,2,2-trifluoro-N-(2-hidroxifenilmetil)acetamido]etil}-5-fluorouracilo.

CD<sub>3</sub>OD, t.a.: Confórmero mayoritario (80%), confórmero minoritario (20%). <sup>1</sup>H-RMN (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ (ppm) 7.73 (d,  $J_{6''-F} = 6.2$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-6''), 7.67 (d,  $J_{6''-F} = 6.3$  Hz, 1H, H-6''), 7.21-7.14, 7.09-7.07, 6.88-6.81 (3m, 4H, 4<sup>m</sup>H), 5.90-5.87 (2ddd, 2H, H-9, <sup>m</sup>H-9), 4.79-4.67 (m, 3H, 2H-7, 1<sup>m</sup>H-7), 3.79-3.74 (m, 3H, H-8, <sup>m</sup>H-7, <sup>m</sup>H-8), 3.61 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.2$  Hz,  $J_{8-9} = 4.4$  Hz, 2H, H-8, <sup>m</sup>H-8), 3.35 (s, 6H, H-10, <sup>m</sup>H-10). <sup>13</sup>C-RMN (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz): δ (ppm) ≥160 (C-1'), 159.33 (d,  $J_{C-F} = 35.8$  Hz, C-4'', <sup>m</sup>C-4''), 156.89, 151.64 y 151.28 (C-2'', <sup>m</sup>C-2'', C-1, <sup>m</sup>C-1), 142.62 (d,  $J_{C-F} = 233.4$  Hz, <sup>m</sup>C-5''), 142.32 (d,  $J_{C-F} = 233.4$  Hz, C-5''), 131.25, 130.37, 120.70 y 116.22 (<sup>m</sup>CH-2, <sup>m</sup>CH-3, <sup>m</sup>CH-4, <sup>m</sup>CH-5), 130.67, 129.92, 121.03 y 116.35 (CH-2, CH-3, CH-4, CH-5), 124.64 (d,  $J_{C-F} = 33.0$  Hz, CH-6''), 124.33 (d, <sup>m</sup>CH-6''), 121.92 (C-6), 117.91 (c,  $J_{C-F} = 285.1$  Hz, C-2') 86.16 (<sup>m</sup>CH-9), 84.77 (CH-9), 57.45 (<sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10), 57.35 (CH<sub>3</sub>-10), 50.31, 47.83 y 47.79 (CH<sub>2</sub>).

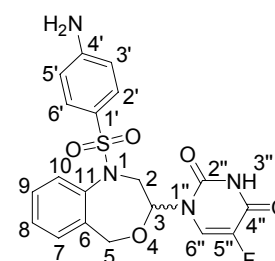
**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>F<sub>4</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 428.0846. Encontrado 428.0844 (desviación +0.4 ppm).

### 5.3.4. Modificación estructural de los O,N-acetales de tetrahydrobenzoxazepina y pirimidina.

#### 5.3.4.1. Reducción de grupo nitro en derivados nitrobenzénsulfonilo.

##### 5.3.4.1.a. (RS)-1-[1-(*p*-Aminobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxa\_zepin-3-il]-5-fluorouracilo (**MDG-930B**).

Se preparó una suspensión del producto de partida **MDG-612B** (1.0 equiv.) en EtOH (5 mL/mmol de **MDG-612B**) sobre la que se añadió SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (5 equiv.) en una única porción, a t.a. La mezcla se llevó entonces a reflujo durante 1 h, transcurrida la cual se observó la desaparición del compuesto de partida. Tras



enfriar la mezcla de reacción a 0 °C, la disolución se neutralizó con NaHCO<sub>3</sub> (10%) y la fase acuosa resultante se extrajo utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y EtOAc. Tras secado de las fases orgánicas (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtración y posterior evaporación de los disolventes, el residuo se

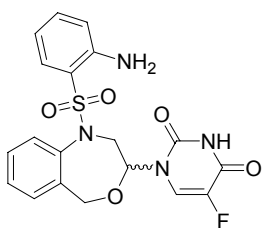
purificó por cromatografía flash (elución con EtOAc). Se aisló así **MDG-930B**, sólido blanco, con rendimiento 34%,  $R_f$  (EtOAc/hexano 3/1) = 0.36.

**$^1\text{H-RMN}$**  [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]:  $\delta$  (ppm) 10.60 (ba, 1H, NH-3''), 7.73 (d,  $J_{6''-F}$  = 6.8 Hz, 1H, H-6''), 7.50-7.32 (m, 4H, H-7, 8, 9, 10), 7.47 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'}$  = 8.8 Hz, 2H, H-2', 6'), 6.75 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'}$  = 8.8 Hz, 2H, H-3', 4'), 5.95 (ddd,  $J_{3\beta-2\alpha}$  = 10.1 Hz,  $J_{3\beta-2\beta}$  = 1.8 Hz,  $J_{3\beta-F}$  = 1.8 Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 5.64 (ba, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.64 (d,  $J_{\text{gem } 5\alpha-5\beta}$  = 13.6 Hz, 1H, H-5), 4.53 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha}$  = 14.9 Hz,  $J_{2\beta-3\beta}$  = 2.0 Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.22 (d,  $J_{\text{gem } 5\beta-5\alpha}$  = 13.6 Hz, 1H, H-5), 3.39 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha}$  = 14.9 Hz,  $J_{2\alpha-3\beta}$  = 10.1 Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 75 MHz]:  $\delta$  (ppm) 154.16, 130.46, 130.14, 130.03, 128.81 y 128.37 (C-2'', C-4'', C-5'', aromáticos), 125.32 (d,  $J_{\text{C-F}}$  = 34.5 Hz, CH-6''), 114.24 (CH-3', CH-5'), 83.64 (CH-3), 71.58 (CH<sub>2</sub>-5), 53.92 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>FSNa (M+Na)<sup>+</sup> 455.0801. Encontrado 455.0807 (desviación -1.2 ppm).

#### 5.3.4.1.b. (RS)-1-[1-(o-Aminobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-5-fluorouracilo (**MDG-878A**).

**MDG-878A** se preparó a partir de **MDG-607B**, de la forma descrita para la obtención de **MDG-930B** (apartado 5.3.4.1.a.). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 1



h, desapareciendo el compuesto de partida. Tras la neutralización de la disolución y la extracción del producto final se procedió a la purificación del residuo mediante cromatografía flash. Para la elución se utilizaron mezclas EtOAc/hexano en gradiente desde 1/2 hasta 1/1 y se aisló así el producto final reducido **MDG-878A**,

sólido blanco, con rendimiento cuantitativo [p.f. 155.0-156.0 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/1) = 0.30].

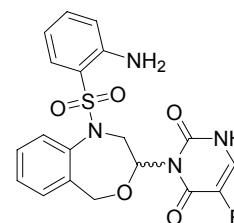
**$^1\text{H-RMN}$**  (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 9.61 (da,  $J_{\text{NH-F}}$  = 4.0 Hz, 1H, NH-3''), 8.50 (ba, 1H, NH<sub>2</sub>), 7.69 (dd,  $J_1$  = 7.9 Hz,  $J_2$  = 0.9 Hz, 1H), 7.61 (dd,  $J_1$  = 8.3 Hz,  $J_2$  = 1.0 Hz, 1H), 7.51 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.3-8.4$  Hz,  $J_3$  = 1.4 Hz, 1H), 7.43 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.8$  Hz,  $J_3$  = 1.6 Hz, 1H), 7.32 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.5$  Hz,  $J_3$  = 1.2 Hz, 1H), 7.24 (d,  $J_{6''-F}$  = 5.7 Hz, 1H, H-6''), 7.23

(dd,  $J_1 = 8.1$  Hz,  $J_2 = 1.5$  Hz, 1H), 7.17 (dd,  $J_1 = 7.4$  Hz,  $J_2 = 1.6$  Hz, 1H), 6.76 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.5$  Hz,  $J_3 = 1.2$  Hz, 1H), 6.61 (ba, 1H,  $NH_2$ ), 6.28 (ddd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.1$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.8$  Hz,  $J_{3\beta-F} = 1.8$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.66 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 14.9$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.2$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.35 (d,  $J_{gem\ 5\alpha-5\beta} = 13.6$  Hz, 1H, H-5), 3.76 (d,  $J_{gem\ 5\beta-5\alpha} = 13.6$  Hz, 1H, H-5), 3.15 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 14.9$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.2$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).  **$^{13}C$ -RMN** [ $CDCl_3$ /gotas de  $(CD_3)_2CO$ , 75 MHz]:  $\delta$  (ppm) 148.39, 147.80, 138.63, 137.77, 136.97, 129.33 y 126.82 (cuaternarios), 134.60, 129.73, 129.38, 129.23, 129.09, 128.15, 124.08, 123.62, 119.15 y 114.19 (CH-aromáticos, C-6''), 83.00 (CH-3), 70.52 (CH<sub>2</sub>-5), 52.76 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS  $m/z$ :** Calculado para  $C_{19}H_{17}N_4O_5FSNa$  (M+Na)<sup>+</sup> 455.0801. Encontrado 455.0804 (desviación -0.6 ppm).

#### 5.3.4.1.c. (RS)-3-[1-(o-Aminobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxa\_ zepin-3-il]-5-fluorouracilo (MDG-892A).

El compuesto **MDG-892A** se obtuvo a partir de **MDG-607F**, aplicando el procedimiento descrito en el apartado 5.3.4.1.a. La reacción se mantuvo a reflujo durante 1 h tras la cual, se comprobó mediante CCF la desaparición del compuesto de partida. El residuo resultante de la neutralización, extracción, secado y filtración se purificó mediante cromatografía flash utilizando mezclas eluyentes EtOAc/hexano en gradiente desde 1/2 hasta 1.5/1. El producto final reducido **MDG-892A** se obtuvo en forma de sirupo amarillo [rendimiento 46%,  $R_f$  (MeOH/ $CH_2Cl_2$  0.5/10) = 0.32].

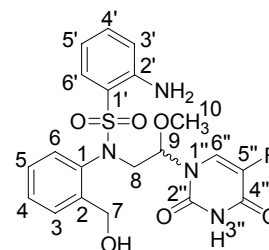


**$^1H$ -RMN** [ $(CD)_3CO$ , 300 MHz]:  $\delta$  (ppm) 9.80 (ba, 1H,  $NH$ -1''), 8.20 (ba, 1H,  $NH_2$ ), 7.95 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H,  $NH_2$ ), 7.68 (t,  $J_{6''-F} = 5.6$  Hz,  $J_{6''-NH} = 5.6$  Hz, 1H, H-6''), 7.61-7.51 (m, 3H), 7.36-7.22 (m, 4H), 6.92 (m, 1H), 6.28 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 9.4$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.3$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.61 (d,  $J_{gem\ 5\alpha-5\beta} = 13.5$  Hz, 1H, H-5), 4.52 (d,  $J_{gem\ 5\beta-5\alpha} = 13.4$  Hz, 1H, H-5), 4.51 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.3$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.41 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 14.9$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 9.2$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).  **$^{13}C$ -RMN** [ $(CD_3)_2CO$ , 75 MHz]:  $\delta$  (ppm) 148.81, 140.03 y 138.48 (C-2'', C-11, C-2'), 134.78, 129.87, 129.76, 128.99, 128.76, 128.16, 119.33 y 114.52 (CH-aromáticos), 124.53 y 122.62 (C-6, C-1'), 71.48 (CH<sub>2</sub>-5), 52.94 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $C_{19}H_{17}N_4O_5FSNa$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup> 455.0801. Encontrado 455.0799 (desviación +0.5 ppm).

**5.3.4.1.d. (RS)-1-{2-[2-Amino-N-(2-hidroximetilfenil)bencénsulfonamido]-1-metoxietil}-5-fluorouracilo (**MDG-898D**).**

**MDG-898D** se obtuvo a partir de **MDG-607G** mediante reducción del grupo nitro de la forma explicada en el apartado 5.3.4.1.a. Tras 1 h de agitación a reflujo, se comprobó la desaparición del compuesto de partida mediante CCF y la aparición de dos nuevos productos, el mayoritario de los cuales (el más polar en CCF desarrollada en MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 0.5/10), tras purificación mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> desde 0/1 hasta 0.3/10) resultó ser el producto final reducido **MDG-898D** [sólido blanco, rendimiento 50%,  $R_f$  (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 0.5/10) = 0.43].



(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, t.a.: Confórmero mayoritario (aprox. 50%), confórmero minoritario (aprox. 50%). **<sup>1</sup>H-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]:  $\delta$  (ppm) 10.60 (ba, 1H, NH-3'' o <sup>m</sup>NH-3''), 10.55 (ba, 1H, NH-3'' o <sup>m</sup>NH-3''), 8.28 y 8.24 (2ba, 2H, NH<sub>2</sub>, <sup>m</sup>NH<sub>2</sub>), 8.15 (m, 2H, NH<sub>2</sub>, <sup>m</sup>NH<sub>2</sub>), 7.65 (d,  $J_{6''-F} = 6.6$  Hz, 1H, H-6'' o <sup>m</sup>H-6''), 7.59 (d,  $J_{6''-F} = 6.5$  Hz, 1H, H-6'' o <sup>m</sup>H-6''), 7.59-7.44 (m, 3H, 3<sup>m</sup>H), 7.36-7.28 (m, 2H, 2<sup>m</sup>H), 7.19-7.12 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 7.01 (dd, 1H o 1<sup>m</sup>H), 6.90 (dd, 1H o 1<sup>m</sup>H), 6.87-6.80 (m, 1H, 1<sup>m</sup>H), 5.76 (ddd,  $J_{9-8} = J_{9-8} = 6.3$  Hz,  $J_{9-F} = 1.8$  Hz, 1H, H-9 o <sup>m</sup>H-9), 5.61 (ddd,  $J_{9-8} = J_{9-8} = 6.0$  Hz,  $J_{9-F} = 1.8$  Hz, 1H, H-9 o <sup>m</sup>H-9), 4.67 (dd,  $J_{gem\ 7-7} = 13.7$  Hz,  $J_{7-OH} = 5.9$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.64 (dd,  $J_{gem\ 7-7} = 13.5$  Hz,  $J_{7-OH} = 6.0$  Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.52-4.44 (m, 2H, H-7, <sup>m</sup>H-7), 4.18 (dd,  $J_{OH-7} = 6.1$  Hz,  $J_{OH-7} = 4.1$  Hz, 1H, OH o <sup>m</sup>OH), 4.13 (dd,  $J_{OH-7} = 6.1$  Hz,  $J_{OH-7} = 3.6$  Hz, 1H, OH o <sup>m</sup>OH), 4.07-3.97 (m, 2H, H-8, <sup>m</sup>H-8), 3.97 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 14.6$  Hz,  $J_{8-9} = 6.0$  Hz, 1H, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.94 (dd,  $J_{gem\ 8-8} = 15.1$  Hz,  $J_{8-9} = 6.4$  Hz, 1H, H-8 o <sup>m</sup>H-8), 3.29 (s, 3H, H-10 o <sup>m</sup>H-10), 3.27 (s, 3H, H-10 o <sup>m</sup>H-10). **<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 75 MHz]:  $\delta$  (ppm)  $\geq 150.00$  (C-4''), 149.60, 149.48, 142.79, 142.44, 137.05, 136.05, 120.29, 120.17, 118.86 y 118.10 (cuaternarios), 134.55, 130.18, 130.09, 129.36, 129.17, 129.01, 128.77, 128.68, 128.61, 127.50, 127.36, 118.77, 114.61, y 114.51 (CH-aromáticos), 123.17 (d,  $J_{C-F} = 33.8$  Hz, CH-6'' o



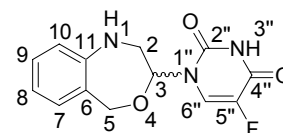
$^m\text{CH-6''}$ ), 123.10 (d,  $J_{\text{C-F}} = 33.8$  Hz, CH-6'' o  $^m\text{CH-6''}$ ), 84.87 y 84.31 (CH-9,  $^m\text{CH-9}$ ), 59.56 (CH<sub>2</sub>-7,  $^m\text{CH}_2$ -7), 55.81 y 55.72 (CH<sub>3</sub>-10,  $^m\text{CH}_3$ -10), 53.35 (CH<sub>2</sub>-8,  $^m\text{CH}_2$ -8).

**HRMS LSIMS  $m/z$ :** Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>FSNa (M+Na)<sup>+</sup> 487.1064. Encontrado 487.1063 (desviación +0.2 ppm).

### 5.3.4.2. Eliminación del grupo protector nitrobenzénsulfonilo. Obtención de aminas secundarias.

#### 5.3.4.2.a. (RS)-1-(1,2,3,5-Tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il)-5-fluorouracilo (MDG-924C).

**MDG-924C** se preparó a partir de **MDG-612B** (1.0 equiv.) de la forma descrita para la síntesis de **MDG-484D** en el apartado 5.2.1.1.n. La reacción se agitó a t.a. durante 2.5 h, hasta la desaparición del producto de partida en CCF. En su lugar se observaron dos productos nuevos: el primero de ellos de  $R_f$  ligeramente superior al del producto de partida y el segundo de  $R_f$  notablemente inferior (**MDG-924C**) (CCF desarrollada en EtOAc/hexano 1/1). La mezcla se diluyó con agua destilada y la fase acuosa se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y EtOAc. Tras secar (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y filtrar las fases orgánicas, se mezclaron y el disolvente se eliminó al rotavapor. El aislamiento de los productos así como la eliminación de los restos de DMF se realizaron mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas EtOAc/hexano desde 1/20 hasta 1/2). Se obtuvo el producto final desprotegido **MDG-924C** (83%), en forma de sólido blanco [p.f. 221.0-222.0 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 1/1) = 0.18].



**$^1\text{H-RMN}$**  [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO/gotas de CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz]:  $\delta$  (ppm) 7.85 (d,  $J_{6''-F} = 6.9$  Hz, 1H, H-6''), 7.12-7.07 (m, 2H), 6.86-6.84 (m, 1H), 6.78 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.4$  Hz,  $J_3 = 1.1$  Hz, 1H), 5.78 (ddd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 7.0$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.0$  Hz,  $J_{3\beta-F} = 2.0$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.84 (d,  $J_{\text{gem } 5\alpha-5\beta} = 14.1$  Hz, 1H, H-5), 4.77 (d,  $J_{\text{gem } 5\alpha-5\beta} = 14.0$  Hz, 1H, H-5), 3.67 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha} = 13.8$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.3$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 3.09 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha} = 13.8$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 7.0$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).

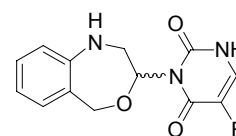
**$^{13}\text{C-RMN}$**  [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO/gotas de CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz]:  $\delta$  (ppm)  $\geq 156.00$  (C-4''), 150.26 y 149.65 (C-2'', C-11), 141.14 (d,  $J_{\text{C-F}} = 230.0$  Hz, C-5''), 129.89, 129.63 120.90 y 119.07

(CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 128.56 (C-6), 126.38 (d,  $J_{C-F} = 34.6$  Hz, CH-6''), 86.24 (CH-3), 71.44 (CH<sub>2</sub>-5), 51.72 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>FNa (M+Na)<sup>+</sup> 300.0760. Encontrado 300.0758 (desviación +0.9 ppm).

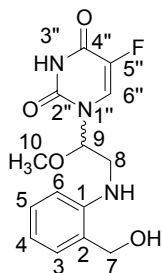
**5.3.4.2.b. (RS)-3-(1,2,3,5-Tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il)-5-fluorouracilo (MDG-936B).**

El compuesto **MDG-936B** se preparó a partir de **MDG-612C** de la forma descrita en el apartado 5.2.1.1.n para la síntesis de **MDG-484D**. La reacción en este caso se mantuvo a t.a. durante 45 min, tras los cuales se observó la desaparición del sustrato de partida y la aparición de un nuevo producto (**MDG-936B**). Tras la extracción de la fase acuosa de la forma descrita en el apartado anterior, secado de la fase orgánica, filtración y evaporación del disolvente, el residuo se sometió a cromatografía flash para el aislamiento del producto final y la eliminación de los restos de DMF. La elución se llevó a cabo con mezclas EtOAc/hexano en gradiente desde 1/20 hasta 2/1. El producto final desprotegido **MDG-936B**, se obtuvo en forma de sólido blanco, rendimiento 50%, p.f. 216.5-217.5 °C,  $R_f$  (EtOAc/hexano 2/1) = 0.19.



**<sup>1</sup>H-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 300 MHz]:  $\delta$  (ppm) 9.7 (ba, 1H, NH-1''), 7.64 (d,  $J_{6''-F} = 5.2$  Hz, 1H, H-6''), 7.10-7.05 (m, 2H), 6.87-6.84 (m, 1H), 6.73 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.4$  Hz,  $J_3 = 1.2$  Hz, 1H), 6.20 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.9$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 5.23 (ba, 1H, NH-1), 5.18 (d,  $J_{gem\ 5\alpha-5\beta} = 13.8$  Hz, 1H, H-5), 4.48 (d,  $J_{gem\ 5\alpha-5\beta} = 13.8$  Hz, 1H, H-5), 4.36 (dd,  $J_{gem\ 2\alpha-2\beta} = 13.6$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 9.6$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ), 3.32 (ddd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 13.6$  Hz,  $J_{2\beta-NH} = 7.2$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.0$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ). **<sup>13</sup>C-RMN** [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100 MHz]:  $\delta$  (ppm)  $\geq 156.00$  (C-4''), 150.87 y 150.46 (C-2'', C-11), 140.85 (d,  $J_{C-F} = 226.7$  Hz, C-5''), 130.02, 129.42 120.28 y 118.93 (CH-7, CH-8, CH-9, CH-10), 129.01 (C-6), 125.26 (d,  $J_{C-F} = 32.3$  Hz, CH-6''), 87.34 (CH-3), 72.26 (CH<sub>2</sub>-5), 49.83 (CH<sub>2</sub>-2).

5.3.4.2.c. (RS)-1-[2-(2-Hidroximetilfenilamino)-1-metoxietil]-5-fluorouracilo (MDG-708B).

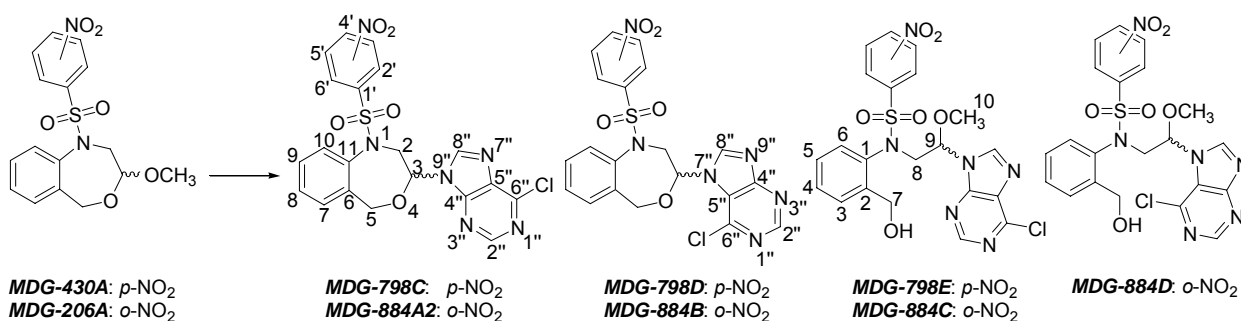


Para la preparación del compuesto **MDG-708B** se partió de **MDG-612D** y se siguió el procedimiento descrito para la síntesis de **MDG-484D** (apartado 5.2.1.1.n.), pero, en este caso, la reacción se mantuvo a t.a. durante 5 h (hasta la desaparición del producto de partida). Para el tratamiento de la reacción, la mezcla se diluyó con agua destilada y se procedió a la neutralización de la disolución utilizando HCl (10%). La fase acuosa neutra se extrajo (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) y la fase orgánica resultante se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró a vacío. El aislamiento de los productos así como la eliminación de los restos de DMF se realizaron mediante cromatografía flash con elución en gradiente utilizando mezclas eluyentes EtOAc/hexano (1/10 → 1/0). El producto final, **MDG-708B**, se aisló como un sólido blanco con un rendimiento del 41 % [p.f. = 87.0-88.0 °C, R<sub>f</sub> (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) = 0.13].

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>/gotas CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz): δ (ppm) 10.00 (ba, 1H, NH-3''), 7.44 (d, J<sub>6''-F</sub> = 5.8 Hz, 1H, H-6''), 7.19 (ddd, J<sub>1</sub> = J<sub>2</sub> = 7.7 Hz, J<sub>3</sub> = 1.3 Hz, 1H), 7.03 (dd, J<sub>1</sub> = 7.3 Hz, J<sub>2</sub> = 1.5 Hz, 1H), 6.70-6.64 (m, 2H), 5.73 (m, 1H, H-9), 5.20 (ba, 1H, NH), 4.61 (d, J<sub>gem 7-7</sub> = 12.8 Hz, 1H, H-7), 4.55 (d, J<sub>gem 7-7</sub> = 12.3 Hz, 1H, H-7), 3.54-3.42 (m, 2H, H-8), 3.40 (s, 3H, H-10). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>/gotas CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz): δ (ppm) 150.06 y 146.38 (C-2'', C-1), 141.09 (d, J<sub>C-F</sub> = 236.9 Hz, C-5''), 129.65, 117.56 y 110.56 (CH-3, CH-4, CH-5, CH-6), 124.83 (C-2), 123.27 (d, J<sub>C-F</sub> = 33.4 Hz, CH-6''), 85.90 (CH-9), 64.19 (CH<sub>2</sub>-7), 57.38 (CH<sub>3</sub>-10), 46.50 (CH<sub>2</sub>-8).

HRMS LSIMS m/z: Calculado para C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>F (M+H)<sup>+</sup> 310.1203. Encontrado 310.1198 (desviación +1.7 ppm).

### 5.3.5. Reacción de (RS)-3-metoxi-N-nitrobencénsulfonil-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con purinas mediada por ácidos de Lewis.



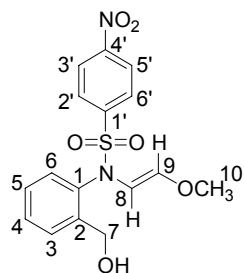
#### 5.3.5.1. Síntesis de O,N-acetales a partir de la (RS)-3-metoxi-1-(*p*-nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-430A) y la 6-cloropurina (MDG-798C, MDG-798D, MDG-798E).

Se aplicó el método descrito en el apartado 5.3.1.1 para la reacción entre **MDG-430A** y 5-FU. Se utilizaron los reactivos en las relaciones allí descritas, con la única variación de la base nitrogenada y se preparó la mezcla de reacción de la misma forma. Se mantuvo la reacción durante 67 h en agitación a 50 °C y tras la neutralización de la disolución, la extracción de la fase acuosa y su filtración, se procedió a la purificación de los productos de condensación mediante cromatografía flash con elución en gradiente. Para la purificación de los compuestos **MDG-798D** y **MDG-798E**, fueron adecuadas las mezclas de los eluyentes EtOAc/hexano en gradiente desde 1/6 hasta 1.5/1. Sin embargo, el producto **MDG-798C** se obtuvo acompañado de una impureza (**MDG-798B**) de la que únicamente se consiguió separar utilizando (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en gradiente desde 0/1 hasta 2/10. Las proporciones de los disolventes adecuadas para la elución de cada uno de los productos finales y algunas características de estos productos, se exponen en la Tabla 5.6.

**Tabla 5.6.** Productos obtenidos en la reacción de formación de *O,N*-acetales a partir de **MDG-430A** y 6-cloropurina.

		<b>798B</b>	<b>798C</b>	<b>798D</b>	<b>798E</b>
<b>Elución en cromatografía flash</b>	EtOAc/hexano	1/1.5	1/2	1.5/1	1.5/1
	Acetona/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.15/10	2/10	ND	ND
<b>R<sub>f</sub> EtOAc/hexano</b>		2/1 0.61	2/1 0.51	2/1 0.35	2/1 0.24
<b>Aspecto</b>		Líquido amarillo	Sólido amarillo claro	Sólido blanco	Sólido blanco
<b>p.f. ( °C)</b>		-	ND*	219.0-220.0	135.4-136.4
<b>Rendimiento</b>		7%	2%	15%	22%

\*Dato no determinado por no disponerse del producto en cantidad suficiente.



**MDG-798B.** *N*-(2-Hidroximetilfenil)-*N*-(2-metoxivinil)-4-nitrobenzénsulfonamida.

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.39 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.0$  Hz, 2H, H-3', 5'), 7.92 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.0$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.66 (dd, 1H), 7.42 (ddd, 1H), 7.15 (ddd, 1H), 6.39 (dd, 1H), 6.35 (d,  $J_{8-9} \sim 12$  Hz, 1H, H-8 o H-9), 6.04 (d,  $J_{8-9} \sim 12$  Hz, 1H, H-8 o H-9), 4.75 (ba, 2H, H-7), 3.55 (s, 3H, H-10).

**HRMS LSIMS *m/z*:** Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>NaS (M+Na)<sup>+</sup> 387.0627. Encontrado 387.0621 (desviación +1.4 ppm).

**MDG-798C.** (*RS*)-9-[1-(*p*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-cloro-9*H*-purina.

**<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.95 (s, 1H, H-8''), 8.90 (s, 1H, H-2''), 8.52 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 9.0$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.27 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 9.0$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.60-7.28 (m, 4H, H-7, H-8, H-9, H-10), 6.26 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.2$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.8$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.96 (d,  $J_{gem\ 5-5} = 12.0$  Hz, 1H, H-5), 4.83-4.73 (m, 2H, H-2 $\beta$ , H-5), 4.27 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 9.9$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ). **<sup>13</sup>C-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 151.95 (CH-2''), 151.24 (C-4''), 150.18 (C-4'), 149.41 (C-6''), 145.53 (CH-8''), 145.42 (C-1'), 138.95 (C-11), 136.93 (C-6), 131.00 (C-5''), 130.10 (CH-7), 129.59, 128.49 y 127.20 (CH-8, CH-

9, CH-10), 128.65 (CH-2', CH-6'), 125.09 (CH-3', CH-5'), 83.67 (CH-3), 69.86 (CH<sub>2</sub>-5), 52.61 (CH<sub>2</sub>-2). (Asignación protones y carbonos y determinación de la unión N9'', mediante HMBC en DMSO-*d*<sub>6</sub>).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>NaSCl (M+Na)<sup>+</sup> 509.0411. Encontrado 509.0418 (desviación -1.5 ppm).

**MDG-798D.** (RS)-7-[1-(*p*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-cloro-7*H*-purina.

**<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 9.04 (s, 1H, H-8''), 8.95 (s, 1H, H-2''), 8.52 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.9$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.26 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.58-7.45 (m, 3H, H-7, H-8, H-9), 7.38 (dd,  $J_1 = 7.4$  Hz,  $J_2 = 1.4$  Hz, 1H, H-10), 6.42 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.0$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.7$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 5.00 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 14.9$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 1.9$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.93 (d,  $J_{gem5-5} = 14.0$  Hz, 1H, H-5), 4.61 (d,  $J_{gem5-5} = 13.9$  Hz, 1H, H-5), 4.23 (dd,  $J_{gem\ 2\beta-2\alpha} = 14.9$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.1$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ). **<sup>13</sup>C-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 161.39 (C-4''), 152.21 (CH-2''), 150.22 (C-4'), 147.97 (CH-8''), 145.39 (C-1'), 142.44 (C-6''), 138.68 (C-11), 136.97 (C-6), 130.05 (CH-7), 129.63 (CH-9), 128.64 (CH-2', CH-6'), 127.73 (CH-10), 125.12 (CH-3', CH-5'), 121.51 (C-5''), 84.24 (CH-3), 69.30 (CH<sub>2</sub>-5), 52.58 (CH<sub>2</sub>-2). (Asignación protones y carbonos y determinación de la unión N7'', mediante HMBC en DMSO-*d*<sub>6</sub>).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>NaSCl (M+Na)<sup>+</sup> 509.0411. Encontrado 509.0408 (desviación +0.6 ppm).

**MDG-798E.** (RS)-9-{2-[*N*-(2-Hidroximetilfenil)-4-nitrobencénsulfonamido]-1-metoxi\_etil}-6-cloro-9*H*-purina.

DMSO-*d*<sub>6</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (57%), confórmero minoritario (43%). **<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.90 (s, 1H, H-8''), 8.85 (s, 1H, <sup>m</sup>H-8''), 8.77 (s, 1H, H-2''), 8.72 (s, 1H, <sup>m</sup>H-2''), 8.41 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.9$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.37 (d,  $J_{3'-2'} = J_{5'-6'} = 8.9$  Hz, 2H, <sup>m</sup>H-3', 5'), 7.91 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.84 (d,  $J_{2'-3'} = J_{6'-5'} = 8.9$  Hz, 2H, <sup>m</sup>H-2', 6'), 7.59 (d,  $J_{6-5} = 7.6$  Hz, 1H, H-6), 7.54 (d,  $J_{6-5} = 6.8$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-6), 7.42-7.34 (m, 2H, H-5, <sup>m</sup>H-5), 7.15 (dt,  $J_1 = 7.7$  Hz,  $J_2 = 1.3$  Hz, 2H, H-4, <sup>m</sup>H-4), 6.72 (d,

$J_{3-4} = 7.3$  Hz, 1H,  $^m\text{H-3}$ ), 6.56 (d,  $J_{3-4} = 7.2$  Hz, 1H, H-3), 5.79 (pt,  $J_{9-8} = 6.2$  Hz, 1H, H-9), 5.69 (pt,  $J_{9-8} = 6.1$  Hz, 1H,  $^m\text{H-9}$ ), 5.15 (ba), 4.58 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.3$  Hz,  $J_{8-9} = 6.7$  Hz, 1H, H-8 o  $^m\text{H-8}$ ), 4.47-4.39 [m, 6H, 2H-7, 2 $^m\text{H-7}$ , 2H-8 (H-8 y/o  $^m\text{H-8}$ )], 4.22 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8} = 14.3$  Hz,  $J_{8-9} = 5.5$  Hz, 1H, H-8 o  $^m\text{H-8}$ ), 3.16 (s, 3H,  $^m\text{H-10}$ ), 3.12 (s, 3H, H-10).  **$^{13}\text{C}$ -RMN** (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 151.90 y 151.90-151.69 (C-4'',  $^m\text{C-4''}$ ), 151.76 y 151.69 (CH-2'',  $^m\text{CH-2''}$ ), 150.09 y 150.00 (C-4',  $^m\text{C-4'}$ ), 149.26 y 148.83 (C-6'',  $^m\text{C-6''}$ ), 145.98 y 145.69 (CH-8'',  $^m\text{CH-8''}$ ), 142.84, 142.78, 142.70 y 142.53 (C-1',  $^m\text{C-1'}$ , C-1,  $^m\text{C-1}$ ), 135.69 y 134.89 (C-2,  $^m\text{C-2}$ ), 131.96 y 131.00 (C-5'',  $^m\text{C-5''}$ ), 129.37, 129.08 y 128.85 (CH-2', CH-6',  $^m\text{CH-2'}$ ,  $^m\text{CH-6'}$ , CH-5,  $^m\text{CH-5}$ ), 128.22 (CH-6,  $^m\text{CH-6}$ ), 127.95 y 127.77 (CH-3,  $^m\text{CH-3}$ ), 127.38 (CH-4,  $^m\text{CH-4}$ ), 124.52 y 124.46 (CH-3',  $^m\text{CH-3'}$ , CH-5',  $^m\text{CH-5'}$ ), 84.83 y 83.92 (CH-9,  $^m\text{CH-9}$ ), 58.62 (CH<sub>2</sub>-7,  $^m\text{CH}_2\text{-7}$ ), 56.12 (CH<sub>3</sub>-10,  $^m\text{CH}_3\text{-10}$ ), 53.34 (CH<sub>2</sub>-8,  $^m\text{CH}_2\text{-8}$ ). (Asignación protones y carbonos y determinación de la unión N9'', mediante HMBC y HMQC en DMSO- $d_6$ ).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>NaSCl (M+Na)<sup>+</sup> 541.0673. Encontrado 541.0667 (desviación +1.1 ppm).

**5.3.5.2. Síntesis de O,N-acetales a partir de la (RS)-3-metoxi-1-(o-nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (MDG-206A) y la 6-cloropurina (MDG-884A2, MDG-884B, MDG-884C, MDG-884D).**

Los compuestos **MDG-884** se prepararon aplicando el método descrito en el apartado 5.3.1.1. para la reacción entre **MDG-430A** y 5-FU. Como producto de partida se utilizó **MDG-206A** y como base nitrogenada la 6-cloropurina. Se utilizaron los reactivos en las relaciones allí descritas y se preparó la mezcla de reacción de la misma forma. Tras 69 h de reacción a 50 °C, neutralización de la disolución, extracción de la fase acuosa y filtración, los productos finales se purificaron mediante cromatografía flash con elución en gradiente, para la cual pudieron utilizarse tanto mezclas EtOAc/hexano como acetona/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Las proporciones de los disolventes adecuadas para la elución de cada uno de los productos finales y algunas características de estos productos, se exponen en la Tabla 5.7.

**Tabla 5.7.** Productos obtenidos en la reacción de formación de *O,N*-acetales a partir de **MDG-206A** y 6-cloropurina.

		<b>884A2</b>	<b>884A3</b>	<b>884B</b>	<b>884C</b>	<b>884D</b>
<b>Elución en cromatografía flash</b>	EtOAc/hexano	1/1	1/2	3/1	3/1	1/0
	Acetona/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0/1	0/1	1.2/10	1.3/10	1/3
<b>R<sub>f</sub></b>	EtOAc/hexano	ND	ND	3/1 0.24	ND	ND
	MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.5/10 0.63	0.5/10 0.56	ND	0.5/10 0.53	0.5/10 0.48
<b>Aspecto</b>		Sólido blanco	Sólido amarillo	Sólido blanco	Sólido blanco	Sólido blanco
<b>p.f. (°C)</b>		123.3-125.0	ND*	220.0-221.0	89.3-90.0	88.0-89.0
<b>Rendimiento</b>		2%	2%	32%	7%	6%

\*Dato no determinado por no disponerse del producto en cantidad suficiente.

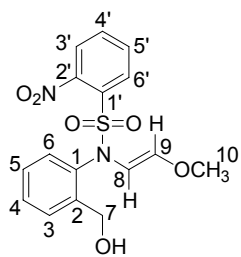
**MDG-884A2.** (*RS*)-9-[1-(2-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-cloro-9*H*-purina.

**<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 8.89 (s, 1H, H-8''), 8.81 (s, 1H, H-2''), 8.12 (dd,  $J_{3'-4'} = 7.9$  Hz,  $J_{3'-5'} = 0.6$  Hz, 1H, H-3'), 8.08 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H, H-6'), 8.01 (ddd,  $J_{4'-3'} = J_{4'-5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4'-6'} = 0.9$  Hz, 1H, H-4'), 7.92 (t,  $J_{5'-4'} = J_{5'-6'} = 7.7$  Hz, 1H, H-5'), 7.55 (dd,  $J_{7-8} = 6.8$  Hz,  $J_{7-9} = 2.0$  Hz, 1H, H-7), 7.42 (m, 1H, H-8), 7.39 (m, 1H, H-9), 7.08 (dd,  $J_{10-9} = 7.1$  Hz,  $J_{10-8} = 1.7$  Hz, 1H, H-10), 6.18 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.0$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.5$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.94 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.8$  Hz, 1H, H-5), 4.86 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.7$  Hz, 1H, H-5), 4.61 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 1.6$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.33 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 15.1$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.2$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ). **<sup>13</sup>C-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): δ (ppm) 152.03 (CH-2''), 151.26 (C-4''), 149.47 (C-6''), 147.28 (C-2'), 145.56 (CH-8''), 138.72 (C-11), 137.49 (C-6), 135.57 (CH-4'), 133.25 (CH-5'), 132.02 (C-1'), 130.88 (C-5''), 130.47 (CH-6'), 130.29 (CH-7), 129.61 (CH-9), 128.82 (CH-8), 127.69 (CH-10), 125.19 (CH-3'), 83.98 (CH-3), 70.11 (CH<sub>2</sub>-5), 53.15 (CH<sub>2</sub>-2). (Asignación protones y carbonos y determinación de la unión N9'', mediante HMBC y HMQC en DMSO-*d*<sub>6</sub>).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>NaSCl (M+Na)<sup>+</sup> 509.0411. Encontrado 509.0416 (desviación -1.1 ppm).



**MDG-884A3.** *N*-(2-Hidroximetilfenil)-*N*-(2-metoxivinil)-2-nitrobencénsulfonamida.



Acetona- $d_6$ , t.a.: Isómero mayoritario, *Z* (54%), isómero minoritario, *E* (46%).  $^1\text{H-RMN}$  (Acetona- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.98-7.75 (m, 4H, 4<sup>m</sup>H), 7.70 (dd,  $J_1 = 7.8$  Hz,  $J_2 =$  no det., 1<sup>m</sup>H), 7.63 (dd,  $J_1 = 7.7$  Hz,  $J_2 =$  no det., 1H), 7.43 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 1.3$  Hz, 1H o 1<sup>m</sup>H), 7.36 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.5$  Hz,  $J_3 = 1.3$  Hz, 1H o 1<sup>m</sup>H), 7.22 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.6$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H o 1<sup>m</sup>H), 7.16 (ddd,  $J_1 = J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.7$  Hz, 1H o 1<sup>m</sup>H), 7.03 (dd,  $J_1 = 7.9$  Hz,  $J_2 = 1.3$  Hz, 1H), 6.90 (dd,  $J_1 = 7.9$  Hz,  $J_2 = 1.2$  Hz, 1<sup>m</sup>H), 6.36 (d,  $J_{8-9} = 11.3$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8 o <sup>m</sup>H-9), 6.22 (d,  $J_{8-9} = 11.4$  Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8 o <sup>m</sup>H-9), 5.95 (d,  $J_{8-9} = 4.5$  Hz, 1H, H-8 o H-9), 5.61 (d,  $J_{8-9} = 4.5$  Hz, 1H, H-8 o H-9), 4.76 y 4.71 (2s, 4H, 2H-7, 2<sup>m</sup>H-7), 3.58 (s, 3H, <sup>m</sup>H-10), 3.43 (s, 3H, H-10).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{NaS}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> 387.0627. Encontrado 387.0638 (desviación -2.8 ppm).

**MDG-884B.** (*RS*)-7-[1-(2-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-cloro-7*H*-purina.

$^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 9.00 (s, 1H, H-8''), 8.86 (s, 1H, H-2''), 8.12-8.08 (m, 2H, H-3', H-6'), 8.00 (ddd,  $J_{4'-3'} = J_{4'-5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.5$  Hz, 1H, H-4'), 7.91 (ddd,  $J_{5'-4'} = J_{5'-6'} = 7.7$  Hz,  $J_{5'-3'} = 1.4$  Hz, 1H, H-5'), 7.53 (m, 1H, H-7), 7.44-7.38 (m, 2H, H-8, H-9), 7.19 (m, 1H, H-10), 6.34 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.0$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.8$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.92 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.8$  Hz, 1H, H-5), 4.83 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha} = 15.0$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 1.9$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.74 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.8$  Hz, 1H, H-5), 4.27 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 15.0$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.1$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).  $^{13}\text{C-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 161.41 (C-4''), 152.22 (CH-2''), 148.00 (CH-8''), 147.23 (C-2'), 142.27 (C-6''), 138.53 (C-11), 137.23 (C-6), 135.54 (CH-4'), 133.16 (CH-5'), 131.97 (C-1'), 130.29 y 130.10 (CH-6', CH-7), 129.53 (CH-9), 128.79 (CH-8), 128.06 (CH-10), 125.06 (CH-3'), 121.43 (C-5''), 84.49 (CH-3), 69.59 (CH<sub>2</sub>-5), 53.06 (CH<sub>2</sub>-2). (Asignación protones y carbonos y determinación de la unión N7'', mediante HMBC y HMQC en DMSO- $d_6$ ).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}_5\text{NaSCl}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> 509.0411. Encontrado 509.0414 (desviación -0.7 ppm).

**MDG-884C.** (RS)-9-{2-[N-(2-Hidroximetilfenil)-2-nitrobencénsulfonamido]-1-metoxi\_etil}-6-cloro-9H-purina.

DMSO-*d*<sub>6</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (53%), confórmero minoritario (47%). **<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.99 (2s, 2H, H-8'', <sup>m</sup>H-8''), 8.90 (s, 1H, H-2'' o <sup>m</sup>H-2''), 8.86 (s, 1H, H-2'' o <sup>m</sup>H-2''), 8.13-8.02 (m, 4H, H-4', <sup>m</sup>H-4', 2H-3' o bien 2H-5'), 7.93-7.84 (m, 2H, 2H-3' o 2H-5'), 7.77 (d, *J*<sub>6'-5'</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-6' o <sup>m</sup>H-6'), 7.69-7.61 (m, 3H, H-6' o <sup>m</sup>H-6', H-6, <sup>m</sup>H-6), 7.55-7.45 (m, 2H, H-5, <sup>m</sup>H-5), 7.33 (ddd, *J*<sub>4-3</sub> = *J*<sub>4-5</sub> = 7.6 Hz, *J*<sub>4-6</sub> = 1.3 Hz, 1H, <sup>m</sup>H-4), 7.20 (ddd, *J*<sub>4-3</sub> = *J*<sub>4-5</sub> = 7.6 Hz, *J*<sub>4-6</sub> = 1.2 Hz, 1H, H-4), 7.11 (d, *J*<sub>3-4</sub> = 7.7 Hz, 1H, <sup>m</sup>H-3), 6.81 (d, *J*<sub>3-4</sub> = 7.5 Hz, 1H, H-3), 5.98 (pt, *J*<sub>9-8</sub> = 6.2 Hz, 1H, H-9), 5.89 (pt, *J*<sub>9-8</sub> = 6.0 Hz, 1H, <sup>m</sup>H-9), 5.25 (ba), 4.78-4.69 (m, 2H, H-8, <sup>m</sup>H-8), 4.63-4.46 (m, 4H, H-7, <sup>m</sup>H-7, H-8, <sup>m</sup>H-8), 4.33 (d, *J*<sub>gem 7-7</sub> = 14.0 Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.25 (d, *J*<sub>gem 7-7</sub> = 14.1 Hz, 1H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 3.33 (s, 6H, H-10, <sup>m</sup>H-10). **<sup>13</sup>C-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 151.81 (C-4'', <sup>m</sup>C-4''), 151.71 (CH-2'', <sup>m</sup>CH-2''), 149.26 (C-6'', <sup>m</sup>C-6''), 147.44 (C-2', <sup>m</sup>C-2'), 145.90 y 145.75 (CH-8'', <sup>m</sup>CH-8''), 142.40 (<sup>m</sup>C-1), 141.92 (C-1), 135.32 (CH-4', <sup>m</sup>CH-4'), 134.49 (C-2), 134.18 (<sup>m</sup>C-2), 132.12 y 132.05 (2CH-3' o bien 2CH-5'), 131.19 y 131.09 (C-5'', <sup>m</sup>C-5''), 130.73 (CH-6', <sup>m</sup>CH-6'), 129.62 y 129.25 (C-1', <sup>m</sup>C-1'), 129.43 (<sup>m</sup>CH-3), 129.08 y 128.96 (CH-3, CH-5, <sup>m</sup>CH-5), 128.59 (<sup>m</sup>CH-6), 128.42 (CH-6), 127.47 (<sup>m</sup>CH-4), 127.17 (CH-4), 124.10 (2CH-3' o 2CH-5'), 85.08 (CH-9), 84.21 (<sup>m</sup>CH-9), 58.29 (CH<sub>2</sub>-7, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-7), 56.17 (CH<sub>3</sub>-10, <sup>m</sup>CH<sub>3</sub>-10), 53.83 y 53.16 (CH<sub>2</sub>-8, <sup>m</sup>CH<sub>2</sub>-8). (Asignación protones y carbonos y determinación de la unión N9, mediante HMBC y HMQC en DMSO-*d*<sub>6</sub>).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>NaSCl (M+Na)<sup>+</sup> 541.0673. Encontrado 541.0679 (desviación -0.9 ppm).

**MDG-884D.** (RS)-7-{2-[N-(2-Hidroximetilfenil)-2-nitrobencénsulfonamido]-1-metoxi\_etil}-6-cloro-7H-purina.

CDCl<sub>3</sub>, t.a.: Dos estructuras isómeras al 50%. **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.83 y 8.80 (2s, 2H), 8.52 y 8.47 (2s, 2H), 7.73-7.55 (m, 6H), 7.51-7.34 (m, 6H), 7.17 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.7 Hz, 1H), 7.13 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.6 Hz, 1H), 6.84 (pt, *J* = 7.3 Hz, 2H), 6.25 (dd, *J*<sub>9-8</sub> = 7.3 Hz, *J*<sub>9-8</sub> = 4.9 Hz, 1H, H-9), 6.03 (dd, *J*<sub>9-8</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>9-8</sub> = 3.6 Hz, 1H, <sup>m</sup>H-9), 4.76 y 4.61 (2d<sub>sistema AB</sub>, *J*<sub>gem 7-7</sub> parte A = 12.5 Hz, *J*<sub>gem 7-7</sub> parte B = 12.4 Hz, 2H, 2H-7 o 2<sup>m</sup>H-7), 4.61 (dd, *J*<sub>gem 8-8</sub> = 14.7 Hz, *J*<sub>8-9</sub> = 8.3 Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8),

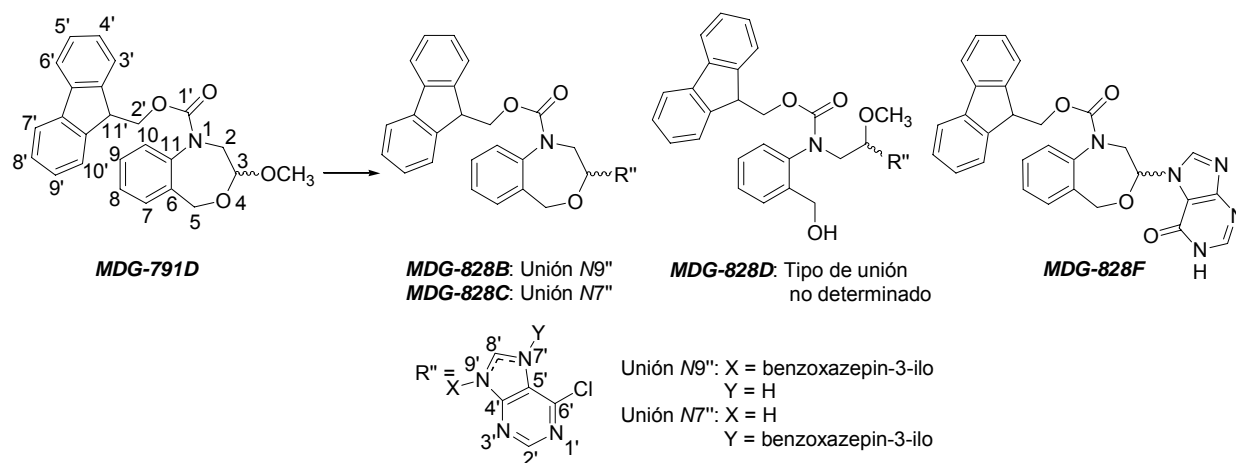
4.51 y 4.46 (2d<sub>sistema AB</sub>,  $J_{\text{gem } 7-7}$  parte A = 12.1 Hz, 2H, H-7 o <sup>m</sup>H-7), 4.46 (dd,  $J_{9-8}$  = 4.8 Hz, 1H, H-8), 4.28 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8}$  = 15.0 Hz,  $J_{8-9}$  = 7.6 Hz, 1H, H-8), 4.01 (dd,  $J_{\text{gem } 8-8}$  = 14.6 Hz,  $J_{8-9}$  = 3.6 Hz, 1H, <sup>m</sup>H-8), 3.44 (s, 3H, H-10 o <sup>m</sup>H-10), 3.37 (s, 3H, H-10 o <sup>m</sup>H-10).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>NaCl (M+Na)<sup>+</sup> 541.0673. Encontrado 541.0679 (desviación -0.9 ppm).

**Anál. elem.:** Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Cl+0.26H<sub>2</sub>O: C, 48.17; H, 3.76; N, 16.05; S, 6.12. Encontrado: C, 48.31; H, 3.42; N, 15.65; S, 5.74.

### 5.3.6. Reacción de (RS)-N-oxicarbonil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas con purinas mediada por ácidos de Lewis.

5.3.6.1. Síntesis de O,N-acetales a partir de la (RS)-1-(9H-9-fluorenilmetoxicarbonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina (**MDG-791D**) y la 6-cloropurina (**MDG-828B**, **MDG-828C**, **MDG-828D**, **MDG-828F**).



Los compuestos **MDG-828** se prepararon aplicando el método descrito en el apartado 5.3.1.1. para la reacción entre **MDG-430A** y 5-FU pero se utilizaron distintas proporciones de reactivos. Partiendo del compuesto **MDG-791D** (1.0 equiv.) y de la base nitrogenada 6-cloropurina (1.2 equiv.) se adicionaron HMDS (1.2 equiv.), TCS (1.2 equiv.) y SnCl<sub>4</sub> (1.5 equiv.). Tras 48 h de reacción a 50 °C, neutralización de la disolución con NaHCO<sub>3</sub> (10%) y extracción de la fase acuosa (EtOAc y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), los

productos finales se purificaron mediante cromatografía flash con elución en gradiente (mezclas EtOAc/hexano). Las proporciones de los disolventes adecuadas para la elución de cada uno de los productos finales y algunas características de estos productos, se exponen en la Tabla 5.8.

**Tabla 5.8.** Productos obtenidos en la reacción de formación de *O,N*-acetales a partir de **MDG-791D** y 6-cloropurina.

		<b>828B</b>	<b>828C</b>	<b>828D</b>	<b>828F</b>
<b>Elución en cromatografía flash</b>	EtOAc/hexano	1/1	1.5/1	1.5/1	-
	Acetona	-	-	-	1
<b>R<sub>f</sub></b>	EtOAc/hexano	2/1 0.71	2/1 0.32	2/1 0.29	ND
	Acetona	ND	ND	ND	1 0.25
<b>Aspecto</b>		Sólido blanco	Sólido blanco	Sólido amarillo	Sólido amarillo claro
<b>p.f. ( °C)</b>		86-88.0	94.3-95.3	104.6.105.6	134.8*
<b>Rendimiento</b>		12%	18%	6%	10%

\*Funde con descomposición.

**MDG-828B.** (RS)-9-[1-(9H-9-Fluorenilmetoxicarbonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-cloro-9H-purina.

<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 60 °C, 300 MHz): δ (ppm) 8.76 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 8.74 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 7.74 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.42-7.15 (m, 10H), 6.03 (da, *J*<sub>3β-2</sub> = 9.2 Hz, 1H, H-3β), 4.82 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 14.0 Hz, 1H, H-5), 4.71 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 14.0 Hz, 1H, H-5), 4.60-4.48 (m, 3H, H-2β, 2H-2'), 4.20 (ta, *J*<sub>11'-2'</sub> = 5.9 Hz, 1H, H-11'), 3.91 (dd, *J*<sub>gem 2α-2β</sub> = 14.3 Hz, *J*<sub>2α-3β</sub> = 9.8 Hz, 1H, H-2α).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>29</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>NaCl (M+Na)<sup>+</sup> 546.1309. Encontrado 546.1299 (desviación +1.7 ppm).

**MDG-828C.** (RS)-7-[1-(9H-9-Fluorenilmetoxicarbonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-cloro-7H-purina.

**<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 60 °C, 300 MHz): δ (ppm) 8.86 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 8.83 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 7.71 (da, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.65 (da, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.46-7.13 (m, 10H), 6.08 (da, *J*<sub>3β-2</sub> = 8.3 Hz, 1H, H-3β), 4.78 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.9 Hz, 1H, H-5), 4.64 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.9 Hz, 1H, H-5), 4.61-4.50 (m, 3H, H-2β, 2H-2'), 4.20 (ta, *J*<sub>11'-2'</sub> = 5.5 Hz, 1H, H-11'), 3.75 (dd, *J*<sub>gem 2α-2β</sub> = 14.2 Hz, *J*<sub>2α-3β</sub> = 9.5 Hz, 1H, H-2α).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>29</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>NaCl (M+Na)<sup>+</sup> 546.1309. Encontrado 546.1304 (desviación +0.9 ppm).

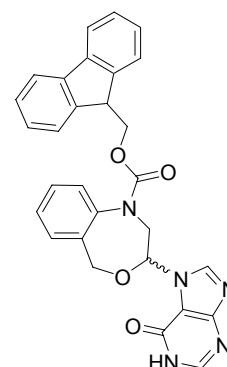
**MDG-828D.** (RS)-7/9-{2-[N-(9H-9-Fluorenilmetoxicarbonil)-N-(2-hidroximetilfenil)]\_amino]-1-metoxietil}-6-cloro-7/9H-purina.

DMSO-*d*<sub>6</sub>, t.a.: Confórmero mayoritario (53%), confórmero minoritario (47%). **<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 8.91, 8.85, 8.76 y 8.66 (4s, 4H, 2H-2'', 2H-8''), 7.77-6.37 (m, H-aromáticos), 5.94-5.89 (m, 2H, 2H-9), 5.29-5.11 (m, 2H), 4.54-3.84 (m, 14H), 3.17 y 3.16 (2s, H-10).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>NaCl (M+Na)<sup>+</sup> 578.1571. Encontrado 578.1582 (desviación -1.9 ppm).

**MDG-828F.** (RS)-7-[1-(9H-9-Fluorenilmetoxicarbonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-1,7-dihidropurin-6-ona.

DMSO-*d*<sub>6</sub>, 80 °C: **<sup>1</sup>H-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 80 °C, 400 MHz): δ (ppm) 8.27 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 8.23 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 7.75-7.71 (m, 2H), 7.42-7.39 (m, 2H), 7.35-7.26 (m, 4H), 7.21 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.5 Hz, *J*<sub>3</sub> = 0.9 Hz, 1H), 7.16 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.4 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.0 Hz, 1H), 6.45 (sa, 2H), 5.97 (da, *J*<sub>9-8</sub> = 7.2 Hz, 1H, H-3β), 4.84 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 14.0 Hz, 1H, H-5), 4.80 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 14.1 Hz, 1H, H-5), 4.60 (dd, *J*<sub>gem 2'-2'</sub> = 10.6 Hz, *J*<sub>2'-11'</sub> = 5.9 Hz, 1H, H-2'), 4.50 (dd, *J*<sub>gem 2'-2'</sub> = 10.5 Hz, *J*<sub>2'-11'</sub> = 6.0 Hz, 1H, H-2'), 4.34 (da, *J* = 14.1 Hz, 1H, H-2β), 4.20 (t, *J*<sub>11'-2'</sub> = 5.8 Hz, 1H, H-11'), 3.49 (dd, *J*<sub>gem 2α-2β</sub> = 14.5 Hz, *J*<sub>2α-3β</sub> = 9.5 Hz, 1H, H-2α). **<sup>13</sup>C-RMN** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, t.a., 75 MHz): δ (ppm) 159.98, 153.93, 151.15, 140.71, 135.11 y 110.07 (C-cuaternarios), 152.74 y 143.50 (CH-2'', CH-8''), 129.15, 127.57, 126.96, 126.87, 124.82

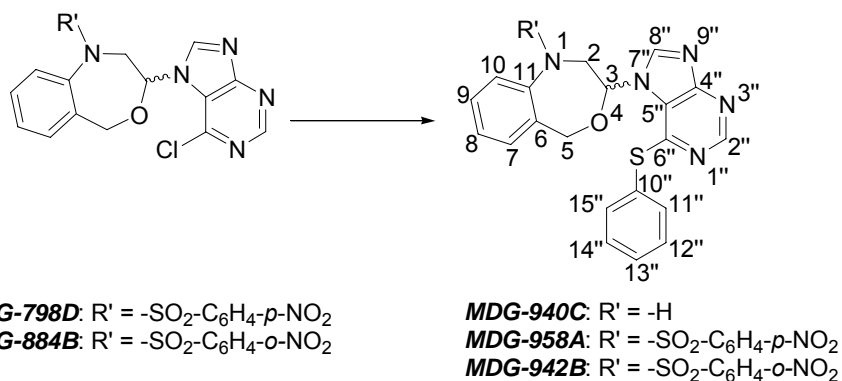


y 120.01 (CH-aromáticos), 83.87 (CH-3), 68.82, 67.18 y 52.27 (CH<sub>2</sub>-5, CH<sub>2</sub>-2, CH<sub>2</sub>-2'), 46.54 (CH-11').

**HRMS LSIMS *m/z***: Calculado para C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (M)<sup>+</sup> 505.1705. Encontrado 505.1752 (desviación -0.4 ppm).

### 5.3.7. Modificación estructural de *O,N*-acetales de tetrahidrobenzoxazepinas y 6-cloropurina.

#### 5.3.7.1. Tratamiento de los derivados nitrobenzénsulfonilo con tiofenol. Síntesis de 6-feniltiopurinas sustituidas en posición 7.



#### 5.3.7.1.a. (*RS*)-7-(1,2,3,5-Tetrahydro-4,1-benzoxazepin-3-il)-6-feniltio-7*H*-purina (**MDG-940C**).

La reacción, a partir de **MDG-884B**, se llevó a cabo de la forma descrita en el apartado 5.2.1.1.n. para la preparación de **MDG-484D** utilizando 2 equiv. de PhSH. Tras 40 min de agitación a t.a. se comprobó la desaparición del producto de partida mediante CCF por lo que se aplicó a la reacción el tratamiento indicado en el apartado 5.2.1.1.n. y se purificó el único producto final (**MDG-940C**) a la vez que se eliminaron los restos de DMF mediante cromatografía flash. Para ello se utilizaron mezclas EtOAc/hexano en gradiente desde 0/1 hasta 1/0. Se obtuvo **MDG-940C**, sólido blanco, p.f. 90.0-91.3 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc) = 0.17, rendimiento 89%.

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.76 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 8.56 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 7.65-7.59 (m, 2H, Ph-S), 7.50-7.44 (m, 3H, Ph-S), 7.25-7.20 (m, 2H), 6.97 (ddd, J<sub>1</sub> =

$J_2 = \text{no det.}$ ,  $J_3 = \text{no det.}$ , 1H), 6.89 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.45 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 6.9$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.1$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.92 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 14.2$  Hz, 1H, H-5), 4.88 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 14.1$  Hz, 1H, H-5), 4.16 (ba, 1H, NH-1), 3.95 (da,  $J = 13.2$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 3.48 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 13.4$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 6.9$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 159.24 (C-4''), 153.01 (CH-2'' o CH-8''), 152.71, 148.27 (C-6'', C-11), 145.58 (CH-8'' o CH-2''), 135.39 (2CH, PhS), 129.89, 129.64, 129.59, 129.42, 121.82 y 118.97 (CH-aromáticos), 128.38, 126.98 y 121.99 (C-6, C-5'', C-10''), 87.09 (CH-3), 70.53 (CH<sub>2</sub>-5), 53.49 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS**  $m/z$ : Calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{OSNa}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> 398.1052. Encontrado 398.1051 (desviación +0.2 ppm).

#### **5.3.7.1.b. (RS)-7-[1-(*p*-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-feniltio-7*H*-purina (MDG-958A).**

**MDG-958A** se preparó a partir de **MDG-798D**, siguiendo el método aplicado para la preparación de **MDG-484D** (apartado 5.2.1.1.n.). En este caso, se utilizaron 0.8 equiv. de PhSH y 1.6 equiv. de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  para 1.0 equiv. de **MDG-798D**. Tras 40 min de agitación a t.a., se apreciaron únicamente trazas de producto de partida mediante CCF, por lo que se detuvo la reacción y se realizó el tratamiento de la misma de la forma descrita en el apartado 5.2.1.1.n. La purificación de los productos finales y la eliminación de los restos de DMF se realizó mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas  $(\text{CH}_3)_2\text{CO}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  desde 0/1 hasta 1/0). **MDG-958A** se eluyó con mezcla 2/10, en forma de sólido blanco con rendimiento 36% [p.f. 116.8-117.5 °C,  $R_f$  (EtOAc) = 0.57]. Utilizando una mezcla 1/1, se eluyó **MDG-940C** (rendimiento 37%, descripción en apartado 5.3.7.1.a.).

**$^1\text{H-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (ppm) 8.79 (s, 1H, H-8'' o H-2''), 8.34 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H, H-3', 5'), 8.19 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 8.02 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H, H-2', 6'), 7.66-7.63 (m, 2H), 7.54-7.50 (m, 3H), 7.45-7.33 (m, 4H), 6.50 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.0$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 2.0$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.92 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha} = 14.5$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 2.0$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.78 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.8$  Hz, 1H, H-5), 4.63 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.7$  Hz, 1H, H-5), 3.73 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 14.6$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.0$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 583.0834. Encontrado 583.0830 (desviación +0.7 ppm).

**5.3.7.1.c. (RS)-7-[1-(o-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-feniltio-7H-purina (MDG-942B).**

El compuesto **MDG-942B** se preparó a partir de **MDG-884B**, de la forma descrita para la preparación de **MDG-484D** (apartado 5.2.1.1.n.) utilizando 0.8 equiv. de PhSH y 1.6 equiv. de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> para 1.0 equiv. de sustrato **MDG-884B**. Se mantuvo la agitación a temperatura ambiente durante 40 min, tras los cuales se comprobó la permanencia de cierta cantidad del compuesto de partida mediante CCF. Se detuvo la reacción y se purificó el único producto final (**MDG-942B**) a la vez que se eliminaron los restos de DMF mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezclas EtOAc/hexano desde 0/1 hasta 2/1). Se obtuvo **MDG-942B** con aspecto de sólido blanco, (p.f. 131.9-132.3 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc) = 0.34, rendimiento 61%).

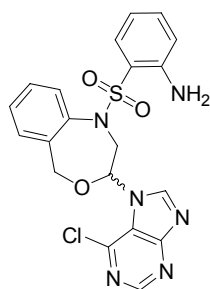
**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.77 (s, 1H, H-8'' o H-2''), 8.23 (s, 1H, H-2'' o H-8''), 7.92 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7.4 Hz, *J*<sub>2</sub> = no det., 1H), 7.79-7.75 (m, 2H), 7.70-7.59 (m, 3H), 7.49-7.43 (m, 4H), 7.39 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.4 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.1 Hz, 1H), 7.28 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.6 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.8 Hz, 1H), 7.00 (da, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.59 (dd, *J*<sub>3β-2α</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>3β-2β</sub> = 2.0 Hz, 1H, H-3β), 5.20 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.6 Hz, 1H, H-5), 4.91 (dd, *J*<sub>gem 2β-2α</sub> = 14.6 Hz, *J*<sub>2β-3β</sub> = 2.0 Hz, 1H, H-2β), 4.90 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.6 Hz, 1H, H-5), 3.82 (dd, *J*<sub>gem 2α-2β</sub> = 14.7 Hz, *J*<sub>2α-3β</sub> = 10.0 Hz, 1H, H-2α). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 159.24 (C-4''), 153.32 (C-6''), 153.21 (CH-2'' o CH-8''), 147.98 (C-2'), 144.16 (CH-8'' o CH-2''), 138.55, 138.42, 133.58, 127.23 y 122.24 (C-11, C-1', C-10'', C-6, C-5''), 135.49 (2C, PhS), 134.67, 132.19, 132.15, 130.40, 129.83, 129.66, 129.54, 128.37 y 124.87 (CH-aromáticos), 86.84 (CH-3), 71.17 (CH<sub>2</sub>-5), 54.82 (CH<sub>2</sub>-2).

**HRMS LSIMS** *m/z*: Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> 583.0834. Encontrado 583.0833 (desviación +0.3 ppm).



**5.3.7.2. Tratamiento de derivados nitrobenzénsulfonilo con SnCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O. Síntesis de derivados aminobencénsulfonilo.**

**5.3.7.2.a. (RS)-7-[1-(2-Aminobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-6-cloro-7H-purina (MDG-953C).**



El compuesto **MDG-953C** se preparó a partir de **MDG-884B** siguiendo el método descrito para la síntesis de **MDG-858B** (apartado 5.2.1.2.d.ii.). La reacción se mantuvo 1 h a reflujo y, tras enfriarla a 0 °C, se neutralizó la disolución (NaHCO<sub>3</sub> 10%) y se extrajo la fase acuosa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y EtOAc. El residuo resultante del secado (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtración y evaporación de los disolventes orgánicos se purificó mediante cromatografía flash. Se pudieron utilizar mezclas EtOAc/hexano en gradiente desde 1/3 hasta 2/1 o bien MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 0.2/10. El producto final **MDG-953C** se obtuvo en forma de sólido blanco con un rendimiento del 58% [p.f. 170.7-172.0 °C, R<sub>f</sub> (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 0.4/10) = 0.24].

**<sup>1</sup>H-RMN** (Acetona-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 8.80 (s, 1H, H-8'' o H-2''), 8.77 (s, 1H, H-8'' o H-2''), 8.34 (sa, 1H, NH<sub>2</sub>), 8.19 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, NH<sub>2</sub>), 7.66-7.56 (m, 3H), 7.44 (m, 4H), 6.93 (ddd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.5 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.7 Hz, 1H), 6.46 (dd, *J*<sub>3β-2α</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>3β-2β</sub> = 1.9 Hz, 1H, H-3β), 5.04 (dd, *J*<sub>gem 2β-2α</sub> = 14.9 Hz, *J*<sub>2β-3β</sub> = 2.0 Hz, 1H, H-2β), 4.82 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.6 Hz, 1H, H-5), 4.73 (d, *J*<sub>gem 5-5</sub> = 13.5, 1H, H-5), 4.01 (dd, *J*<sub>gem 2α-2β</sub> = 14.9 Hz, *J*<sub>2α-3β</sub> = 10.1 Hz, 1H, H-2α). **<sup>13</sup>C-RMN** (Acetona-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz): δ (ppm) 153.06 y 147.92 (CH-2'', CH-8''), 149.78, 140.33, 138.71, 122.86 (C-cuaternarios), 135.96, 130.74, 130.63, 130.13, 129.82, 129.30, 120.41 y 115.68 (CH-aromáticos), 85.51 (CH-3), 71.05 (CH<sub>2</sub>-5), 53.84 (CH<sub>2</sub>-2).

**MS LSIMS** *m/z* (intensidad relativa) 482 (7), 481 (M<sup>+</sup>+2H+Na<sup>+</sup>, 100), 479 (M<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>, 23), 463 (21).

5.3.7.3. Formación de 6-purinonas a partir de *O,N*-acetales conteniendo restos de 6-cloropurina. Estudio de la cinética de cambio Cl → OH.

5.3.7.3.a. *O,N*-Acetales de 6-cloro-7*H*-purin-7-ilo.

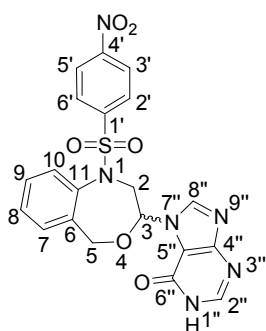
5.3.7.3.a.i. *O,N*-Acetales cíclicos.

1-(Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas.

Se prepararon sendas disoluciones 27 mM de los derivados de 6-cloropurina **MDG-798D** y **MDG-884B** en DMSO-*d*<sub>6</sub> (16 mM de H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O) que se mantuvieron a 4 °C. Los cambios en las mismas se observaron mediante el registro periódico de espectros <sup>1</sup>H-RMN. Transcurridos 3 días, se observó la coexistencia de **MDG-884B** con un nuevo producto (**MDG-884B2**) ya en proporción ligeramente superior. Tras 1 semana desde la preparación de las disoluciones la desaparición de **MDG-884B** era completa y, sin embargo, en la disolución de **MDG-798D**, no se observaron alteraciones. Un espectro <sup>1</sup>H-RMN registrado aproximadamente un mes después de la preparación de las muestras mostró la desaparición completa de **MDG-798D** y la aparición de un único producto **MDG-798D2**.

Por otro lado, se prepararon disoluciones 10 μM de **MDG-798D** y **MDG-884B** en DMSO-*d*<sub>6</sub> (1 mL) y en DMSO-*d*<sub>6</sub> (50 μL)/H<sub>2</sub>O (0.95 mL). Los cambios en las mismas se observaron mediante CCF. **MDG-884B** desapareció a las 44 h de la disolución DMSO-*d*<sub>6</sub>/H<sub>2</sub>O y a los 5 días de la disolución DMSO-*d*<sub>6</sub>. En cambio **MDG-798D** seguía presente en ambas disoluciones, tras 6 días desde su preparación.

**MDG-798D2.** (*RS*)-7-[1-(4-Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-1,7-dihidropurin-6-ona. Sólido blanco, p.f. 171.8-172.6 °C, R<sub>f</sub> (EtOAc) = 0.2.



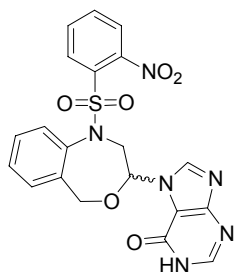
<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ (ppm) 12.50 (sa, 1H, NH-1''), 8.45 (s, 1H, H-8''), 8.41 (d, *J*<sub>3'-2'</sub> = *J*<sub>5'-6'</sub> = 8.8 Hz, 2H, H-3', 5'), 8.15 (d, *J*<sub>2'-3'</sub> = *J*<sub>6'-5'</sub> = 8.8 Hz, 2H, H-2', 6'), 8.02 (s, 1H, H-2''), 7.46-7.36 (m, 3H, H-7, H-9, H-8), 7.27 (dd, *J*<sub>10-9</sub> = no det., *J*<sub>10-8</sub> = 1.8 Hz, 1H,

H-10), 6.32 (da,  $J_{3-2} = 8.7$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.76 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.9$  Hz, 1H, H-5), 4.68 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha} = \text{no det.}$ ,  $J_{2\beta-3\beta} = \text{no det.}$ , 1H, H-2 $\beta$ ), 4.29 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.9$  Hz, 1H, H-5), 4.10 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 14.9$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.3$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 157.03 (C-4''), 153.97 (C-6''), 150.12 (C-4'), 145.52 (C-1'), 145.06 (CH-2''), 142.04 (CH-8''), 138.53 (C-11), 137.00 (C-6), 129.99 (CH-7), 129.44 (CH-9), 128.59 (CH-2', CH-6'), 128.50 (CH-8), 127.92 (CH-10), 125.04 (CH-3', CH-5'), 114.03 (C-5''), 84.30 (CH-3), 69.45 (CH<sub>2</sub>-5), 53.23 (CH<sub>2</sub>-2). (Asignación protones y carbonos y determinación de la unión N7'', mediante HMBC y HMQC en DMSO- $d_6$ ).

**HRMS LSIMS  $m/z$ :** Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>NaS (M+Na)<sup>+</sup> 491.0750. Encontrado 491.0756 (desviación -1.2 ppm).

**884B2.** (RS)-7-[1-(2-Nitrobenzénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]-1,7-dihidropurin-6-ona. Sólido blanco, p.f. 215.0-217.0 °C, R<sub>f</sub> (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 0.5/10) = 0.39.

**$^1\text{H-RMN}$**  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 8.55 (s, 1H, H-8''), 8.09-8.05 (m, 2H, H-3', H-6'), 8.04 (s, 1H, H-2''), 7.97 (ddd,  $J_{4'-3'} = J_{4'-5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 7.88 (ddd,  $J_{5'-4'} = J_{5'-6'} = 7.7$  Hz,  $J_{5'-3'} = 1.2$  Hz, 1H, H-5'), 7.49 (dd,  $J_{7-8} = 7.1$  Hz,  $J_{7-9} = 1.9$  Hz, 1H, H-7), 7.41-7.33 (m, 2H, H-8, H-9), 7.04 (dd,  $J_{10-9} = 7.2$  Hz,  $J_{10-8} = 1.8$  Hz, 1H, H-10), 6.35 (dd,  $J_{3\beta-2\alpha} = 10.1$  Hz,  $J_{3\beta-2\beta} = 1.6$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 4.85 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.8$  Hz, 1H, H-5), 4.64 (d,  $J_{\text{gem } 5-5} = 13.7$  Hz, 1H, H-5), 4.53 (dd,  $J_{\text{gem } 2\beta-2\alpha} = 14.8$  Hz,  $J_{2\beta-3\beta} = 1.6$  Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.24 (dd,  $J_{\text{gem } 2\alpha-2\beta} = 14.9$  Hz,  $J_{2\alpha-3\beta} = 10.2$  Hz, 1H, H-2 $\alpha$ ).



**$^{13}\text{C-RMN}$**  (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  (ppm) 156.73 (C-4''), 153.81 (C-6''), 147.23 (C-2'), 145.28 (CH-2''), 142.11 (CH-8''), 138.47 (C-11), 137.58 (C-6), 135.45 (CH-4'), 133.09 (CH-5'), 132.14 (C-1'), 130.41 (CH-6'), 130.10 (CH-7), 129.40 (CH-9), 128.71 (CH-8), 127.83 (CH-10), 124.98 (CH-3'), 114.07 (C-5''), 85.02 (CH-3), 69.71 (CH<sub>2</sub>-5), 53.54 (CH<sub>2</sub>-2). (Asignación protones y carbonos y determinación de la unión N7'', mediante HMBC y HMQC en DMSO- $d_6$ ).

**HRMS LSIMS  $m/z$ :** Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>NaS (M+Na)<sup>+</sup> 491.0750. Encontrado 491.0749 (desviación +0.1 ppm).

1-(9H-9-Fluorenilmetoxycarbonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas.

Se preparó una disolución 28 mM en DMSO-*d*<sub>6</sub>, de **MDG-828C**. Ésta se llevó a 60 °C y a esa temperatura se registró su espectro <sup>1</sup>H-RMN. No se apreció la aparición de compuestos nuevos y mediante espectroscopía de masas se comprobó la estabilidad del átomo de cloro en la posición 6 de ésta purina.

**5.3.7.3.a.ii. O,N-Acetales acíclicos.**

1-(Nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas.

Se preparó una disolución 38 mM **MDG-884D** en DMSO-*d*<sub>6</sub> (D<sub>2</sub>O 0.03% m/V) que se mantuvo a 4 °C y cuya evolución se observó mediante <sup>1</sup>H-RMN. Tras 1 semana, se comprobó la formación una mezcla compleja de productos y, transcurrido 1 mes, la mezcla evolucionó hacia la formación de un compuesto mayoritario que, tras purificación, resultó ser **MDG-206A** (aproximadamente 38 mM).

**5.3.7.3.b. O,N-Acetales de 6-cloro-9H-purin-9-ilo.**

Se prepararon las siguientes disoluciones en DMSO-*d*<sub>6</sub>: 27 mM de **MDG-798C**, 38 mM de **MDG-798E**, 27 mM de **MDG-884A2** y 38 mM de **MDG-884C**, que se mantuvieron a 4 °C. Los cambios en las mismas se observaron mediante <sup>1</sup>H-RMN encontrándose, tras 1 mes, que las estructuras de los productos de partida no habían variado.

Se prepararon disoluciones en DMSO-*d*<sub>6</sub> (0.03 % H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O) de **MDG-828B** (28 mM) y de **MDG-828D\*** (12 mM), que se llevaron a 60 °C y 95 °C respectivamente y a esa temperatura se registró su espectro <sup>1</sup>H-RMN, sin apreciarse aparición de compuestos nuevos. Mediante espectroscopia de masas se comprobó la estabilidad del átomo de cloro en la posición 6'' de ambos compuestos.

---

\* El tipo de unión de este compuesto no ha podido ser determinado a partir de los datos espectroscópicos (véase Apartado 4.3.11.2. en Parte Teórica); sin embargo, dada su estabilidad podría tratarse del isómero N9''.

## **5.4. Evaluación de la actividad biológica.**

### **5.4.1. Cultivos celulares.**

La línea celular de cáncer de mama humano, MCF-7, sobre la que se han ensayado los compuestos preparados, ha sido suministrada por el Dr. Nicolás Olea (Instituto Sánchez Mora de Biología Tumoral, Hospital Universitario de Granada).

Los cultivos celulares se desarrollaron a una temperatura de 37 °C, en atmósfera con un 5% de dióxido de carbono. Como medio de cultivo se utilizó DMEM (medio de cultivo Eagle modificado por Dubelcco, Gibco, Grand Island, NY) complementado con un 10% de suero bovino fetal inactivado mediante calor (FBS, *acrónimo del inglés fetal bovine serum*, Gibco), un 2% de L-glutamina, un 2.7% de bicarbonato sódico, un 1% de tampón Hepes, 40 mg/L de gentamicina y 500 mg/L de ampicilina.

### **5.4.2. Tratamiento de las células con los productos finales sintetizados: Ensayos de citotoxicidad *in vitro*.**

Se prepararon disoluciones de los compuestos en estudio en DMSO o agua, que se conservaron a -20 °C. Para la realización de los experimentos, éstas se diluyeron en el medio de cultivo hasta la concentración adecuada, manteniéndose siempre una concentración final de DMSO carente de efecto sobre la replicación celular ( $\leq 0.5\%$  v/v)<sup>7</sup>.

Se prepararon partes alícuotas de una suspensión de células MCF-7, que se incubaron en placas con 24 pocillos, con una densidad de  $30 \times 10^3$  células/pocillo, durante 24 h. A continuación, las células se trataron con diferentes concentraciones de los compuestos en estudio. Tres días después, se reemplazó el medio de cultivo por otro fresco y se prolongó la incubación durante tres días más.

Cada concentración de los fármacos estudiados se ensayó en tres pocillos simultáneamente y cada experimento se llevó a cabo un mínimo de dos veces.

De forma paralela, se desarrollaron cultivos control en medio con DMSO.

El efecto de los productos estudiados, sobre la viabilidad celular, se estudió mediante ensayo colorimétrico con sulforodamina-B (SRB)<sup>8</sup>, utilizando un aparato Titerket Multiscan (Flor, Irving, California) a 492 nm.

Los datos de  $CI_{50}$  se calcularon a partir de curvas semilogarítmicas dosis-respuesta, mediante extrapolación lineal.

**Bibliografía.**

- 1 Díaz-Gavilán M., Rodríguez-Serrano F., Gómez-Vidal J.A., Marchal J.A., Aránega A., Gallo M.A., Espinosa A., Campos J.M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11547-11557.
- 2 a) Russell, J.; Linderman, S.B.; Petrich, S.R. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 336-337. b) Seiler, M.; Schumacher, A.; Lindemann, U.; Barbosa, F.; Giese, B. *Synlett* **1999**, *10*, 1588-1590. c) Curley, R.W.Jr.; Mershon, S.M.; Barnet, D.W.; Clagett-Dame, M.; Chapman, J.S. *PCT. Int. Appl.* **2003**, 51 pp. d) Mulzer, J.; Langer, O. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6540-6546.
- 3 a) Nishio, T.; Sekiguchi, H. *Heterocycles* **2002**, *58*, 203-212. b) Adelstein, G. W.; Jones, P. H.; Yen, C. H. *Eur. Pat. Appl.* **1986**, 108 pp. c) Quattropani, A.; Schwarz, M.; Jorand-Lebrun, C.; Church, D.; Scheer, A. *PCT Int. Appl.* **2002**, 187 pp. d) Chakravarty, A.K.; Dastidar, P.P.G.; Pakrashi, S. C. *Tetrahedron* **1982**, *38*(12), 1797-1802. e) Walker, G.N. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 6698-6699.
- 4 a) Pandey, V.K. *Current Science* **1986**, *55*(5), 243-246. b) Peet, N.P. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1987**, *24*(1), 223-225. c) Hoesch, L.; Dreiding A.S. *Helvetica Chimica Acta* **1975**, *58*(4), 980-1001. d) Calestani, G.; Capella, L.; Leardini, R.; Minozzi, M.; Nanni, D.; Papa, R.; Zanardi, G. *Tetrahedron* **2001**, *57*(33), 7221-7233.
- 5 a) Som, A.; Matile, S. *European Journal of Organic Chemistry* **2002**, *22*, 3874-3883. b) Vigorita, M. G.; Previtiera, T.; Saporito, G.; Costa de Pasquale, R.; Circosta, C.; Occhiuto, F. *Farmaco, Edizione Scientifica* **1984**, *39*(5), 403-413. c) Vigorita, M.G.; Saporito, G.; Nastasi, S.; Costa de Pasquale, R.; Occhiuto, F.; Circosta, C. *Farmaco, Edizione Scientifica* **1984**, *39*(9), 810-816. d) Piler, M.; Huebsch, W.J. *Monatshefte fuer Chemie* **1966**, *97*(6), 1541-1553.
- 6 Katritzky A.R. Yang B., Semenzin D. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 726-728. Siguiendo esta metodología, se preparó bajo atmósfera inerte una disolución de benzotriazol (secado en estufa) (1.0 equiv.) en THF anhidro (1 mL/mmol benzotriazol) que se enfrió a 0 °C. Sobre ella se goteó anhídrido trifluoroacético (1.5 equiv.) y se agitó la mezcla en frío durante 10 min antes de retirar el baño y mantener la t.a. durante 20 min. A continuación se eliminó el disolvente al rotavapor y el sólido blanco (1-trifluoroacetilbenzotriazol) resultante se lavó con hexano y se guardó hasta su utilización, protegido de la humedad.
- 7 Wang, J.L.; Liu, D.; Zhang, Z.J.; Shan, S.; Han, X.; Srinivasula, S.M.; Croce, C.M.; Alnemri, E.S.; Huang, Z. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, *97*, 7124-7129.
- 8 Villalobos, M.; Olea, N.; Brotons, J.A.; Olea-Serrano, M.F.; Ruiz de Almodóvar, J.M.; Pedraza, V. *Environ. Health Perspect.* **1995**, *9*, 844-849.





## **6. Conclusiones.**



## 6. Conclusiones.

- 1.- Los anillos (*RS*)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínicos se pueden preparar a partir del alcohol 2-aminobencílico, a través de una ruta sintética con cinco etapas que incluye una alquilación en las condiciones de Mitsunobu y una ciclación en medio ácido, hasta la obtención de las (*RS*)-3-metoxi-1-(nitrobencénsulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepinas, **MDG-430A** y **MDG-206A**. Éstos son intermedios sintéticos adecuados para la obtención del compuesto con nitrógeno libre **MDG-484D**, que a su vez permite la síntesis de los ciclos diversamente sustituidos sobre *N1*.
- 2.- Los anillos (*RS*)-2-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepínicos se pueden preparar a partir de 2-hidroxibenzaldehído, a través de una ruta sintética en tres etapas que incluye una aminación reductiva y una ciclación en medio ácido, hasta la obtención de la (*RS*)-2-metoxi-4-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-benzoxazepina, **MDG-292A**.
- 3.- La (*RS*)-1-(2-nitrobencénsulfonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina, **MDG-206A** y la (*RS*)-1-(4-nitrobencénsulfonil)-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepina, **MDG-430A**, son mejores sustratos para la reacción de condensación con bases nitrogenas mediada por ácidos de Lewis, que los derivados

(*RS*)-1-acil-3-metoxi-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepínicos. De los dos primeros, **MDG-206A** conduce a rendimientos ligeramente mayores de producto cíclico y, entre los derivados acilo, se obtienen mejores resultados a partir de compuestos con agrupaciones carbamato que carboxamida. El acetonitrilo, el ácido de Lewis tetracloruro de estaño y el desarrollo de la reacción a 50 °C, son las condiciones óptimas para la realización de la reacción sobre los sustratos nitrobencénsulfonílicos y la obtención de los correspondientes *O,N*-acetales.

4.- Como productos de la reacción de condensación de los *O,O*-acetales con estructura (*RS*)-3-metoxi-4,1-benzoxazepínica, **MDG-206A** y **MDG-430A**, con 5-FU o uracilo, en presencia de tetracloruro de estaño y en acetonitrilo, se obtienen productos finales *O,N*-acetálicos cíclicos y abiertos en proporciones distintas según la base nitrogenada utilizada. Los mejores rendimientos se obtienen a partir del uracilo. A partir de ambos sustratos, el 5-FU conduce a la formación de una mayor proporción de productos abiertos que de cíclicos, ocurriendo la situación contraria para el uracilo. En la reacción de condensación de estos mismos acetales con 6-cloropurina, las proporciones de los compuestos *O,N*-acetálicos cíclicos y abiertos que se obtienen, dependen del sustrato *O,O*-acetálico utilizado.

Como producto en la reacción de condensación del *O,O*-acetal con estructura (*RS*)-2-metoxi-1,4-benzoxazepínica, **MDG-292A**, con 5-FU, se obtiene únicamente el producto *O,N*-acetálico con estructura abierta.

5.- En acetonitrilo y en presencia de tetracloruro de estaño, el 5-FU se une a la posición acetálica preferentemente a través de su posición *N1''*, mientras que el uracilo lo hace a través de *N3''* o *N1''* en los productos cíclicos o abiertos, respectivamente. En las mismas condiciones, la 6-cloropurina se une a través de *N7''* en los productos cíclicos y a través de *N9''* en los productos abiertos.

6.- La determinación del tipo de unión que el 5-FU o el uracilo presentan en cada uno de los compuestos *O,N*-acetálicos obtenidos en esta Memoria, se deduce a partir de la multiplicidad observada para determinadas señales en los espectros <sup>1</sup>H-RMN o mediante experimentos NOE. La determinación del tipo de unión de las purinas se confirma a través de experimentos HMBC.

Además, existen características espectroscópicas (valores de desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento de determinados átomos de hidrógeno y carbono) que permiten, por comparación, distinguir el tipo de unión existente en cada uno de los miembros de un par de regioisómeros *O,N*-acetálicos.

- 7.- Los *O,N*-acetales abiertos con nitrógeno anilínico trisustituido aparecen como una mezcla de dos estructuras en los espectros de resonancia magnética nuclear registrados a t.a. y las señales de ambas coalescen al elevar la temperatura.
- 8.- La sustitución del átomo de cloro en posición 6'' de los anillos de purina, es más fácil cuando ésta se halla alquilada sobre *N7''* que sobre *N9''*. El cambio por un grupo hidroxilo, puede producirse bien a partir de las trazas de agua contenidas en dimetilsulfóxido deuterado a t.a, proceso que podría estar mediado por este disolvente, o bien en presencia de un ácido de Lewis, en acetonitrilo a 50 °C. La sustitución por ataque de nucleófilos fuertes (ej. tiofenol) no necesita la mediación de ningún activador.
- 9.- La sustitución de un átomo de oxígeno por nitrógeno en la mitad heterocíclica de estos benzoderivados, resulta beneficiosa para la actividad antiproliferativa y esta actividad se puede modular a través de los sustituyentes *R'* y *R''*. Los datos biológicos obtenidos para los compuestos finales preparados, permiten el establecimiento de las primeras relaciones estructura-actividad cualitativas.
- 10.- Los compuestos que presentan la mayor capacidad antiproliferativa sobre células de cáncer humano MCF-7 son los compuestos *O,N*-acetálicos derivados de 6-cloropurina y 6-feniltiopurina, con valores de  $CI_{50}$  inferiores a 1  $\mu$ M. Entre estos, son más activos los compuestos cíclicos que los abiertos. La presencia de un sustituyente *R'* es necesaria y, además, éste debe tener capacidad atrayente de electrones. Para los compuestos más activos, ***MDG-884A2***, ***MDG-828B***, ***MDG-828C*** y ***MDG-942B*** se llevarán a cabo estudios sobre modificación de marcadores moleculares de diferenciación y apoptosis.



## **7. Apéndice.**





Universidad de Granada  
Facultad de Farmacia  
Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica



## **SUMMARY OF THE DOCTORAL THESIS**

# **DESIGN AND SYNTHESIS OF BENZOXAZEPINES WITH ANTITUMOURAL ACTIVITY. INCREASE OF THE STRUCTURE DIVERSITY.**

**Mónica Díaz Gavilán**

**GRANADA 2005**



# **1. Introduction**



### **1.1. Anticancer therapy.**

Cancer can be defined as an uncontrolled growth of undifferentiated cells which can migrate within an organism, producing damage in tissues and organs.

In pluricellular beings, cell reproduction is a very strictly controlled process, which takes place only in very precisely determined moments in the life of the cell. In its control, a huge number of extra and intracellular regulators are implicated. Tumoural cells are able to avoid cell cycle control and apoptosis, growing insensitive to growth inhibition signals. Its origin consists of an accumulation of mutations which give rise to oncogene activation or anti-oncogene suppression and which alterate cell cycle control, damaged DNA processation or apoptosis mechanisms.

Nowadays, anticancer therapy develops according to different strategies, all of them focused on the suppression of malignant phenotypes. The new tendencies search for new targets with non-citotoxic consequences. Both the differentiation therapy and the apoptotic induction approach are acquiring a considerable weight between the different anticancer therapy alternatives.

## 1.2. Chemical background: Related compounds prepared in our Research Group.

The development of the 4,1- and 1,4-benzoxazepines which are described in this work is the result of the long experience of our Research Group in the preparation of nitrogen-base derivatives holding a wide variety of structural units, joined through aminalic bonds, in order to obtain 5-fluorouracil (5-FU) prodrugs or differentiation inductors.

The first *O,N*-acetals that were prepared in our group consisted of *seco*-nucleosides with the structures shown in Figure 2.1<sup>1,2</sup>. These are non-classical nucleosides in which the “sugar” is linear instead of cyclic as is usual. Among them, the isopropoxy **27** and **28** analogues were reported to exhibit antitumour activity against the HEp human cells, being 4-fold more active than 5-FU.

	R	X	Y	Base
<b>27</b>	<i>i</i> Pr	O	CH <sub>2</sub> OH	5-FU
<b>28</b>	<i>i</i> Pr	S	CH <sub>2</sub> OH	5-FU
<b>29</b>	Me	O	CH <sub>2</sub> OTs	5-FU
<b>30</b>	Me	O	CH <sub>2</sub> Cl	5-FU
<b>31</b>	Me	O	COOMe	5-FU
<b>32</b>	<i>i</i> Pr	O	CH=CH <sub>2</sub>	Adenine
<b>33</b>	<i>i</i> Pr	O	CH=CH <sub>2</sub>	Uracil
<b>34</b>	<i>i</i> Pr	O	CH=CH <sub>2</sub>	5-FU
<b>35</b>	<i>i</i> Pr	O	CH(OH)CH <sub>2</sub> OH	5-FU
<b>36</b>	Me	O	CH(OH)CH <sub>2</sub> Cl	5-FU
<b>37</b>	Me	O	CH(OMe)5FU	5-FU

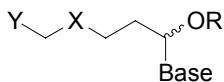
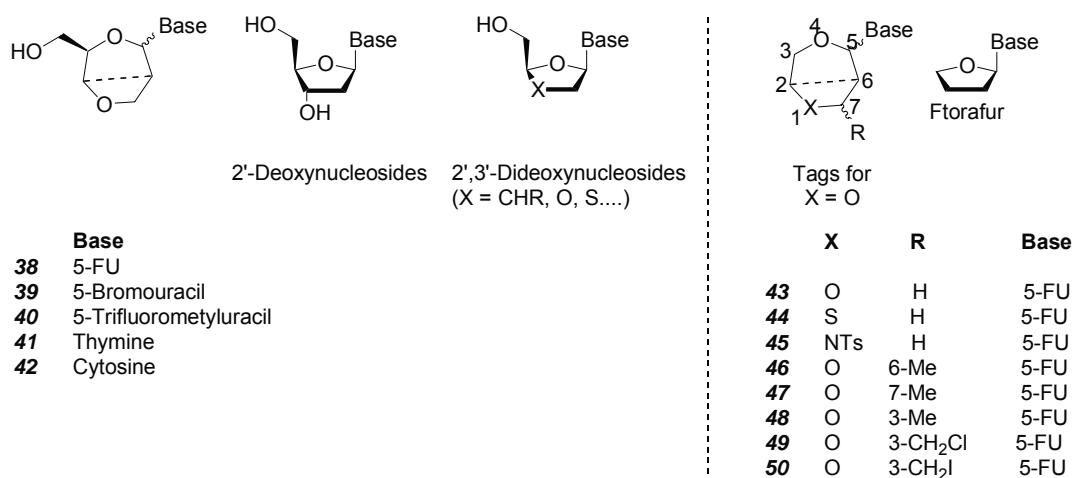


Figure 1.1. Structures of *seco*-nucleosides prepared in our group.

Afterwards, a wide range of 5-FU derivatives linked to saturated annelated heptatomic moieties were synthesized<sup>3,4</sup>. The products are shown in Figure 2.2. Compounds **38-42** were analogues of deoxynucleosides, which can be phosphorylated on 5' position, and compounds **43-50** were prepared as analogues of ftorafur and cannot

- 1 Campos, J.; Pineda, M.J.; Gómez, J.A.; Entrena, A.; Trujillo, M.A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8907-8924.
- 2 Gómez, J.A.; Campos, J.; Marchal, J.A.; Trujillo, M.A.; Melguizo, C.; Prados, J.; Gallo, M.A.; Aránega, A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1997**, *53*(21), 7319-7334.
- 3 Gómez, J.A.; Trujillo, M.A.; Campos, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13295-13312.
- 4 Trujillo, M.A.; Gómez, J.A.; Campos, J.; Espinosa, A.; Gallo, M.A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3951-3961.

be phosphorylated. *cis*-**49** was the most interesting of them, with moderate *in vitro* activity *versus* the HT-29 human colon cancer cell line (6-fold less active than 5-FU).



**Figura 1.2.** Annelated heptatomic derivatives prepared in our group. Comparison with their deoxynucleoside analogues and ftorafur.

With the idea of increasing the lipophilicity a series of bioisosteric benzannelated seven-membered *O,N*-acetals and their acyclic derivatives were proposed, with the structures **51-58** as shown in Figure 2.3<sup>5,6,7</sup>. In all the cases the attachment of the 5-FU moiety occurred at the *N*<sup>1</sup>-position of the pyrimidine ring. This strategy led to an increase in the biological activities.

- Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Suárez, I.; Aránega, A.; Choquecillo, D.; Niclós, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5457-5467.
- Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8017-8026.
- Saniger Bernal, E. Nuevos Profármacos de 5-Fluorouracilo con Restos de Dihydrobenzodioxepinos y Compuestos Relacionables con Actividad Diferenciadora Celular y Antiproliferativa. Doctoral Thesis, Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica, Universidad de Granada. Granada, **2002**.

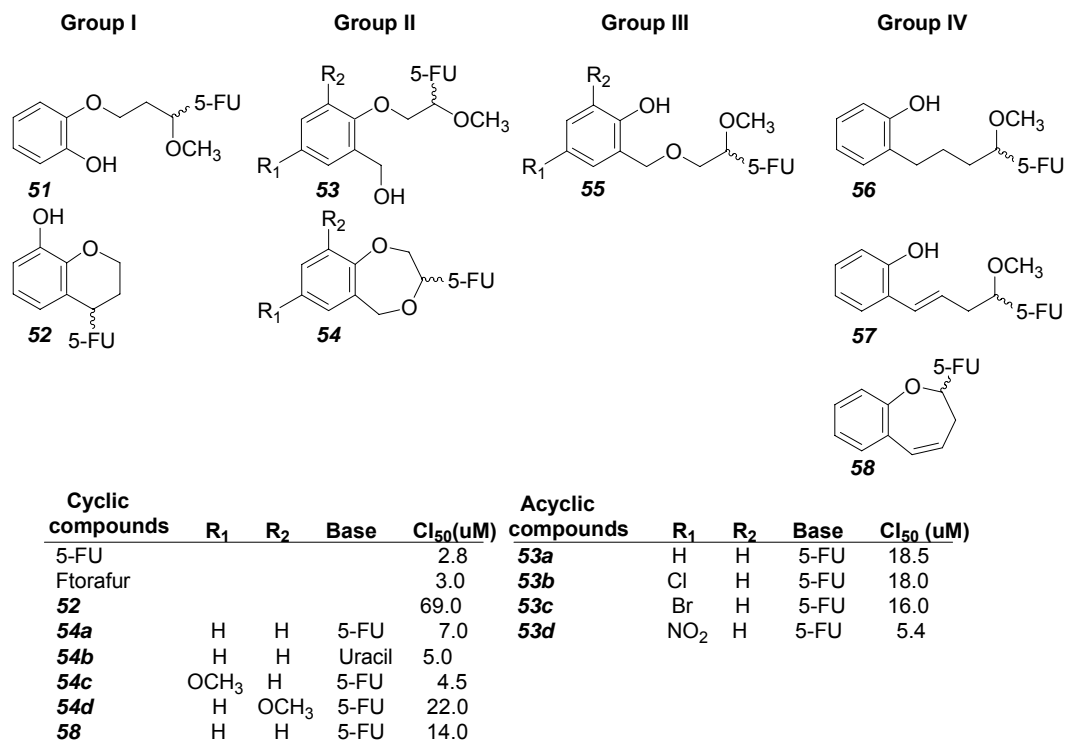


Figure 1.3. Examples of the benzannelated O,N-acetals prepared in our group.

Studies on apoptosis stimulation were conducted on these last compounds, some of which turned out to be more potent than paclitaxel (Taxol). Among these are compounds **52** (54.33 and 35.49% after 24 and 48 h respectively), **54d** (40.08 and 46.73%), **58** (57.33 and 51.37%) and **53a** (59.90% after 24 h). Compounds **52**, **54a-d**, **58** and **59** produced a G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>-phase cell-cycle arrest and compounds **53b** or **53c** a G<sub>2</sub>/M-phase arrest, whereas ftorafur and 5-FU induced an S-phase cell-cycle arrest. The most active compounds induced neither toxicity nor death in mice after one month's treatment when administered intravenously twice a week, with a 50 mg/kg dose each time<sup>38</sup>.

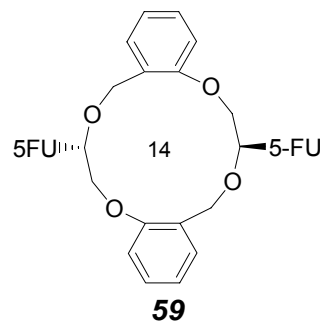


Figure 1.4



### 1.2.1. Modification of the molecular markers caused by the cyclic 5-FU *O,N*-acetals<sup>8</sup>.

Due to the fact that the cyclic *O,N*-acetals accumulate the cells in the G<sub>1</sub>-phase, the expression pattern of cyclin D1 was studied. Compounds **54a** and **59** gave rise to a spectacular inhibition of cyclin D1 leading to its total disappearance. This fact did not take place with 5-FU because the cyclin D1 level increased in relation to those of the parental MCF-7 cells (on inhibiting cyclin D1, the cell cannot progress to the S-phase). Compounds **54a**, **54c** and **59** significantly decrease the Cdc2 activity and consequently prevent mitosis. Moreover, compound **59** increases the expression of proteins p21 or p27 to double that of the control. These proteins belong to the family INK2 of the CDK-inhibiting proteins that work by hindering the association and activation of cyclins with their complexes. Compounds **53b** and **53d** cause a decrease in the expression of cyclin D1 and Cdc-2 and an increase in Cdk inhibitor p21, on MCF-7 cells.

Therefore, these compounds show a different mechanism of action from the one shown by 5-FU, which increases Cyc-D1 and Cdc-2 levels.

The treatment of the MCF-7 cells (wild-type p53) with these compounds in general produced an increase in the protein expression of p53, mainly for 5-FU and **58**, and a general decrease of the levels of Bcl-2, which facilitates the entrance of cells into the programmed cell death or apoptosis. Compound **53b** decreases Bcl-2 expression and **53d** increases p53 expression.

### 1.2.2. Synthesis of *O,N*-acetalic compounds<sup>36-32</sup>.

In the preparation of this type of compounds, Lewis acids play a very important role, as they mediate the acetal-formation steps (cyclization to *O,O*-acetals and condensation with nitrogen bases to *O,N*-acetals).

---

8 Campos, J.; Saniger, E.; Marchal, J.A.; Aiello, S; Suárez, I.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Current Medicinal Chemistry* **2005**, *12*, 887-916.

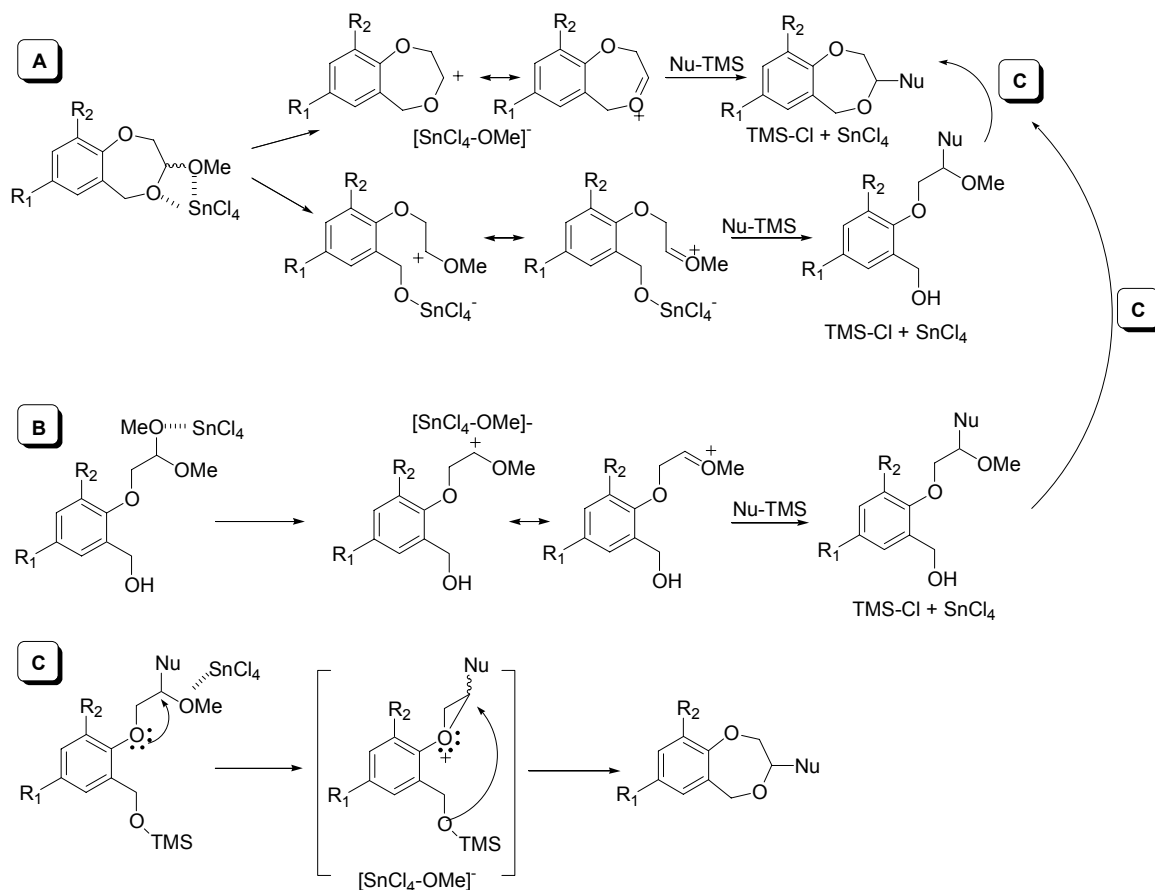
### **1.2.2.1. Condensation reaction between *O,O*-acetals and nitrogen bases.**

This is a common reaction in the synthesis of all these compounds. A mechanism has been described in which a nucleophilic attack of the silylated nitrogen base occurs on the carbenium ion generated upon coordination of SnCl<sub>4</sub> with the acetalic oxygens of the *O,O*-acetalic compound. A S<sub>N</sub>1-type process is proposed and therefore diastereoselectivity is not guaranteed, but depends on steric factors. Between the Lewis acids that have been assayed, SnCl<sub>4</sub> is the one that has given the best results.

The condensation between the cyclic *O,O*-acetals and 5-FU (route A, Figure 2.5) gave rise to the cyclic and/or the acyclic *O,N*-acetals, through a process whose regioselectivity depended on the reaction conditions (time, temperature, etc), type of Lewis acid and substrate characteristics. Such a regioselectivity is determined by the coordination of the Lewis acid either with the exocyclic or endocyclic acetalic oxygen atoms. Dissociation of methoxy group will give cyclic carbenium ions from which the final cyclic compounds will be formed. However, dissociation of the endocyclic oxygen atom will give rise to acyclic ions and therefore acyclic final *O,N*-acetal.

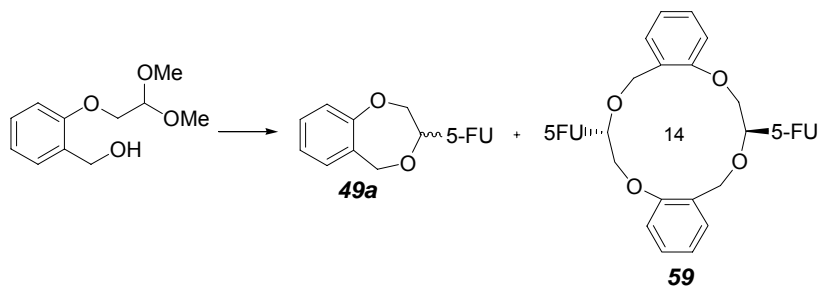
The proposed mechanism for benzo-fused derivatives is described in Figure 2.5 (route A: process starting on cyclic *O,O*-acetals; route B: process starting on acyclic *O,O*-acetals) (analogue mechanisms should be suitable for the rest of the compounds).

From the acyclic *O,N*-acetals, an intramolecular nucleophilic attack by the silylated benzylic hydroxy group leading to the formation of cyclic *O,N*-acetal has been described (as shown in Figure 2.5, route C)<sup>6</sup>. According to this mechanism, a neighbouring group attack would lead to an oxonium ion, much more reactive than its predecessor, which facilitates the attack by the nucleophilic hydroxyl group. Finally, the aqueous work-up produces the *O,N*-acetalic cycles. The intramolecular cyclization product will depend on the stability of the intermediate ion, which will in turn be influenced by the electronic character of the substituent R<sub>1</sub> (and R<sub>2</sub>); in fact, electron-withdrawing groups destabilize the positive charge of the phenolic oxygen atom on generating an electronic deficiency in the carbon atom that carries the oxygen atom, preventing the intramolecular closing process. The contrary holds true for the electron-donating groups such as the methoxy moiety.



**Figure 1.5.** Proposed mechanism for the condensation reaction between *O,O*-acetals and nitrogen bases. A: From cyclic *O,O*-acetals. B: From acyclic *O,O*-acetals. C: Cyclization process with neighbouring-group participation.

Compound **59**, with 14-crown-4-ether structure and two pendant 5-FU fragments was isolated (yield 7 %) as well as **49a**, in the reaction shown in Figure 2.6, between the corresponding acyclic *O,O*-acetal and 5-FU (24 h at r.t., using  $\text{SnCl}_4/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  as the Lewis acid)<sup>6</sup>.



**Figure 1.6.** Formation of **59**.



## **2. Objectives**



## 2. Objectives.

With all this background and as part of an Anticancer Drug Programme we are interested in the preparation of the heterocycles which are shown in Figure 2.1 and which are the result of the isosteric replacement with nitrogen by an oxygen atom in the precursor 1,4-benzodioxepins<sup>1</sup>. The final target compounds are *O,O*-acetals and *O,N*-acetals with 1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzodioxazepine and 2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepine moieties.

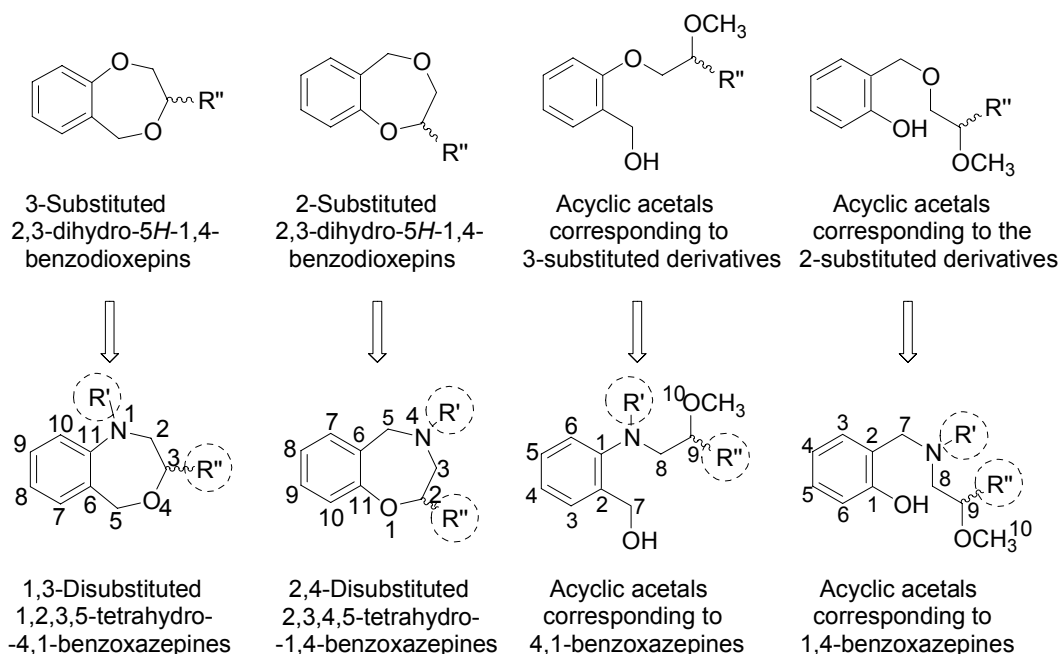
The nitrogen atom allows the introduction of different groups, which gives rise to an additional point of structural variability and therefore for studying structure-activity relationships. Substituents which were joined to the nitrogen atom have been called R' and those joined to the acetalic position, R''.

This Memory is aimed at the following objectives:

---

1 a) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Suárez, I.; Aránega, A.; Choquecillo, D.; Niclós, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5457-5467. b) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8017-8026.

**Objective 1.** Determination of the synthetic route to the final *O,O*- and *O,N*-acetals with cyclic and acyclic structures which are shown, together with their precursor benzodioxepins, in Figure 2.1.



**Figure 2.1.** General structures of the target 4,1- and 1,4-benzoxazepines and their corresponding acyclic analogues (below). Precursors for each of these types of compounds (above).

**Objective 2.** Preparation, purification and characterization of a differently substituted group of compounds, which allow the determination of the effect exerted on the biological activity by the isosteric change  $O \rightarrow NH$  and the disubstitution on the benzoheterocycle.

*Objective 2.a. Structural variability introduction: substituent R'.*

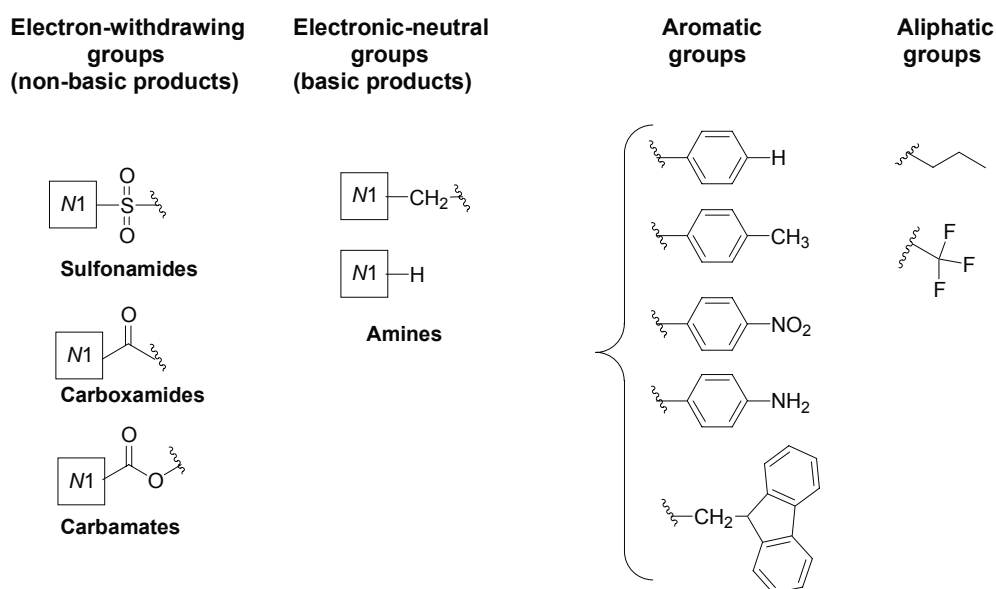
The introduction of different electronic character  $R'$  groups is pursued:

- Electron-withdrawing groups, which eliminate the basic character of the nitrogen atom (acyl groups to obtain carboxamides, oxycarbonyl groups to obtain carbamates and sulfonyl groups for sulfonamides formation).



- Electron-neutral groups (alkyl groups) with the formation of the corresponding tertiary amines.

These groups will include aromatic rings and lineal chains with different sizes and electronic densities (Figure 2.2).



**Figure 2.2.** Characteristics of the R' substituents.

*Objective 2.b. Structural variability introduction: substituent R''.*

As substituent R'', methoxy group, pyrimidine and purine rings will be used. In this way, the preparation of the following groups of compounds is proposed.

- **Library 1:** O,O-Acetalic compounds (R'' = -OCH<sub>3</sub>).
- **Library 2:** O,N-Acetalic compounds, pyrimidine derivatives.
- **Library 3:** O,N-Acetalic compounds, purine derivatives.

The use of uracil and 5-FU<sup>2</sup> as pyrimidines and differently 6-substituted purines (6-phenylthio, 6-chloro and 6-hydroxy) is proposed in order to study the effect of the structural variability on R''.

**Objective 3.** Antiproliferative activity evaluation of the target products on cell cultures of the human breast cancer MCF-7.

**Objective 4.** Study of the qualitative structure-activity relationships (SARs).

- 
- 2 a) Campos, J.; Pineda, M.J.; Gómez, J.A.; Entrena, A.; Trujillo, M.A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8907-8924. b) Gómez, J.A.; Campos, J.; Marchal, J.A.; Trujillo, M.A.; Melguizo, C.; Prados, J.; Gallo, M.A.; Aránega, A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1997**, *53*(21), 7319-7334. c) Gómez, J.A.; Trujillo, M.A.; Campos, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13295-13312. d) Trujillo, M.A.; Gómez, J.A.; Campos, J.; Espinosa, A.; Gallo, M.A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3951-3961. e) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Suárez, I.; Aránega, A.; Choquecillo, D.; Niclós, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5457-5467. f) Saniger, E.; Campos, J.M.; Entrena, A.; Marchal, J.A.; Boulaiz, H.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8017-8026.

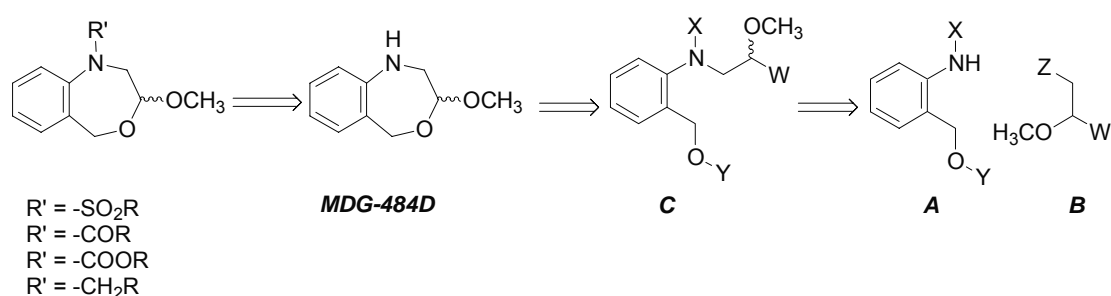
## **3. Results and Discussion**



### 3.1. Synthesis of tetrahydrobenzoxazepine *O,O*-acetals with electron-withdrawing groups on the nitrogen atom<sup>1</sup> (Library 1).

#### 3.1.1. Synthesis of 3-methoxy-*N*-substituted-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepines.

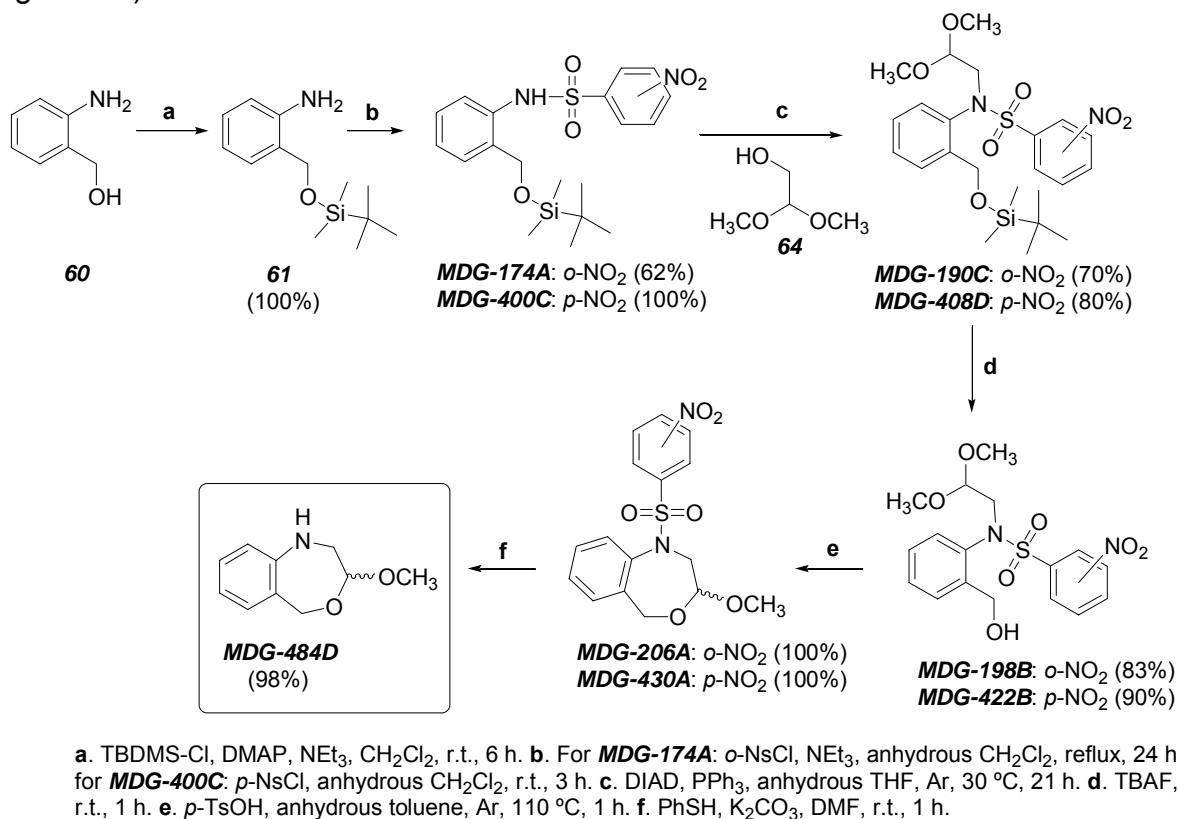
In the preparation of this type of compounds, **MDG-484D** is an intermediate from which most of the final products have been prepared. The retrosynthetic scheme is shown in Figure 3.1.



**Figure 3.1.** Retrosynthetic scheme for the preparation of the tetrahydrobenzoxazepine ring.

1 Díaz-Gavilán, M.; Rodríguez-Serrano, F.; Gómez-Vidal, J.A.; Marchal, J.A.; Aránega, A.; Gallo, M.A.; Espinosa, A.; Campos, J.M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11547-11557.

The described retrosynthesis was developed in the following synthetic procedure (Figure 3.2).

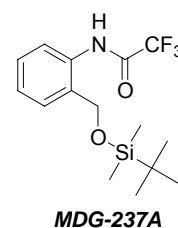


**Scheme 3.2.** Synthetic pathway for the preparation of 1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepines.

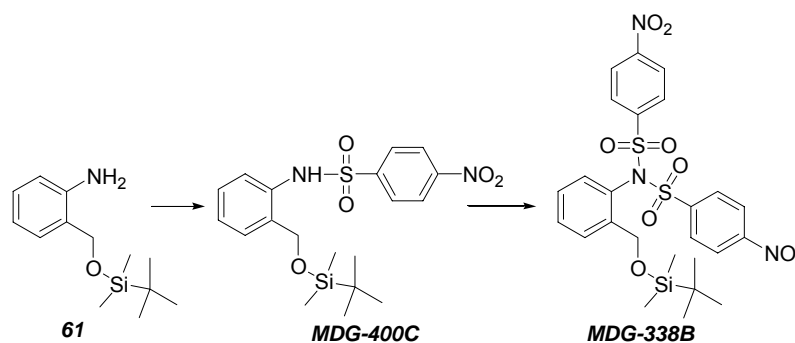
The first step in the retrosynthetic scheme, is the alkylation of the nitrogen atom of 2-(hydroxymethyl)aniline (**60**). A Mitsunobu reaction was the most rewarding strategy, and the synthesis of derivatives **MDG-190C** and **MDG-408D** was accomplished as outlined in Scheme 3.2 (step **c**). The Mitsunobu reaction is a versatile method for the conversion of aliphatic alcohols into alkylating agents *in situ* under mild conditions<sup>2</sup>. It has been demonstrated that a successful Mitsunobu displacement depends not on the nucleophilicity of the incoming nucleophile but rather on the pK<sub>a</sub> associated with the N-H bond. Thus, an “activating group” (a powerful electron-withdrawing moiety) for the amino fragment is needed, such as the 2- or 4-nitrobenzenesulfonyl function. Attempts at

2 **a)** Tsunoda, T.; Yamamiya, Y.; Ito, S. *Tetrahedron Letters* **1993**, *34*(10), 1639-1642. **b)** Tsunoda, T.; Otsuka, J.; Yamamiya, Y.; Ito, S. *Chem. Lett.* **1994**, 539-542. **c)** Dallinger, D.; Kappe, O. *Synlett* **2002**, *11*, 1901-1903. **d)** Macor, J.E.; Wehner, J.M. *Tetrahedron Letters* **1991**, *32*, 7195-7198. **e)** Ito, S.; Tsunoda, T. *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*(6), 1053-1057. **f)** Kozai, S.; Takaoka, S.; Maruyama, T. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 2633-2636. **g)** Macor, J.E.; Blank, D.H.; Post, R.J.; Ryan, K. *Tetrahedron Letters* **1992**, *33*, 8011-8014. **h)** Falck, J.R.; Lai, J.Y.; Cho, S.D.; Yu, J. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40*, 2903-2906.

amide alkylation such as the trifluoroacetamide derivative failed. The incapacity of the trifluoroacetamide **MDG-237A** to participate in the Mitsunobu reaction could be explained by its insufficient acidity. Herein we have protected the aniline nitrogen atom as 2- and 4-nitrobenzenesulfonamides. A benzannelated seven-membered secondary amine was obtained (**MDG-484D**) after alkylation, cyclization and subsequent deprotection.



This synthon could be transformed to a wide range of tertiary amides. After protection of the hydroxyl group by the *tert*-butyldimethylsilyl group (**61**), the synthesis of sulfonamides **MDG-174A** and **MDG-400C** was accomplished under the conditions of Fukuyama *et al.*<sup>3</sup>. Compound **MDG-338B** (scheme 3.3) was obtained in the reaction to **MDG-400C** when it was conducted using TEA as a hydrochloride acid scavenger or 1.1 equivalent of the sulfonyl chloride was added.



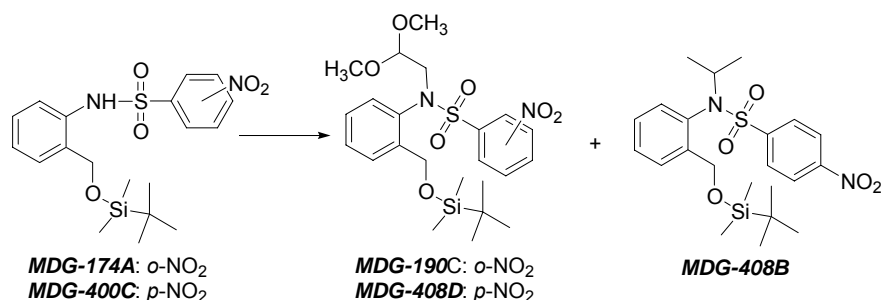
- i. *p*-NsCl (1.1 equiv.), NEt<sub>3</sub> (1.5 equiv.), anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, r.t., 5 h. **338B** = 100%
- ii. *p*-NsCl (1.0 equiv.), NEt<sub>3</sub> (1.4 equiv.), anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, r.t., 1 h. **338B** = 53%, **400C**: 23%
- iii. *p*-NsCl (0.5 equiv.), anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, r.t., 3 h. **400C**: 100%

**Scheme 3.3.** Formation of **MDG-338B**.

The Mitsunobu conditions were applied to **MDG-174A** and hydroxyacetaldehyde dimethyl acetal to give **MDG-190C** in a 70% yield. It is worth emphasizing that the yield of **MDG-190C** depends greatly on the temperature of the reaction. When the optimized temperature conditions (30 °C) were applied to **MDG-400C**, **MDG-408D** was obtained with a 80% yield. The addition of an excess of hydroxyacetaldehyde dimethyl acetal (4.3 eq.) produced the expected acetal **MDG-408D** (31%) but the isopropyl alkylated derivative **MDG-408B** (38%) was also formed (Scheme 3.4). Such a compound could be interpreted by the transesterification reaction of hydroxyacetaldehyde dimethyl acetal

3 Fukuyama, T.; Jow, C.K.; Cheung, M. *Tetrahedron Letters* **1995**, 36(36), 6373-6374.

with DIAD with the concomitant leaving of isopropanol. A similar process had been previously reported for DEAD but not when DIAD was used<sup>4</sup>.



Scheme 3.4. Formation of **MDG-408B**.

After deprotection of the silanyl group of **MDG-190C** (and **MDG-408D**) with TBAF in THF (step **d**, Scheme 3.2), **MDG-198B** was obtained with an 83% yield (and **MDG-422B** in a 90% yield). Each of these compounds quantitatively afforded the cyclic ones **MDG-206A** and **MDG-430A** (step **e**, Scheme 3.2) respectively, using boron trifluoride diethyl etherate<sup>5</sup> or *p*-toluenesulfonic acid.

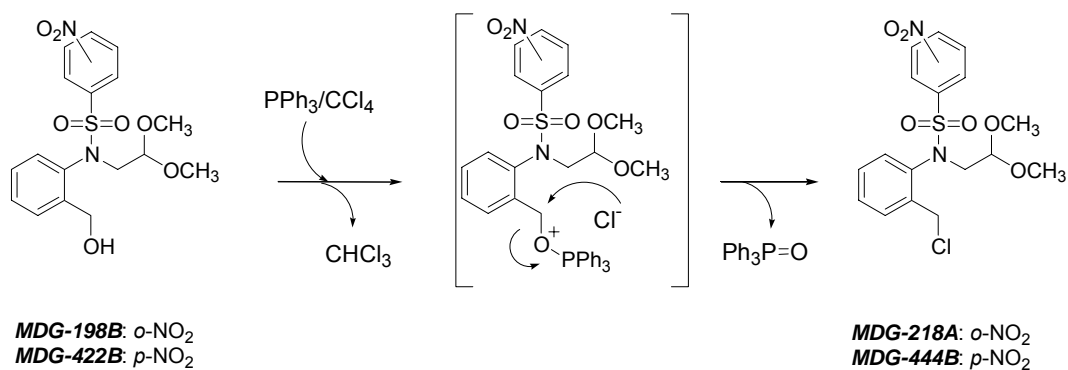
We tried to carry out the cyclization process under the neutral and mild conditions mediated by the triphenylphosphine/carbon tetrachloride system<sup>6</sup> but the process failed, and the substitution of the hydroxy group by chlorine took place to produce **MDG-218A** and **MDG-444B** (see Scheme 3.5). **MDG-198B** and **MDG-408D** present bulky groups that limit their conformational motions, making them rigid structures. The oxygen atoms of the acetalic groups cannot act as nucleophiles against the benzylic position (with the triphenylphosphine ether) due to steric hindrance.

4 Rew, Y.; Goodman, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 8820-8826.

5 Campos, J.; Pineda, M. J.; Gómez, J. A.; Entrena, A.; Trujillo, M. A.; Gallo, M. A.; Espinosa, A. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8907-8924.

6 Espinosa, A.; Gallo, M.A.; Campos, J.; Gómez, J.A. *Synlett* **1995**, 1119-1120.





**Scheme 3.5.** Mechanism for the hydroxyl group substitution by chlorine.

Finally, the elimination of the sulfonamide group was carried out by treatment with thiophenol and potassium carbonate in DMF<sup>1</sup> to yield the secondary cyclic amine **MDG-484D** (98% from **MDG-206A**, and 90% from **MDG-430A**). Amine **MDG-484D** seems to be rather unreactive towards nonactivated anhydrides. Acyl chlorides or TFAA were used to conduct the acetylation process that afforded the amides shown in Table 3.6.

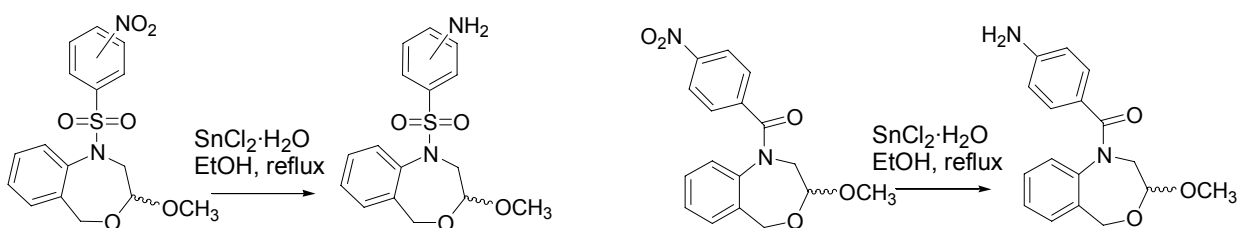
**Table 3.6.** Reaction conditions for the nitrogen substitution in **MDG-484D**.

	Electrophile (R'X)	Base	Solvent (anhydrous)	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	Reaction time (h)	Product	R'
1	DMF	NaH	DMF	r.t.	70 °C	16	<b>MDG-908B</b> (36%)	Formyl
2	Butyryl chloride	NEt <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 °C	r.t.	17	<b>MDG-530B</b> (69%)	Butanoyl
3	Trifluoroacetic anhydride	NEt <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 °C	r.t.	18	<b>MDG-540A</b> (79%)	Trifluoroacetyl
4	Benzoyl chloride	NEt <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 °C	0-5 °C	3	<b>MDG-616A</b> (Quantit.)	Benzoyl
5	<i>p</i> -Nitrobenzoyl chloride	NaH	THF	0 °C	r.t.	18	<b>MDG-946C</b> (58%)	<i>p</i> -Nitrobenzoyl
6	Fmoc-Cl	NaH	THF	r.t.	30 °C	8.5	<b>MDG-791D</b> (85%)	Fmoc
7	Benzyl bromide	NaH	THF	-10 °C	60 °C	12	<b>MDG-804B</b> (18%)	Benzyl
8	<i>p</i> Ts-Cl	NEt <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 °C	35 °C	21	<b>MDG-904B</b> (26%)	<i>p</i> Ts

The amides in entries 1-5 showed duplicity of all the signals in their  $^1\text{H}$  NMR spectra. Such a phenomenon has been studied at length and considered to be due to the existence of a barrier to rotation in amides<sup>7</sup>.

Other compounds were obtained by nitro group reduction as shown in Table 3.7.

**Table 3.7.** Products obtained by reduction of the nitro group in *N*1-substituted *O,O*-acetals.



Substrate	Product	Substrate	Product
<b>MDG-206A</b> ( <i>o</i> -NO <sub>2</sub> )	<b>MDG-858B</b> (86 %) ( <i>o</i> -NH <sub>2</sub> )	<b>MDG-946C</b> ( <i>p</i> -NO <sub>2</sub> )	<b>MDG-964B</b> (67 %) ( <i>p</i> -NH <sub>2</sub> )
<b>MDG-430A</b> ( <i>p</i> -NO <sub>2</sub> )	<b>MDG-872B</b> (57 %) ( <i>p</i> -NH <sub>2</sub> )		

### 3.1.2. Synthesis of *N*-trifluoroacetyl-2-methoxy-2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepine (**MDG-292A**).

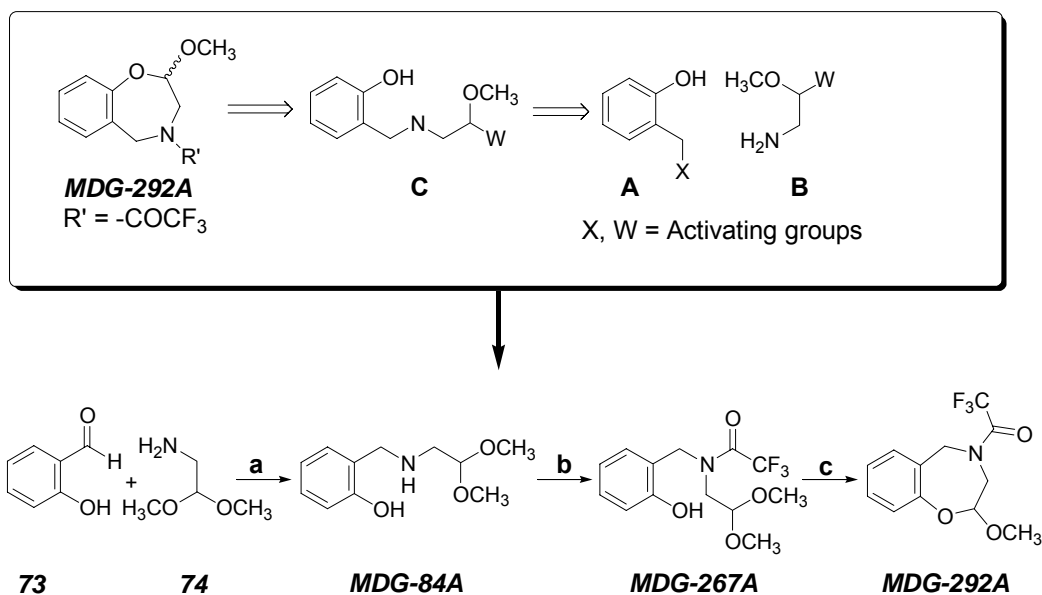
Compound **MDG-292A** was synthesized as depicted in Scheme 3.8. Secondary amine **MDG-84A** was obtained by a reductive alkylation from 2-hydroxybenzaldehyde and aminoacetaldehyde dimethyl acetal. The secondary amine was transformed into the trifluoroacetamide **MDG-267A** (72%) under the neutral conditions supplied by trifluoroacetylbenzotriazol<sup>8</sup>. Finally, the cyclization process was carried out with boron trifluoride diethyl etherate and yielded **MDG-292A**. The acyclic and cyclic compounds **MDG-267A** and **MDG-292A** showed duplicity in their  $^1\text{H}$  NMR signals. The hydrogen atoms of the benzyl group had a  $\Delta G_c^\ddagger$  value of 18.5 kcal/mol using the Eyring equation<sup>9</sup>

7 Őki, M. Methods in Stereochemical Analysis. Volume 1. Applications of Dynamic NMR Spectroscopy to Organic Chemistry; VCH Publishers, Inc: Deerfield Beach, 1985.

8 Katritzky, A.R.; Yang, B.; Semenzin, D. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 726-728.

9 Kemp, W. NMR in Chemistry. A Multinuclear Introduction. MacMillan, Londres, UK, **1986**; pp 158-168.

at a coalescence temperature ( $T_c$ ) of 80 °C for **MDG-267A**. Such a value is similar to the barrier to rotation around the C<sub>CO-N</sub> bond in *N,N*-dimethylacetamide.



**a.** (i) EtOH, 78 °C, 5 h; (ii) NaBH<sub>4</sub>, Ar, anhydrous MeOH, 65 °C, 75 min. **b.** 1-Trifluoroacetylbenzotriazole, THF, r.t., 3 h. **c.** BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, Ar, anhydrous Et<sub>2</sub>O, r.t., 5 days.

**Scheme 3.8.** Retrosynthetic scheme and synthetic pathway for the preparation of 2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepine **MDG-292A**.

### 3.2. Structural characteristics of the seven-membered *O,O*-acetals<sup>1</sup>.

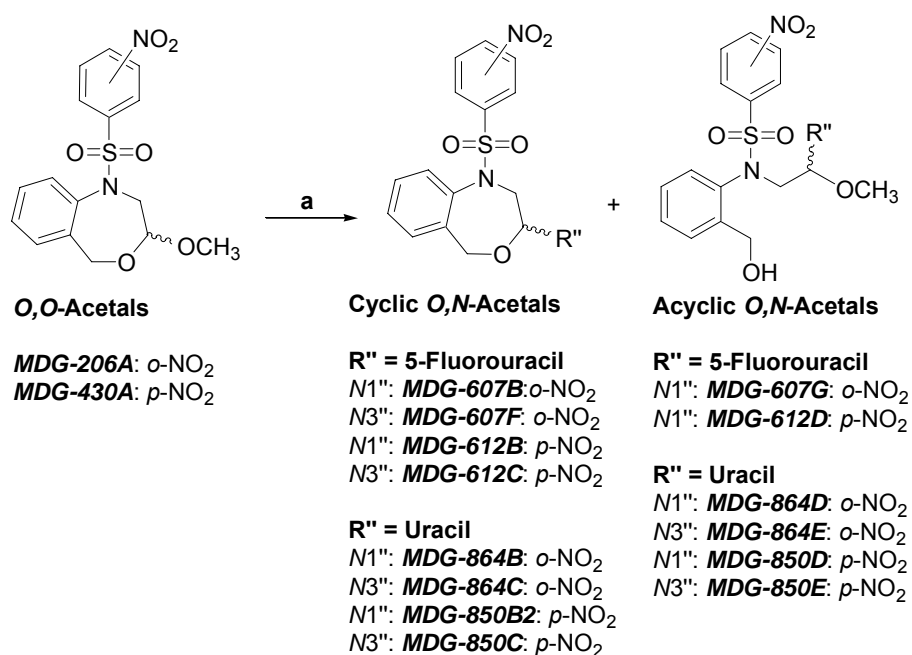
The structures of all derivatives were ascertained by their spectroscopic data (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR, MS). In 4,1-benzoxazepines (CDCl<sub>3</sub> solutions) the acetalic hydrogen atom appears between δ 4.60-4.84 ppm as a double doublet (dd). In all cases, the H-5 atoms are diastereotopic and show a  $J_{\text{gem}}$  near to 14 Hz. In relation to the <sup>13</sup>C NMR spectra, the acetalic C-3 atoms appear at δ 98.56-102.67 ppm. In the case of 1,4-benzoxazepine **MDG-292A** (CDCl<sub>3</sub> solutions) the acetalic proton appears at δ 4.73 ppm as a dd ( $J = 7.8$  and 2.3 Hz) for one isomer (which represents the 63% of the mixture) and at δ 4.79 ppm as a dd ( $J = 7.1$  and 2.2 Hz) for the other one (37%). The benzylic protons are also diastereotopic and resonate at δ 4.91 ppm and δ 4.35 ppm as doublets ( $J = 14.4$  Hz) for the major isomer and at δ 4.73 ppm and δ 4.57 ppm as doublets ( $J = 15.5$  Hz) for the minor one.

### 3.3. Synthesis of tetrahydrobenzoxazepine *O,N*-acetals with electron-withdrawing groups on the nitrogen atom (Libraries 2 and 3).

#### 3.3.1. *O,N*-acetals from pyrimidine and 1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepines (Library 2).

Compounds **MDG-206A** and **MDG-430A** were converted into *O,N*-acetals of pyrimidine and purine bases in a Lewis-acid-mediated reaction. The nucleophilicity of nitrogen bases was increased by silylation. The best reaction conditions for these substrates have been established in a systematic study and have turned out to be: Nitrogen base (2.1 eq.), SnCl<sub>4</sub> (4.0 eq.), TMSCl (3.6 eq.), HMDS (3.6 eq.), anhydrous CH<sub>3</sub>CN, 50 °C, aprox. 60 h.

The reaction of compounds **MDG-206A** y **MDG-430A** with 5-FU and uracil has led to the cyclic and acyclic *O,N*-acetalic compounds shown in Scheme 3.9, which are the result of the nitrogen base bond through its *N1''* or *N3''* position.



a) Uracil or 5-fluorouracil, HMDS, TCS, Lewis acid.

**Scheme 3.9.** Products that have been obtained in the condensation reaction between the *O,O*-acetals **MDG-206A** or **MDG-430A** and the pyrimidines 5-FU or uracil.

The yields obtained for these products are shown in Table 3.10.

**Table 3.10.** Results of the reaction between **MDG-206A** or **MDG-430A** and 5-FU or uracil.

Substrate	Pyrimidine	Reaction time	Yields	
			Total cyclic	Total acyclic
<b>MDG-206A</b>	5-FU (2.5 equiv.)	51 h	23% <b>N1''</b> 19% <b>N3''</b> 4%	33% <b>N1''</b> 30% <b>N3''</b> N.O.
	Uracil (2.5 equiv.)	67 h	59% <b>N1''</b> 26% <b>N3''</b> 33%	13% <b>N1''</b> 12% <b>N3''</b> N.O.
<b>MDG-430A</b>	5-FU (2.5 equiv.)	91 h	20% <b>N1''</b> 15% <b>N3''</b> 5%	24% <b>N1''</b> 24% <b>N3''</b> N.O.
	Uracil (2.5 equiv.)	69 h	60% <b>N1''</b> 11% <b>N3''</b> 49%	13% <b>N1''</b> 11% <b>N3''</b> 2%

N.O: Not obtained product.

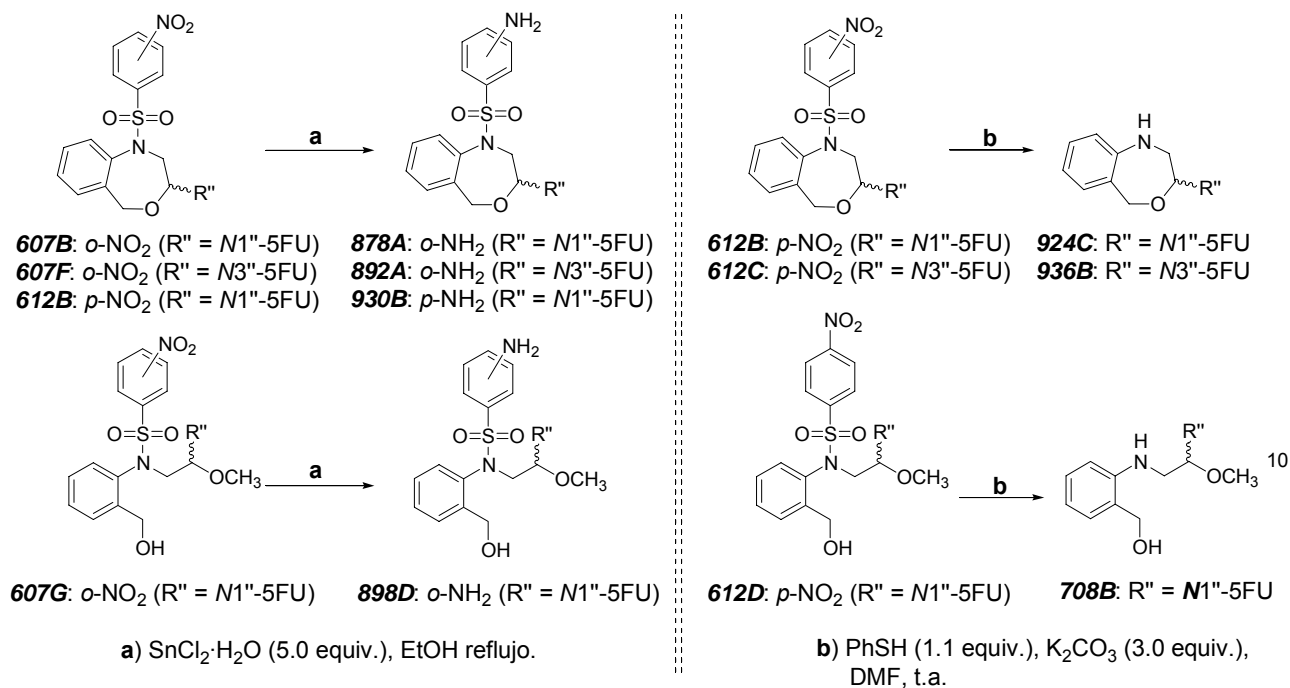
Electron-rich groups, such as nitro or sulfonyl groups coordinate to SnCl<sub>4</sub> and make the addition of an excess of this Lewis acid necessary for the reaction to take place.

The fluorine atom of 5-FU, produces a deactivation of the pyrimidine ring and this is the reason for the low yields in the reaction with this pyrimidine. When 5-FU is used the main products are acyclic ones, while in the case of uracil, the cyclic *O,N*-acetals are the ones obtained with the higher yields. 5-FU preferably links through its *N1''* position, whilst uracil does so preferably through *N3''* in cyclic products, and through *N1''* in the acyclic ones.

The different behaviour observed for **MDG-206A** and **MDG-430A** (different ratio of *N1''* and *N3''* union in the formation of cyclic *O,N*-acetals derived from uracile) has been explained as a consequence of the steric hindrance due to the *ortho* position of the nitro group in **MDG-206A** compared to the *para* position in **MDG-430A**.

*N*-Acyl-4,1-benzoxazepines **MDG-530B**, **MDG-616A** and **MDG-540A**, did not turn out to be good substrates for this reaction. Only **MDG-616A** led to the formation of acyclic *O,N*-acetal derived from 5-FU, though with low yields.

Other products were prepared by nitro group reduction or nitrobenzenesulfonyl group (Ns) removal, as shown in Scheme 3.11.



**Scheme 3.11.** On the left, *O,N*-acetals that were obtained by reduction of the nitro group. On the right-hand scheme, the *O,N*-acetals that were obtained by removal of the nitrobenzenesulfonyl group.

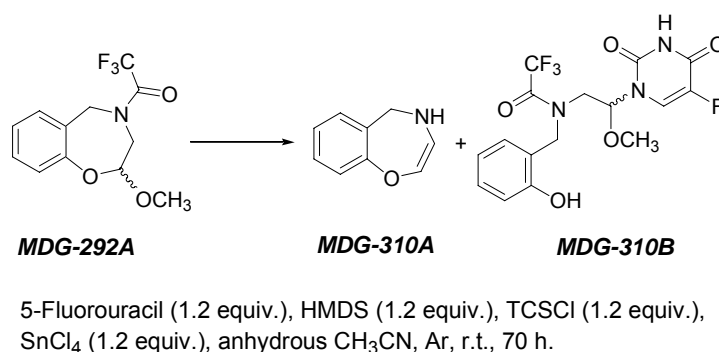
The yields of these reactions were different depending on the substrate involved, as indicated in the Table 3.12.

**Table 3.12.** Yields of the compounds that were obtained by reduction or deprotection reactions.

Nitro group reduction			Ns group removal		
Substrate	Product		Substrate	Product	
<b>MDG-607B</b>	<b>MDG-878A</b>	100%	<b>MDG-612B</b>	<b>MDG-924C</b>	83%
<b>MDG-607F</b>	<b>MDG-892A</b>	46%	<b>MDG-612C</b>	<b>MDG-936B</b>	50%
<b>MDG-612B</b>	<b>MDG-930B</b>	34%	<b>MDG-612D</b>	<b>MDG-708B</b>	41%
<b>MDG-607G</b>	<b>MDG-898D</b>	50%			

### 3.3.2. *O,N*-acetals of pyrimidine and 2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepines (Library 2).

The reaction between **MDG-292A** and 5-FU ( $\text{SnCl}_4$  1.2 eq, HMDS 1.2 eq., TCSCI 1.2 eq., anhydrous  $\text{CH}_3\text{CN}$ , Ar, r.t., 70 h) led to the formation of **MDG-310B** (33 %) and **MDG-310A** (55 %), as shown in Scheme 3.13.



**Scheme 3.13.** Products that were obtained in the condensation reaction between **MDG-292A** and 5-FU.

### 3.3.3. Spectroscopic analysis of pyrimidine derivatives.

All the compounds were characterized by  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  and mass spectroscopy. Further characterization was performed by HMQC techniques on **MDG-864B** and NOE experiments on **MDG-612B**, **MDG-612C**, **MDG-864B** and **MDG-864C**.

Whether or not the 5-FU is linked to the acetalic carbon through its  $N1''$  or  $N3''$  position was determined from the multiplicity of the acetalic hydrogen ( $\text{H}3$  or  $\text{H}9$  in cyclic or acyclic compounds, respectively) which resonates as a double doublet in  $N3''$  union and as a double doublet of doublets in the case of an aminalic  $N1''$  bonding (this last with an extra  $J$  from  $\text{H}3\text{-F}$  coupling). In the case of uracil, the type of union was determined from  $\text{H}6''$  hydrogen multiplicity. It is a doublet in the aminalic  $N1''$  bonding and a double doublet at the  $N3''$  one (an additional  $J$  from  $\text{H}6''\text{-NH}$  coupling). Furthermore, in the cases of the  $N1''$  bonding, NOE effects between  $\text{H}6''$  and the benzoxazepine ring were observed.

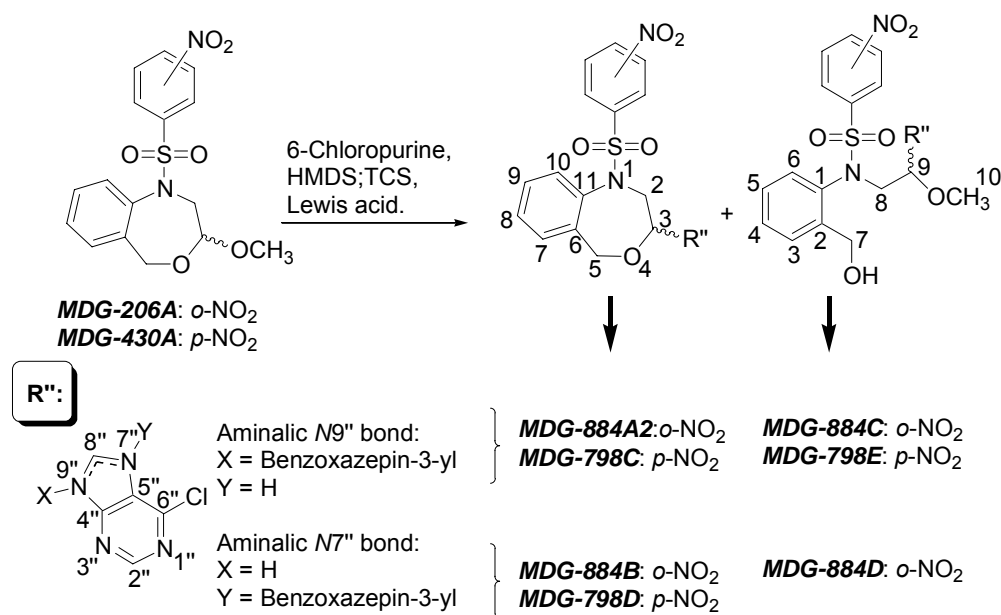
Some other spectroscopic characteristics of each type of union were observed and they could be useful for the isomer identification by comparison of the spectra.

In cyclic *O,N*-acetals, hydrogen H3 and the proton atoms presenting NOE effects with H3 were named  $\beta$  and the face of the molecule to which all of them were oriented was called a  $\beta$  face. The opposite face was called  $\alpha$ .

Acyclic compounds were obtained as a mixture of two conformers at r.t. which became a single structure when heated up to 100 °C.

### 3.3.4. *O,N*-acetals of purine and 1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepines (Library 3).

Reaction between **MDG-206A** and **MDG-430A** with 6-chloropurine led to the formation of the *O,N*-acetals that are shown in Scheme 3.14.



**Scheme 3.14.** Products that were obtained in the reaction of **MDG-206A** and **MDG-430A** with 6-chloropurine.

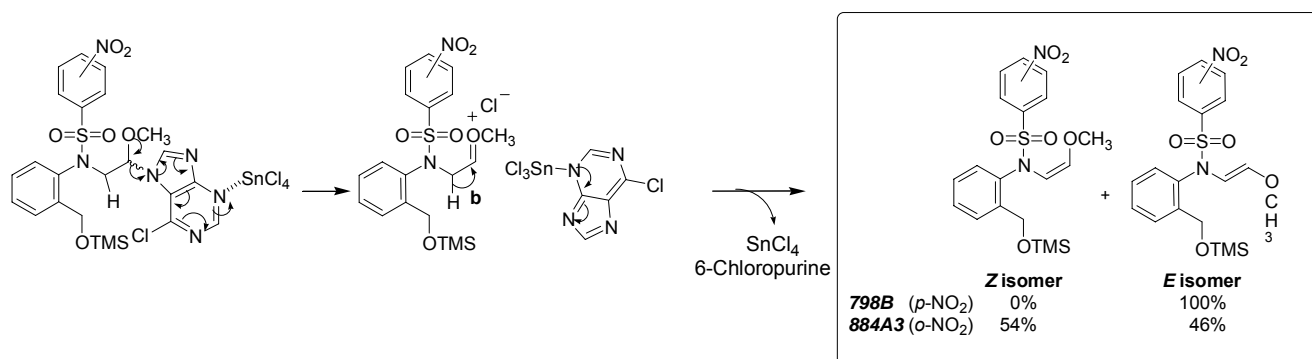
The reactions were performed as described in Section 3.3.1 and the results are shown in Table 3.15.



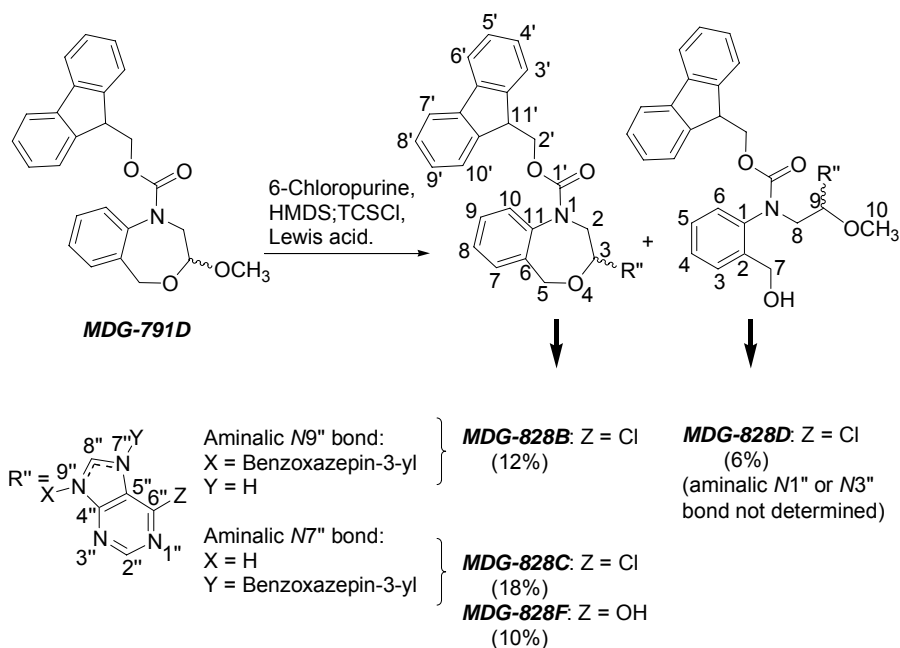
**Table 3.15.** Results of the reactions between *MDG-206A* and *MDG-430A* with 6-chloropurine.

Substrate	Reaction time (h)	Yields	
		Cyclic products	Acyclic products
<i>MDG-206A</i>	69	34% <i>N9''</i> 2% <i>N7''</i> 32%	13% <i>N9''</i> 7% <i>N7''</i> 6%
<i>MDG-430A</i>	67	17% <i>N9''</i> 2% <i>N7''</i> 15%	22% <i>N9''</i> 22% <i>N7''</i> 0%

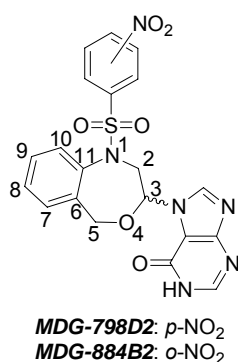
Along with these *O,N*-acetals, the alkenes *MDG-798B* (7%) and *MDG-884A3* (2%) were also formed in these reactions. These products may be originated in an elimination process mediated by the coordination of the Lewis acid to the purine ring, as shown in Scheme 3.16.

**Scheme 3.16.** Proposed mechanism for the formation of alkenes *MDG-798B* and *MDG-884A3*.

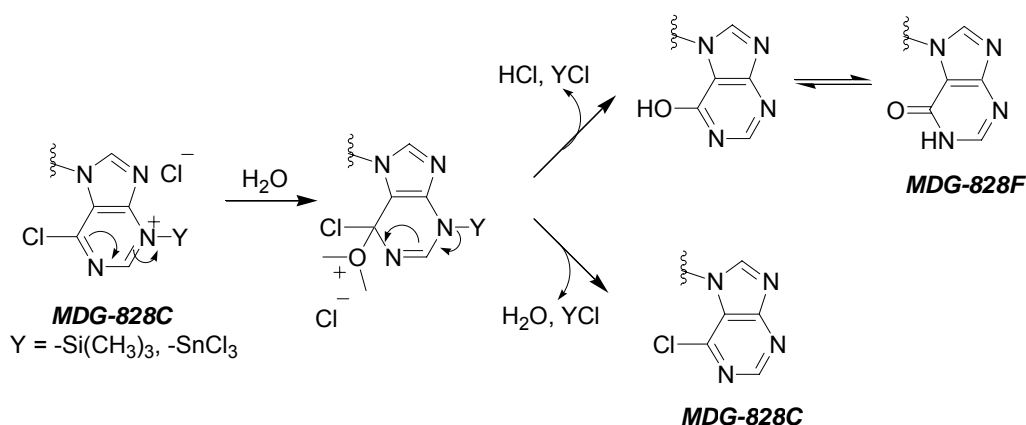
The following products were isolated when the condensation reaction with 6-chloropurine was performed on *MDG-791D*, using the previously described reaction conditions (Scheme 3.17).



**Scheme 3.17.** Products that were obtained in the reaction between **MDG-791D** and 6-chloropurine.



In all the *O,N*-acetals with 6-chloropurine moieties and aminalic *N7''* bondings, it was observed that the chlorine substituent at 6'' position could be easily removed and substituted by nucleophiles. Compounds **MDG-828F** (Scheme 3.17), **MDG-798D2** and **MDG-884B2** are the result of the exchange with hydroxyl. **MDG-828F** was formed in the presence of Lewis acid, which could mediate the process as has been proposed in Scheme 3.18<sup>10,11</sup>.

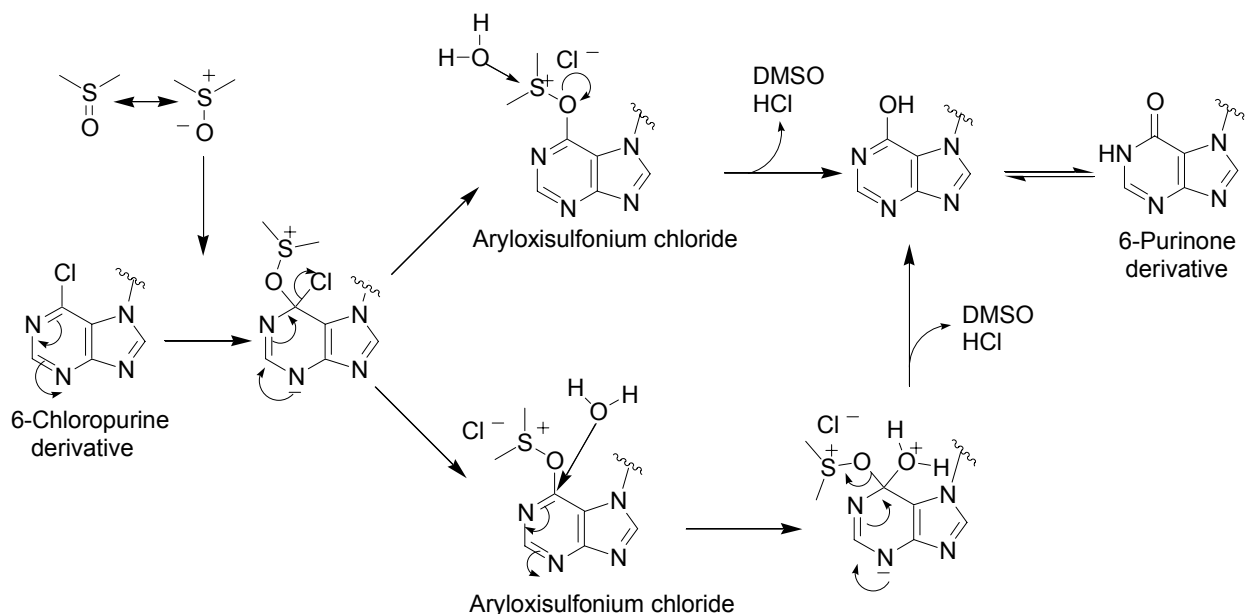


**Scheme 3.18.** Proposed mechanism for the formation of **MDG-828F**.

10 Whitfield, H.J.; Griffin, R.J.; Hardcastle, I.R.; Henderson, A.; Meneyrol, J.; Mesguiche, V.; Sayle, K.L.; Golding, B.T. *Chem. Commun.* **2003**, 2802-2803.

11 Peterson, M.L.; Vince, R. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 2787-2797.

However, **MDG-798D2** and **MDG-884B2** were formed when they stood in DMSO- $d_6$  solution, and presumably from the H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O traces contained in this solvent. For this process, a mechanism *via* the formation of aryloxysulfonium salts was proposed (see Scheme 3.19)<sup>12,13</sup>.



**Scheme 3.19.** Proposed mechanism for the chlorine-substitution process mediated by DMSO.

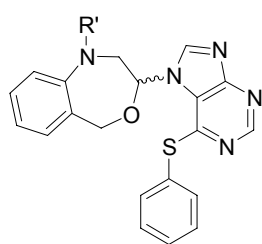
This substitution process in DMSO has been studied in different DMSO/water proportions.

The substitution of chlorine with hydroxyl group takes place only in those compounds with the aminalic N7'' bond so it has been suggested that it is a consequence of the inductive effect (-I) of the alkyl group on the purine ring.

The substitution of chlorine atom with a phenylthio group has also been performed. This process takes place by treatment with the nucleophile thiophenol and the base potassium carbonate in DMF and the results are shown in Table 3.20.

12 Khuddus, M.A.; Swern, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 8393.

13 Gurvich, V.; Kim, H.Y.; Hodge, R.P.; Harris, C.M.; Harris, T.M. Book of Abstracts, 218th ACS National Meeting, New Orleans, Aug. 22-26, **1999**.

**Table 3.20.** Results of the chlorine substitution reaction with thiophenol.

**MDG-940C:** R' = -H  
**MDG-958A:** R' = *p*-Ns  
**MDG-942B:** R' = *o*-Ns

Substrate	Product	PhSH
<b>MDG-884B</b>	<b>MDG-940C</b> (89%)	2.0 equiv.
<b>MDG-798D</b>	<b>MDG-958A</b> (36%) <b>MDG-940C</b> (37%)	0.8 equiv.
<b>MDG-884B</b>	<b>MDG-942B</b> (61%)	0.8 equiv.

### 3.3.5. Spectroscopic analysis of purine derivatives.

The final products were characterized by  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  and mass spectroscopy. A complete assignation of hydrogen and carbon atoms was possible using HMQC and HMBC techniques on the compounds **MDG-798D**, **MDG-798D2**, **MDG-884A2**, **MDG-884B**, **MDG-884B2**, **MDG-798E**, **MDG-884C** and **MDG-798C**.

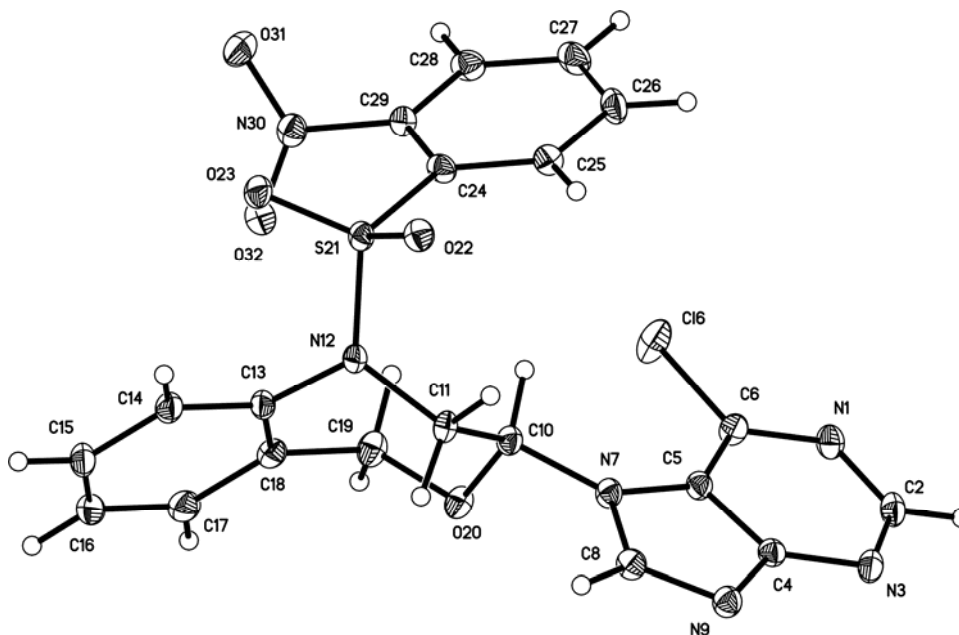
Once all the hydrogen and carbon atoms of the purine ring were assigned, those compounds with  $N7''$  or  $N9''$  union were identified from the HMBC interactions between acetalic hydrogen (H3 in the cyclic compounds and H9 in the acyclic ones) and quaternary carbons C5'' or C4''. In the cases in which an aminalic  $N7''$  bond exists, the acetalic hydrogen is situated three bonds away from C5''. However if there is an aminalic  $N9''$  bond, the aminalic hydrogen is three bonds away from C4''. Therefore a long-distance interaction between H3 and C8'' is the difference between the aminalic  $N9''$  and  $N3''$  bonding.

A comparative study aimed at the finding of other spectroscopic differences between  $N7''$  and  $N9''$  isomers, has been developed.

As happened with pyrimidine derivatives, acyclic compounds were obtained as a mixture of two conformers at r.t.

### 3.3.6. X-Ray analysis on the purine derivative *MDG-884B*.

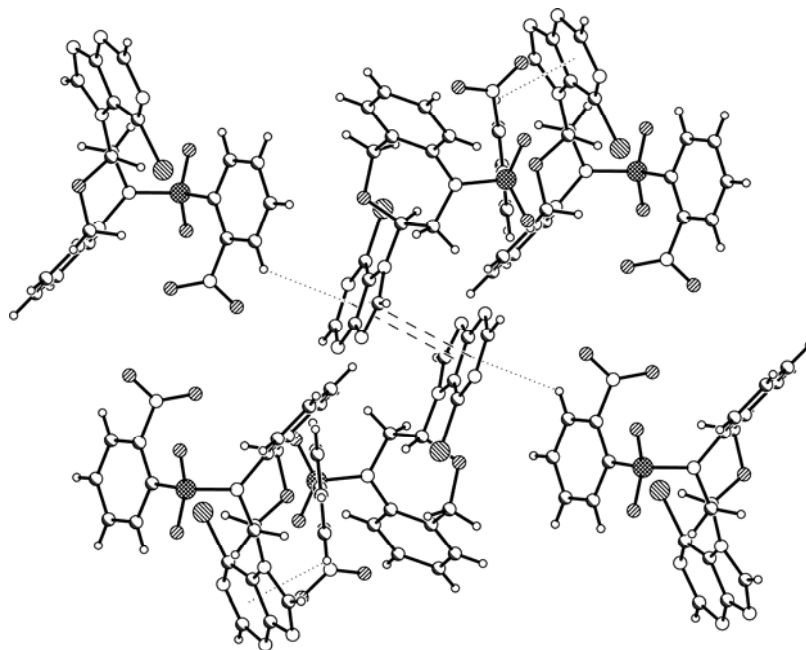
A crystal of *MDG-884B* was obtained by solution of this compound in a minimum amount of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and addition of a slightly greater volume of  $\text{CHCl}_3$ . The solvents were allowed to evaporate slowly at 4 °C. ORTEP diagram, resulting from X-ray diffraction analysis on the crystal, is shown in Figure 3.21.



**Figure 3.21.** ORTEP diagram for *MDG-884B*, at 50% of probability.

This compound presents an aminalic  $N7''$  bond as was predicted by NMR spectroscopy. The seven-membered cycle adopts a chair conformation in which a purine ring is situated in an equatorial position.

Two types of intermolecular interactions, established through purine rings, support the crystal structure. One face of the purine flat ring is involved in  $\pi/\pi$  attractive interactions that situate two of these rings in parallel disposition. On the other face, the six-membered ring of purine accepts a  $\pi/\text{C-H}$  interaction with the hydrogen atom situated next to the nitro group in  $N_s$  moiety (H28 in ORTEP diagram). Both interactions are shown in Figure 3.22.



**Figure 3.22.** Dotted lines represent intermolecular interactions that support the crystal structure.

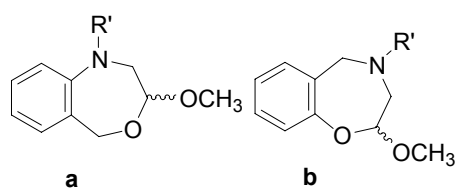
### 3.4. Antiproliferative activities of *O,O*- and *O,N*-acetalic compounds.

Biological assays have been developed by the research group of Dra. Antonia Aránega, from the Morphologic Science Department of the University of Granada.

Fifty-five compounds have been assayed on the MCF-7 human breast cancer cells and the resulting  $IC_{50}$  are shown in Tables 3.22 to 3.26.

#### 3.4.1. *O,O*-Acetalic compounds (Library 1).

These compounds have shown moderate antiproliferative activities. These results are important due to the absence of structural fragments with known activity.

**Table 3.22.** Antiproliferative activity (IC<sub>50</sub>) on MCF-7 cells obtained for O,O-acetalic compounds.

	Compound	R'	IC <sub>50</sub> (μM)
1	<b>MDG-484D (a)</b>	H	81.05
2	<b>MDG-804B (a)</b>	Benzyl	67.23
3	<b>MDG-908B (a)</b>	Formyl	<b>9.13</b>
4	<b>MDG-530B (a)</b>	Butanoyl	39.84
5	<b>MDG-540A (a)</b>	Trifluoroacetyl	27.39
6	<b>MDG-292A (b)</b>	Trifluoroacetyl	27.85
7	<b>MDG-616A (a)</b>	Benzoyl	36.70
8	<b>MDG-946C (a)</b>	<i>p</i> -Nitrobenzoyl	27.14
9	<b>MDG-964B (a)</b>	<i>p</i> -Aminobenzoyl	31.87
10	<b>MDG-791D (a)</b>	9 <i>H</i> -9-Fluorenilmethoxycarbonyl	<b>26.19</b>
11	<b>MDG-904B (a)</b>	<i>p</i> -Methylbenzenesulfonyl	<b>3.10</b>
12	<b>MDG-430A (a)</b>	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	44.80
13	<b>MDG-872B (a)</b>	<i>p</i> -Aminobenzenesulfonyl	73.84
14	<b>MDG-206A (a)</b>	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	51.78
15	<b>MDG-858B (a)</b>	<i>o</i> -Aminobenzenesulfonyl	43.36

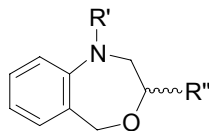
The presence of a lipophilic and electron-withdrawing R' substituent is fundamental for the activity, the acyl groups leading to better results than the sulfonyl ones.

Between the benzenesulfonamides, the amino group on the benzene ring is good for activity when it is situated in *ortho* position; however diminishes the activity if it is *para*. The best substituent for this ring appears to be a *p*-methyl group.

The compound **MDG-310A** has shown a good IC<sub>50</sub> value (22.90 μM).

### 3.4.2. Pyrimidine *O,N*-acetalic derivatives (Library 2).

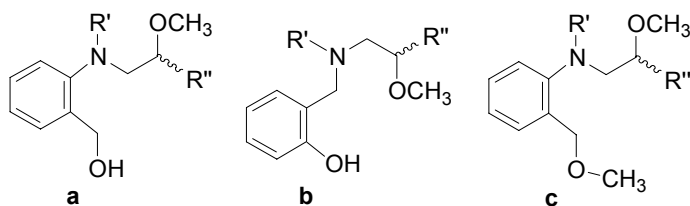
**Table 3.23.** Antiproliferative activity (IC<sub>50</sub>) on MCF-7 cells obtained for pyrimidine cyclic *O,N*-acetalic derivatives.



	Compound	R''	R'	IC <sub>50</sub> (μM)
1	<b>MDG-924C</b>	(N1'') 5-FU	H	102.26
2	<b>MDG-936B</b>	(N3'') 5-FU	H	72.40
3	<b>MDG-612B</b>	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	<b>19.33</b>
4	<b>MDG-612C</b>	(N3'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	<b>19.81</b>
5	<b>MDG-930B</b>	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Aminobenzenesulfonyl	<b>14.37</b>
6	<b>MDG-607B</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	19.70
7	<b>MDG-607F</b>	(N3'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	22.63
8	<b>MDG-878A</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobenzenesulfonyl	54.82
9	<b>MDG-892A</b>	(N3'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobenzenesulfonyl	43.70
10	<b>MDG-850B</b>	(N1'') Uracil	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	39.78
11	<b>MDG-850C</b>	(N3'') Uracil	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	44.28
12	<b>MDG-864B</b>	(N1'') Uracil	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	45.17
13	<b>MDG-864C</b>	(N3'') Uracil	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	50.90

5-FU derivatives have shown to be more active than uracil and, except for amines **MDG-924C** and **MDG-936B**, whether or not the compound presents an aminalic N1'' or a N3'' bond is not important for activity. Again an R' substituent is necessary and it must be lipophilic and be an electron-withdrawing group. Acyl groups are better than sulfonyl ones for the activity. Benzenesulfonamides admit a nitro or amino group situated in *para* position in the benzene ring but only a nitro group in *ortho*.



**Table 3.24.** Antiproliferative activity ( $IC_{50}$ ) on MCF-7 cells obtained for pyrimidine acyclic *O,N*-acetalic derivatives.

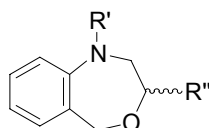
	Compound	R''	R'	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)
1	<b>MDG-708B (a)</b>	(N1'') 5-FU	H	<b>35.97</b>
2	<b>MDG-568D (c)</b>	(N1'') 5-FU	H	<b>21.17</b>
3	<b>MDG-310B (b)</b>	(N1'') 5-FU	Trifluoroacetyl	<b>24.29</b>
4	<b>MDG-680G (a)</b>	(N1'') 5-FU	Benzoyl	<b>16.14</b>
5	<b>MDG-612D (a)</b>	(N1'') 5-FU	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	48.50
6	<b>MDG-607G (a)</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	90.99
7	<b>MDG-898D (a)</b>	(N1'') 5-FU	<i>o</i> -Aminobenzenesulfonyl	$\geq 100$
8	<b>MDG-850D (a)</b>	(N1'') Uracil	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	45.76
9	<b>MDG-850E (a)</b>	(N3'') Uracil	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	55.22
10	<b>MDG-864D (a)</b>	(N1'') Uracil	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	64.81

The most active compounds in this group were again those containing the 5-FU moiety. Benzoyl group as an R' substituent gave better results of activity. Methylation of the benzylic hydroxy group does not significantly influence the biological activity, as can be observed from **MDG-568D** (entry 2).

3.4.3. Purine *O,N*-acetalic derivatives (Library 3).

Purine derivatives are the most active compounds, as can be observed from the  $IC_{50}$  values shown in the following Tables.

**Table 3.25.** Antiproliferative activity ( $IC_{50}$ ) on MCF-7 cells obtained for purine cyclic *O,N*-acetalic derivatives.



	Compound	R''	R'	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)
1	<b>MDG-798D</b>	(N7'') 6-Chloropurine	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	<b>1.22</b>
2	<b>MDG-798C</b>	(N9'') 6-Chloropurine	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	2.73
3	<b>MDG-884B</b>	(N7'') 6-Chloropurine	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	<b>0.92</b>
4	<b>MDG-884A2</b>	(N9'') 6-Chloropurine	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	2.10
5	<b>MDG-953C</b>	(N7'') 6-Chloropurine	<i>o</i> -Aminobenzenesulfonyl	9.14
6	<b>MDG-828C</b>	(N7'') 6-Chloropurine	9 <i>H</i> -9-Fluorenylmethoxycarbonyl	<b>0.84</b>
7	<b>MDG-828B</b>	(N9'') 6-Chloropurine	9 <i>H</i> -9-Fluorenylmethoxycarbonyl	<b>0.67</b>
8	<b>MDG-798D2</b>	(N7'') 6-Purinone	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	(*)
9	<b>MDG-884B2</b>	(N7'') 6-Purinone	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	19.66
10	<b>MDG-828F</b>	(N7'') 6-Purinone	9 <i>H</i> -9-Fluorenylmethoxycarbonyl	53.57
11	<b>MDG-940C</b>	(N7'') 6-Phenylthiopurine	H	48.92
12	<b>MDG-958A</b>	(N7'') 6-Phenylthiopurine	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	<b>0.77</b>
13	<b>MDG-942B</b>	(N7'') 6-Phenylthiopurine	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	2.59

(\*): This compound inhibits proliferation at low concentrations but does not affect the 50% of the cells.

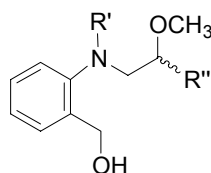
The substituent at 6'' position (purine ring) is essential for the activity and the most rewarding groups are bulky, lipophilic ones (chlorine and phenylthio). To confirm

whether the type of union of the purine ring to the acetalc position is important or not to the biological activity, it will be necessary to study a larger number of compounds.

Substituent R' is essential for the activity and its removal produces an increase up to 50-fold in the IC<sub>50</sub> values. The groups in this position must be lipophilic and bulky ones are also admitted (Fmoc derivatives have led to good activity results). As happened in the former cases, acyl moieties are better for the activity than sulfonyl ones. For benzenesulfonamides, *ortho* substitution gives better results than *para*, and nitro group is preferred to amino.

Only the acyclic compounds indicated in Table 3.26 were assayed. The activities observed are better than those of pyrimidine derivatives and the isomer N7'' has turned out to be more active than the N9'' one.

**Table 3.26.** Antiproliferative activity (IC<sub>50</sub>) on MCF-7 cells obtained for the purine acyclic O,N-acetalic derivatives.



	Compound	R''	R'	IC <sub>50</sub> (μM)
1	<b>MDG-798E</b>	(N9'') 6-Chloropurine	<i>p</i> -Nitrobenzenesulfonyl	18.70
2	<b>MDG-884D</b>	(N7'') 6-Chloropurine	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	<b>3.25</b>
3	<b>MDG-884C</b>	(N9'') 6-Chloropurine	<i>o</i> -Nitrobenzenesulfonyl	11.30



## **4. Conclusions**



#### 4. Conclusions.

- 11.- (*RS*)-3-Methoxy-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepines are prepared from 2-aminobenzyl alcohol in a five-step synthetic procedure, which includes a Mitsunobu alkylation and an acid-mediated cyclization that leads to (*RS*)-3-methoxy-1-(nitrobenzenesulfonyl)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepines, **MDG-430A** and **MDG-206A**. Both compounds have resulted suitable intermediates for the preparation of the secondary amine **MDG-484D**, which permits the synthesis of differently *N*1-substituted rings.
- 12.- (*RS*)-2-Methoxy-2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepines are prepared from 2-hydroxybenzaldehyde in a three-step synthetic procedure, which includes a reductive amination and an acid-mediated cyclization leading to (*RS*)-2-methoxy-4-trifluoroacetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,4-benzoxazepine, **MDG-292A**.
- 13.- The *O,O*-acetalic compounds (*RS*)-1-(2-nitrobenzenesulfonyl)-3-methoxy-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepine, **MDG-206A**, and (*RS*)-1-(4-nitrobenzenesulfonyl)-3-methoxy-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepine, **MDG-430A**, are better substrates than (*RS*)-1-acyl-3-methoxy-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepine derivatives in the Lewis-acid-mediated condensation with pyrimidine and purine bases. **MDG-206A** leads to slightly higher yields of cyclic products than **MDG-430A**. Between

the 1-acyl derivatives better results are obtained from carbamate substrates than carboxamide ones. The best results of the condensation reaction from nitrobenzenesulfonyl substrates have been obtained using acetonitrile as solvent, tin (IV) chloride as Lewis acid and a reaction temperature of 50 °C.

**14.-** When (*RS*)-3-methoxy-4,1-benzoxazepine *O,O*-acetals, **MDG-206A** and **MDG-430A**, are condensed with 5-FU or uracil in the presence of tin (IV) chloride in acetonitrile, different ratios of the final cyclic and acyclic *O,N*-acetals are obtained depending on the pyrimidine base. From 5-FU, acyclic *O,N*-acetals are obtained as the main reaction products. However, uracil leads to higher amounts of cyclic than acyclic products. In general, uracil gives rise to better yields than 5-FU. When 6-chloropurine is used, the ratio of cyclic and acyclic products depends on the *O,O*-acetalic substrate.

When the (*RS*)-2-methoxy-1,4-benzoxazepine *O,O*-acetalic compound **MDG-292A** is condensed with 5-FU, the acyclic *O,N*-acetalic product is only formed.

**15.-** Using acetonitrile and tin (IV) chloride, 5-FU mainly reacts through its *N1''* position. However, uracil does so through *N3''* or *N1''* to form cyclic or acyclic compounds, respectively. In the same reaction conditions, 6-chloropurine leads to the *N7''* aminalic bond in the cyclic products and to the *N9''* aminalic bond in the acyclic ones.

**16.-** The multiplicity of the different signals in <sup>1</sup>H-RMN spectra and/or specific NOE interactions are useful for the identification of the type of bonding that 5-FU or uracil establish in the *O,N*-acetalic compounds. HMBC experiments are useful for the identification of the purine aminalic bond.

Furthermore, other spectroscopic features (chemical shifts and coupling constants values of specific hydrogen and carbon atoms) permit, by comparison, the differentiation between the type of aminalic bond for each of the *O,N*-acetalic regioisomers.

**17.-** Acyclic *O,N*-acetals presenting a trisubstituted anilinic nitrogen appear as a mixture of two structures in the nuclear magnetic resonance spectra registered at r.t. However, coalescence of both structures is observed when the sample is heated.



- 18.-** Substitution of the chlorine atom at the 6 position of purine, is more feasible when the ring is alkylated at *N7* than at *N9* position. Exchange with a hydroxyl group is performed with water traces in deuterated dimethylsulfoxide at r.t. in a solvent-mediated process. Furthermore, this process takes place in acetonitrile at 50 °C in the presence of a Lewis acid. The exchange with strong nucleophiles (e.g. thiophenol) does not need further activation.
- 19.-** The presence of a nitrogen atom instead of an oxygen atom in the heterocyclic fragment of these benzoheterocycles, improves their antiproliferative activities and these biological activities can be modulated through the nature of *R'* and *R''* substituents.
- 20.-** Compounds showing the highest antiproliferative activity on the human breast cancer MCF-7 cells are 6-chloropurine and 6-phenylthiopurine derivatives, with  $IC_{50}$  values below 1  $\mu$ M. Cyclic compounds are more active than acyclic ones and the presence of an electron-withdrawing *R'* substituent is optimal for antiproliferative activity. Further studies based on differentiation and apoptotic molecular markers will be conducted for the most active compounds, ***MDG-884A2***, ***MDG-828B***, ***MDG-828C*** and ***MDG-942B***.