

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 675 951**

51 Int. Cl.:

A61K 31/122	(2006.01)	A61K 45/06	(2006.01)
A61K 31/13	(2006.01)	A61P 35/00	(2006.01)
A61K 31/192	(2006.01)	A61P 11/06	(2006.01)
A61K 31/201	(2006.01)	A61P 11/00	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01)	A61P 29/00	(2006.01)
A61K 31/203	(2006.01)	A61P 19/02	(2006.01)
A61K 31/454	(2006.01)	A61P 17/06	(2006.01)
A61K 31/7068	(2006.01)	A61P 9/00	(2006.01)
A61K 33/24	(2006.01)	C07C 50/12	(2006.01)
A61K 31/198	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.09.2008 PCT/US2008/077213**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2009 WO09042544**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.09.2008 E 08834585 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.05.2018 EP 2203161**

54 Título: **Derivados de quinona, composiciones farmacéuticas y usos de los mismos**

30 Prioridad:

26.09.2007 US 975396 P
21.11.2007 US 989566 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.07.2018

73 Titular/es:

INDIANA UNIVERSITY RESEARCH AND TECHNOLOGY CORPORATION (50.0%)
518 Indiana Avenue
Indianapolis, IN 46202, US y
PURDUE RESEARCH FOUNDATION (50.0%)

72 Inventor/es:

KELLEY, MARK, R.;
BORCH, RICHARD, F. y
NYLAND, RODNEY, L., II

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 675 951 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de quinona, composiciones farmacéuticas y usos de los mismos

Campo de invención

5 La presente invención se refiere en general a los campos de la biología molecular, la bioquímica y la patología. Más específicamente, en ciertos aspectos, la invención se refiere a derivados de quinona de la presente reivindicación 1 útiles como inhibidores redox Ape1/Ref-1, una composición farmacéutica que comprende estos derivados de quinona y usos médicos de los mismos.

Antecedentes

10 La endonucleasaapurínica/apirimídica (Ape1), también conocida como factor efector redox (Ref-1) (en lo que sigue, Ape1/Ref-1 o Ape1) es una enzima con un doble papel. Además de su actividad de reparación por escisión de base de ADN (BER), Ape1/Ref-1 también funciona como un efector redox que mantiene los factores de transcripción en un estado activo reducido. Todas las estructuras de rayos X actualmente disponibles para Ape1 representan el sitio de reparación de escisión de base (BER), y se conoce poca información estructural sobre el sitio redox. La cisteína 65 es el residuo crítico para la función redox, desafortunadamente no es solvente accesible en ninguna estructura.

15 Se ha demostrado que Ape1/Ref-1 estimula la actividad de unión a ADN de varios factores de transcripción tales como HIF-1 α , NF κ B, AP-1 y p53, y otros conocidos y desconocidos, que están relacionados con la supervivencia del tumor y progresión (Evans et al., *Mutat Res* 2000, 461, 83). Se ha demostrado que la expresión de Ape1/Ref-1 está alterada en una variedad de cánceres incluyendo tumores de mama, cervicales, de células germinales, gliomas adultos y pediátricos, osteosarcomas, rhabdomyosarcomas, cáncer de pulmón de célula no pequeña y mieloma múltiple (Puglisi et al., *Oncol Rep* 2002, 9, 11; Thomson et al., *Am J Pediatr Hematol Oncol* 2001, 23, 234; Roberston et al., *Cancer Res* 2001, 61, 2220; Puglisi et al., *Anticancer Res* 2001, 21, 4041; Koukourakis et al., *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001, 50, 27; Kakolyris et al., *Br J Cancer* 1998, 77, 1169; Bobola et al., *Clin Cancer Res* 2001, 7, 3510). La expresión alta de Ape1/Ref-1 también se ha asociado con un resultado pobre para la quimiorradioterapia, una tasa de respuesta completa pobre, un intervalo local sin recaídas más corto, una supervivencia más pobre y una angiogénesis alta (Koukourakis et al., *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001, 50, 27; Kakolyris et al., *Br J Cancer* 1998, 77, 1169; Bobola et al., *Clin Cancer Res* 2001, 7, 3510). Fishel, Melissa L et al. *Molecular Aspects of Medicine*, 2007 Jun-Aug, vol.28, no. 3-4, 375-395 describe que el ácido 3-((5-(2,3-dimetoxi-6-metil-1,4-benzoquinolil))-2-nonil-2-propenoico es un inhibidor específico de la función redox Ape1/Ref-1. Masaki et al. *Nf κ B transcription factor inhibitor* 1995, JP 07291859, describe que el ácido 3-((5-(2,3-dimetoxi-6-metil-1,4-benzoquinolil))-2-nonil-2-propenoico se puede usar en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, autoinmunes y virales, artritis reumatoide crónica, arteriosclerosis, síndrome de Behcet, periarteritis ganglionar, esclerosis hepática, mieloma múltiple, etc. en su función como inhibidor de Nf κ B. La angiogénesis es un componente importante del crecimiento del cáncer y metástasis. La formación de nuevos vasos sanguíneos en el sitio de un tumor canceroso proporciona una fuente de nutrientes para acelerar el crecimiento y la expansión del tumor, así como una ruta para que las células tumorales ingresen al torrente sanguíneo y se diseminen a otras partes del cuerpo. De este modo, la inhibición eficaz de la angiogénesis es un mecanismo útil para retrasar o prevenir el crecimiento y la diseminación del cáncer. Un aumento de la actividad de Ape1/Ref-1 se ha asociado con la angiogénesis. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es una importante proteína de señalización implicada tanto en la vasculogénesis como en la angiogénesis. Ape1/Ref-1 es un componente del complejo de transcripción inducible por hipoxia formado en el elemento de respuesta hipóxica del gen de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Ziel et al., *Faseb J* 2004, 18, 986).

40 Además del cáncer, la angiogénesis alterada contribuye a afecciones patológicas relacionados con, entre otros, enfermedad cardiovascular, enfermedad inflamatoria crónica, artritis reumatoide, retinopatía diabética, maculopatía degenerativa, fibroplasia retroental, fibrosis pulmonar idiopática, síndrome de dificultad respiratoria aguda en adultos, asma, endometriosis, psoriasis, queloides y esclerosis sistémica. La inhibición de la angiogénesis es un resultado clínico deseable para la mejora o prevención de enfermedades que implican la angiogénesis alterada.

45 Dado el papel que el sitio redox parece jugar en patologías, es deseable diseñar y sintetizar compuestos que preferiblemente inhiban selectivamente la ruta redox.

Resumen de la invención

50 Esta solicitud describe los derivados de quinona de la presente reivindicación 1 que se dirigen al sitio redox de Ape1/Ref1. También se incluyen en la invención formulaciones farmacéuticas que contienen estos derivados y usos terapéuticos de estos derivados.

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas. Las materias que no están abarcadas por el alcance de las reivindicaciones no forman parte de la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: rutas de BER después de ya sea actividad de glicosilasa simple o compleja

Figura 2: mutación puntual T58C para introducir cisteína derivada en Ape1 de pez cebra.

Figura 3: datos de EMSA para mutantes de tipo salvaje Ape1 (C65) y C65A/C65A.

Figura 4: distribución de los dominios redox y de reparación (parte superior) así como la secuencia de localización nuclear en Ape1.

5 Figura 5: A. Representación de la superficie del cristal pdb 1DEW para Ape1.⁹ La cisteína 65 se indica con la flecha. B. Representación del sitio activo BER en la misma estructura pdb.

Figura 6: inhibidores de la proteína de Ape1.

Figura 7: mecanismo propuesto para la esterificación intramolecular durante la oxidación del ácido nítrico de (Z)-44a.

Figura 8: derivados de amida simples.

10 Figura 9: espectros de HPLC de reacciones de oxidación y acoplamiento para sintetizar la quinona 92.

Figura 10: datos EMSA para E3330 (1) y derivados 10a (enlace doble no sustituido) y 64 (enlace doble sustituido con metoxietilo).

Figura 11: datos de EMSA para E3330 (1) y derivado 10e (olefina sustituida con n-butilo).

15 Figura 12: A. Cristal del inhibidor 43a usado para el estudio de difracción de rayos X. B. Estructura generada a partir de los datos recopilados de los estudios de difracción de rayos X en 43a.

Figura 13: estructura derivada del estudio de difracción de rayos X.

Figura 14: espectros HMQC de A. E-42a; B. Z-42a; C. 9f; y D. 79.

Figura 15: espectro nOe de A. E-42a; B. Z-42a; C. 9f; y D. 79.

20 Figura 16: Análisis de los isómeros Z y E (Z)-77 y (E)-77, respectivamente, mediante comparación directa de los espectros de ¹H RMN (A/B), espectros de HMQC (C/D), mejora de nOe de la irradiación de protones alilo (E/F), y mejora nOe de la irradiación de protones de vinilo (G/H). A/B.

Figura 17: Comparación directa de los isómeros Z y E (Z)-81 y (E)-81, respectivamente, por sus correspondientes espectros de ¹H RMN (A/B), espectros de HMQC (C/D) y mejora nOe de la irradiación de protones de vinilo (E/F).

Descripción detallada

25 Los procesos reguladores más importantes para el genoma son el apoyo de la fidelidad y la integridad del ADN, así como la expresión apropiada de los genes contenidos en el mismo. Más de 130 genes están directamente involucrados en el mantenimiento de la fidelidad dentro del ADN, y potencialmente más de 2000 factores de transcripción regulan la expresión de genes.¹ Funciones de la endonucleasa apurínica humana-1/factor potenciador redox-1 (Ape1/Ref1) en dos capacidades. La primera función juega un papel integral en la ruta de reparación de escisión de base (BER). La BER es extremadamente importante para regular la fidelidad del ADN así como reparar el daño en el ADN de fuentes exógenas y endógenas, tales como los agentes alquilantes y las especies de oxígeno reactivo (ROS), respectivamente.² La ruta de BER procede mediante la eliminación de una base de purina o pirimidina mediante ya sea una glicosilasa simple o compleja, lo que resulta en la formación de un sitio apurínico (sitio AP). Los sitios AP (Figura 1) se forman del orden de 10⁴ veces por célula por día a través de enlaces glucosídicos espontáneos hidrolizados solos, y cuando se combinan con bases dañadas por agentes alquilantes, ROS, genotoxinas, etc., el aluvión de daño genético es monumental.³ Los sitios abásicos presentan consecuencias perjudiciales para la célula, incluyendo roturas de cadena simple y doble, mutaciones y finalmente apoptosis.² Ape1 es capaz de contrarrestar este ataque genético siendo la única endonucleasa capaz de mellar el esqueleto de fosfato 5' en el sitio AP en el caso de una glicosilasa simple, o extirpar un fosfato de 3'-desoxirribosa (dRP) en el caso de una glicosilasa compleja (Figura 1A y Figura 1B, respectivamente).²

40 Figura 1: Rutas de BER que siguen ya sea una actividad de glicosilasa simple o compleja. A. Después de la eliminación de la base por una glicosilasa simple (MPG), el esqueleto del fosfato está intacto y tiene un sitio apurínico. Ape1 actúa como la endonucleasa 5'a 3', escindiendo el esqueleto 5' al sitio abásico, dejando un 5' fosfato y un 3' hidroxilo. La β-polimerasa actúa entonces como la fosfodiesterasa, eliminando el sitio abásico. B. La eliminación de la base por una glicosilasa compleja (OGG, NTH) da como resultado un sitio abásico flanqueado por una mella 3' que tiene un fosfato unido al 3' hidroxilo. Ape1 luego realiza una actividad de exonucleasa de 3' a 5' para eliminar el sitio abásico, preparándose para el reemplazo de la base por la β-polimerasa. C. Con poca frecuencia, el azúcar en el sitio abásico se puede reducir u oxidar, y Ape1 es responsable de mellar 5' en el sitio abásico. La BER de parche grande se lleva a cabo donde múltiples nucleótidos se unen en 5' al sitio AP y luego se ligan a la cadena dañada.²

50 La porción de información genética que finalmente se transcribe en ARNm para procesar en proteínas necesita regularse tan estrechamente como la fidelidad del ADN. La segunda función de Ape1 controla el estado de oxidación de

una multitud de factores de transcripción responsables de la progresión del ciclo celular, la proliferación celular y la apoptosis, incluida la proteína-1 activadora (API), factor-1 α inducible por la hipoxia (HIF-1 α) y factor nuclear- κ B (NF κ B).^{2,4} Estos factores de transcripción contienen todos residuos de cisteína que se unen a una región promotora específica en un ADN, y después de un ciclo de activación de la transcripción estos factores se oxidan. Se formuló la hipótesis que la cisteína 65 de Ape1 realiza la reducción de los factores de transcripción oxidados.⁵ La importancia de C65 está respaldada tanto por la pérdida de la actividad redox en el mutante C65A como por la ganancia de función en el modelo de pez cebra correspondiente donde un residuo de cisteína crítico se introduce en el mutante T58C (Figura 2).⁶ También existen datos contradictorios que sugieren que C65 no es necesario para la función redox. (Figura 3).⁷ Aunque la mayoría de las investigaciones parecen respaldar un papel de C65 en la regulación redox de los factores de transcripción, un mecanismo redox no es aparente fácilmente porque la cisteína 65 está enterrada dentro de la proteína y por lo tanto no es accesible por los solventes (Figura 5A).

Figura 2: mutación puntual T58C para introducir cisteína derivada en Ape1 del pez cebra afecta a las capacidades redox en el modelo de pez cebra medida por el ensayo de luciferasa.⁶

Figura 3: datos de EMSA para mutantes C65A/C65A y (C65) Ape1 de tipo salvaje. La mutación puntual C64A no afecta la función redox en el Ape1 humano, lo que sugiere que esta cisteína no es necesaria para la regulación redox de los factores de transcripción. Carriles: 1) solución reguladora de dilución solo; 2) DTT 10 mM; 3 a 5) 10, 25 y 50 ng de extracto de pulmón salvaje, respectivamente; 6 a 8) 10, 25 y 50 ng de extracto de pulmón C64A/C64A, respectivamente; 9 a 11) 10, 25 y 50 ng de extracto de corazón de tipo salvaje, respectivamente; 12 a 14) 10, 25 y 50 ng de extracto de corazón C65A/C64A, respectivamente. C64 en Ape1 murino corresponde a C65 en Ape1 humano. La flecha indica sonda de ADN libre.⁷

Las funciones BER y redox de Ape1 se descubrieron por separado, lo que condujo a la creencia de que existían en dos proteínas diferentes; este codescubrimiento es responsable del nombre doble Ape1/Refl. Solo años después de la identificación de ambas funciones se determinó que pertenecían a dos dominios ligeramente superpuestos de la misma proteína (Figura 4).⁸ Distribución de los dominios redox y de reparación (parte superior) así como la secuencia de localización nuclear en Ape1. Sitios de fosforilación (parte inferior) ubicados en toda la secuencia de Ape1.²

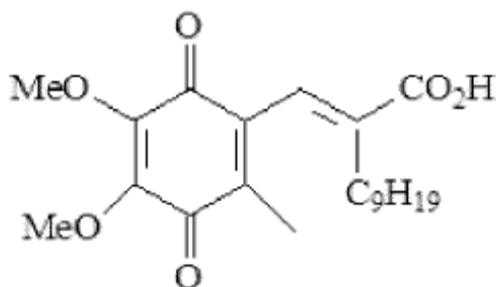
Figura 5: A. Representación de la superficie del cristal pdb de 1DEW para Ape1.⁹ La cisteína 65 está indicada por la flecha. B. Representación del sitio activo BER en la misma estructura pdb.

Se ha encontrado expresión inducida de Ape1 en cánceres de pulmón de células pequeñas, cabeza y cuello, próstata, cuello uterino, células germinales, colon y ovario.² Los sitios AP causados por agentes que dañan el ADN se reparan eficazmente por Ape1, de este modo, la sobreexpresión de Ape1 en el cáncer confiere resistencia a los fármacos que modifican el ADN. La función redox de Ape1 sobreexpresada también ayuda a la célula tumoral, donde el ciclo redox no regulado de los factores de transcripción permite a la célula cancerosa eludir los puntos de control fundamentales del ciclo celular. Ape1 se convierte en un objetivo atractivo para el diseño de fármacos debido a estas dos funciones intrínsecamente importantes, pero las preguntas más importantes que surgen son: ¿qué función debería inhibirse y cómo?

Estructuralmente hay información significativa con respecto al sitio de reparación, con una estructura cristalina de la proteína unida a un sitio abásico en un segmento corto de ADN bicatenario.⁹ Todavía se conoce muy poco acerca de la estructura del sitio redox. Como se mencionó anteriormente, la cisteína redox aparente está enterrada en todas las estructuras cristalinas conocidas, y puede existir una conformación activa redox que aún no se ha capturado por cristalografía. Esto conduce a una gran cantidad de ambigüedad para un enfoque racional de diseño de fármacos, y de este modo, el diseño de inhibidores requiere un enfoque de proporción de actividad estructural (SAR) para determinar las preferencias del sitio activo.

Actualmente, solo hay unos pocos compuestos que se ha demostrado que inhiben Ape1. Lucanthone, un producto natural descubierto y sintetizado en la década de 1950, parece actuar a través de un mecanismo intercalado para inhibir la función de reparación de Ape1.¹⁰ (Compuesto 3, Figura 6) La metoxiamina también actúa para inhibir la función BER; la metoxiamina se condensa con el aldehído presente en el hemiacetal del azúcar abásico, y Ape1 ya no puede reconocer el sitio AP para su reparación.¹¹ (Compuesto 2, Figura 6). Ambos compuestos actúan de forma indirecta para inhibir la función BER de Ape1, pero hasta la fecha no se ha demostrado que nada interactúe directamente con el sitio BER en la proteína Ape1. La cromatografía de afinidad y la transferencia western con fármaco radiomarcado se usaron para mostrar que E3330 (Compuesto 1, Figura 6) era específico solo para Ape1 a partir de un lisado de células en bruto.¹²

La función redox de Ape1/Ref-1 se inhibió selectivamente por el ácido 3-[(5-(2,3-dimetoxi-6-metil,4-benzoquinoyl))-2-nonil-2-propenoico, a continuación (en lo que sigue "E3330", también denominado "RN3-3").



Se puede encontrar información adicional sobre E3330 en Abe et al., Patente de los Estados Unidos 5,210,239. Además, se ha determinado con E3330 que la inhibición selectiva de la función redox de Ape1/Ref-1 da como resultado la inhibición de la angiogénesis y el cáncer alterados.

5 Basado en los hallazgos relacionados con E3330, se hizo un esfuerzo para sintetizar un intervalo de derivados de quinona (benzoquinonas y naftoquinonas) para determinar su efecto sobre el sitio activo redox de Ape1. Otro deseo fue conjugar los derivados a biotina para proporcionar herramientas moleculares para determinar la especificidad y las constantes de disociación (K_D).

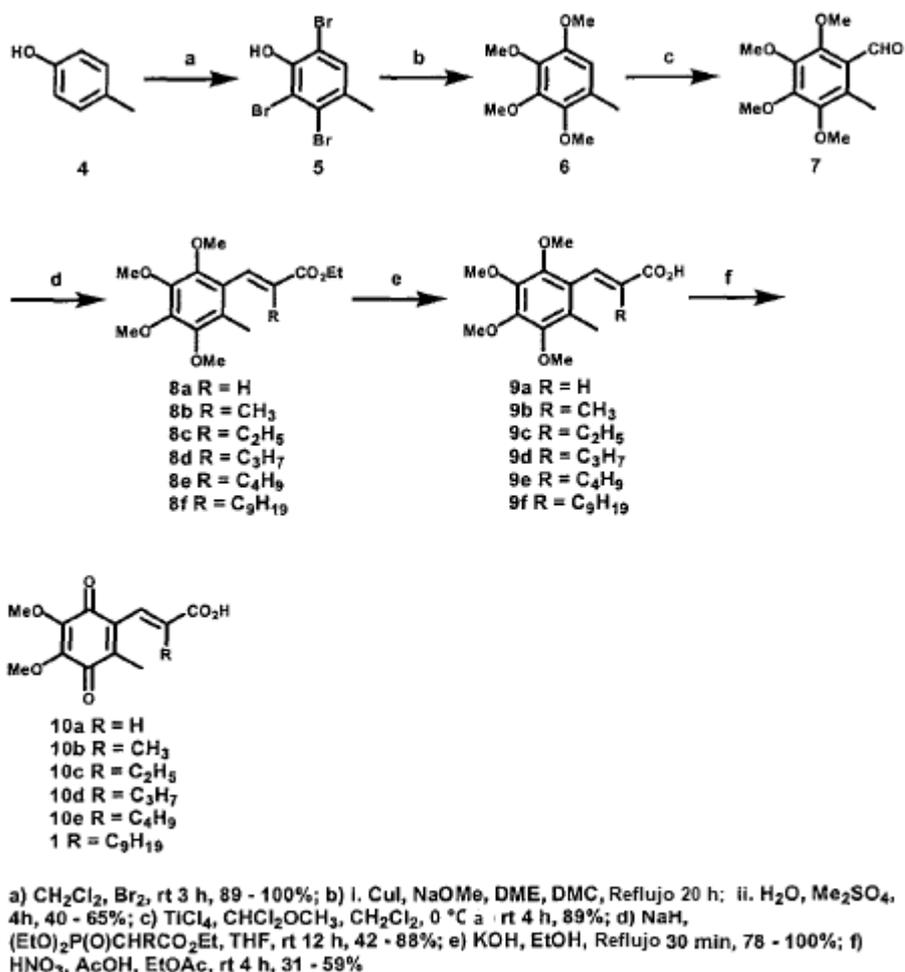
10 Como se ha demostrado que la quinona E3330 inhibe selectivamente el sitio redox de Ape1, esto proporcionó un punto de partida para esfuerzos de síntesis adicionales. Sin información estructural sobre el sitio activo redox en Ape1, el proyecto comenzó con un enfoque SAR, primero examinando la estructura de E3330 para determinar qué aspectos eran importantes y luego aplicando este conocimiento a los derivados de quinona.

15 La condensación de Emmons de 6-metil-2,3,4,5-tetrametoxibenzaldehído (Compuesto 7, Esquema 1) se realizó con una variedad de fosfonoacetatos alquilados. Para hacer que E3330 sea más susceptible a convertirse en fármaco, la cadena lateral de n-nonilo debe truncarse significativamente, pero es igualmente importante asegurarse de que la reducción del tamaño de la cadena no tenga menos efectos deseables en la actividad. La cadena lateral de nonilo se reemplazó con sustituyentes n-butilo, n-propilo, etilo y metilo, así como un derivado no sustituido. También se incluyó una cadena lateral de metoxietilo para comparar con las cadenas laterales alifáticas. Con el fin de modificar el sustituyente metilo del anillo, se sintetizó des-metil-aldehído (Compuesto 19, Esquema 1). Se eligió el derivado 2-cloro porque presentaba una síntesis fácil y desarrollaría aún más el conocimiento sobre la electrónica del anillo de benzoquinona. El sustituyente de cloro sería isostérico al grupo metilo de E3330, aunque electrónicamente diferente. Las observaciones de la serie de benzoquinonas se utilizarían luego para generar una serie de inhibidores de naftoquinona.

20 Se sintetizaron inhibidores de naftoquinona con una variedad de sustituyentes en la posición 3, mientras se mantenía un grupo de cadenas laterales. La sustitución de metilo se examinó por primera vez para correlacionarse con la serie E3330. Los derivados halogenados (bromo, cloro, fluoro) se sintetizaron a continuación para examinar los efectos de sustituyentes electronegativos que reemplazan al grupo metilo del anillo. Luego se probaron derivados de metoxi y metiltio para observar el efecto de incluir sustituyentes que son electronegativos, pero significativamente mayores que el compuesto de metilo original.

25 También se emplearon la epoxidación y reducción del enlace doble, así como la síntesis del isómero Z. El grupo funcional carboxilato se modificó mediante la preparación del éster metílico y la hidroxietilamida. Estos derivados finales arrojan luz sobre la importancia con respecto a la totalidad de la unidad estructural de ácido insaturado de los derivados de naftoquinona.

30 Derivados E3330



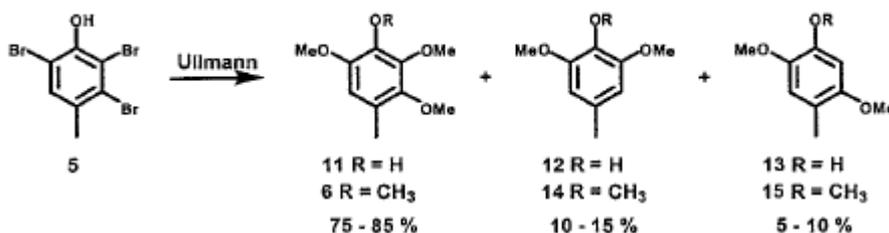
Esquema 1: Síntesis de E3330 y derivados

Primero, se sintetizó E3330. La síntesis de E3330 (1) se realizó en base a una patente japonesa de 1993 como se muestra en el esquema 1.¹³ La prima etapa de la síntesis requiere la tribromación de 4-metilfenol (4) que avanza rápidamente a temperatura ambiente.^{13,14} Las reacciones producen aproximadamente un 90% de rendimiento de un sólido cristalino blanco que se puede separar fácilmente de 2,6-dibromo-4-metilfenol por recristalización en hexano.

5

La segunda etapa en la síntesis de E3330 es la más problemática, donde la metanolisis de tipo Ullmann de 2,3,6-tribromo-4-metilfenol (5) da como resultado múltiples subproductos de reducción que no se describen en la bibliografía.^{13,14} Las condiciones optimizadas de Ullmann en nuestras manos resultan en una mezcla de 4-metil-2,3,6-trimetoxifenol (11, 75-85%), 2,6-dimetoxi-4-metilfenol (12, 10-15%), y 2,5-dimetoxi-4-metilfenol (13, 5-10%). (Esquema 2) Los fenoles resultantes se alquilan para generar 2,3,4,5-tetrametoxi-tolueno (6) y los dos trimetoxi-toluenos (14 y 15). El rendimiento aislado es considerablemente menor que la conversión observada por RMN, y la eliminación de los dos productos secundarios de reacción es necesaria porque ambos conducen a derivados de E3330 que carecen de sustituyentes metoxi cruciales.

10

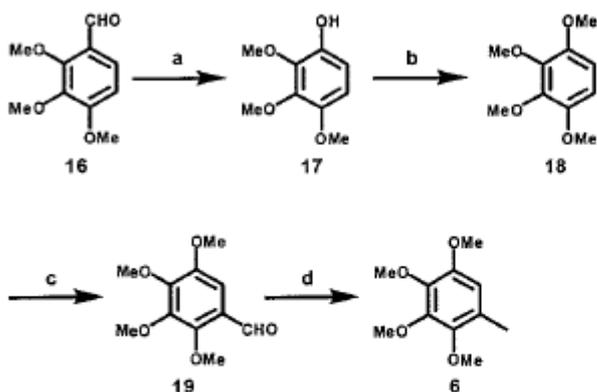


Esquema 2: Productos de reducción observados durante la reacción de Ullmann de 4-metil-2,3,6-tribromofenol

La reacción de Ullmann se puede inactivar y tratar después de la metanolisis mediada por cobre del bromuro de arilo para producir fenol 11, o la alquilación in situ posterior con sulfato de metilo da como resultado tetrametoxi tolueno 6. La primera opción da como resultado un rendimiento disminuido muy probablemente resultante del tratamiento problemático con las sales de Cu. Esto último da como resultado un producto secundario 15 que es difícil de separar, y 14 con lo que la separación es imposible. La primera ruta proporciona un 50-60% de rendimiento de 6 después de una cromatografía tediosa. La segunda ruta da como resultado un 85% de conversión por RMN y una mezcla contaminada con un 10% de 14.^{13,14}

Se ha informado la formilación de 2,3,4,5-tetrametoxitolueno (6) para generar el aldehído 7 y se produce con alto rendimiento.¹⁵ Las reacciones de Emmons posteriores con diversos reactivos fosfonoacetato alquilados dan como resultado la formación de olefina E exclusiva a temperatura ambiente con 6-metil-2,3,4,5-tetrametoxibenzaldehído (8a-f; R = H, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, C₄H₉ y C₉H₁₉). El derivado de hidrógeno (10a) representa la eliminación completa de la cadena lateral, y el derivado de metilo (10b) proporciona la cadena lateral más corta posible.

La hidrólisis del éster se realiza fácilmente con KOH en EtOH y da como resultado un rendimiento cuantitativo del ácido correspondiente. La oxidación del anillo es la transformación final a quinona (10a-e, R = H, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, C₄H₉ y 1, R = C₉H₁₉), donde los rendimientos informados son inferiores al 50%.^{13,16} La oxidación de nitrato de amonio cérico (CAN) da como resultado un rendimiento comparable a la reacción de oxidación del ácido nítrico publicado; sin embargo, el producto resultante de la oxidación del ácido nítrico es mucho más puro.^{13,16} La recristalización es fácilmente posible con el producto de oxidación del ácido nítrico en bruto, mientras que el producto CAN por lo general necesita purificación cromatográfica antes de la recristalización.



a) H₂O₂, H₂SO₄, MeOH, reflujo 3 h, 98%; b) K₂CO₃, MeI, acetona, reflujo 2 d, 82%; c) NMFA, POCl₃, CH₂Cl₂, rt 2 d, 94%; d) KOH, N₂H₄, (CH₂OH)₂, reflujo 8 h, 85%

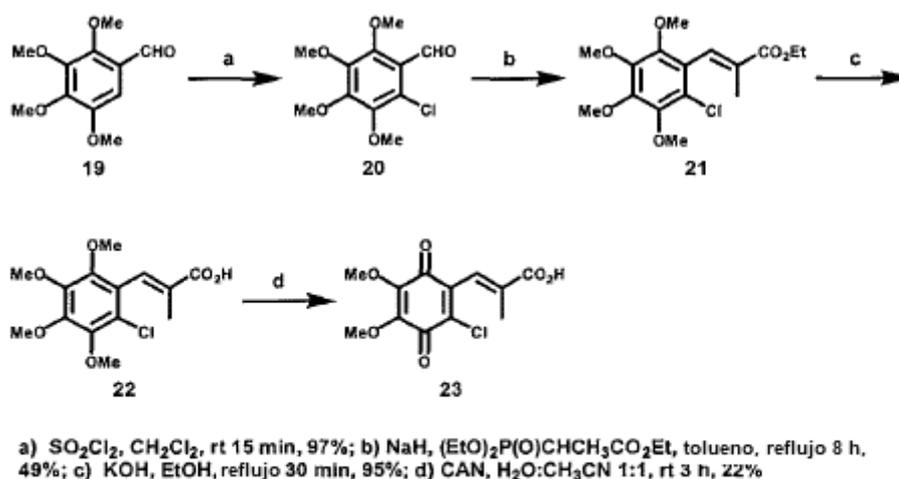
Esquema 3: Síntesis alternativa de 6 derivados modificados en el anillo habilitados

Un método alternativo para generar tetrametoxitolueno 6 en una ruta más limpia y ligeramente más larga se muestra arriba en el esquema 3. Con el fin de eludir los problemas asociados con la reacción de Ullmann, se ideó un nuevo método para incorporar los cuatro sustituyentes metoxi que utiliza la escisión de trimetoxibenzaldehído al correspondiente fenol y luego O-alquilación a tetrametoxibenceno. En esta etapa, la formilación seguida de la reducción

de Wolfe-Kishner proporciona tolueno 6 en mayor rendimiento que la alquilación directa de benceno 18. Otro aspecto notable de esta síntesis es que conduce a un benzaldehído 2-nosustituido (19) listo para la incorporación de sustituyentes en la posición 2 esto no es accesible en la síntesis de la literatura.

5 La oxidación Bayer-Villiger de trimetoxibenzaldehído (16) seguida de la hidrólisis in situ del formiato proporciona la formación cuantitativa de trimetoxifenol (17). El fenol 17 puede luego ser alquilado con un rendimiento del 85% para generar 1,2,3,4-tetrametoxibenceno (18).^{17,18} La primera transformación es suficientemente limpia para evitar una purificación adicional de 17, y el tetrametoxibenceno se recristaliza fácilmente.¹⁷ La formilación del tetrametoxibenceno procede en rendimiento cuantitativo, y luego se lleva a cabo una reducción de Wolfe-Kishner en el benzaldehído 19 resultante para generar tetrametoxitolueno con un rendimiento superior al 90%.¹⁹⁻²¹ Esta es otra transformación de
10 limpieza que no requiere una purificación adicional. Las transformaciones restantes que comienzan con el compuesto 6 ya están descritas en la síntesis original de E3330 y no necesitan más elaboración. (Esquema 1) Esta síntesis modificada de 6 implementa etapas más fáciles para generar E3330 y toma el procedimiento de la bibliografía de 7 etapas con un rendimiento global del 15% hasta una síntesis de 8 etapas con un rendimiento global del 24%.

E3330 2-Cloro



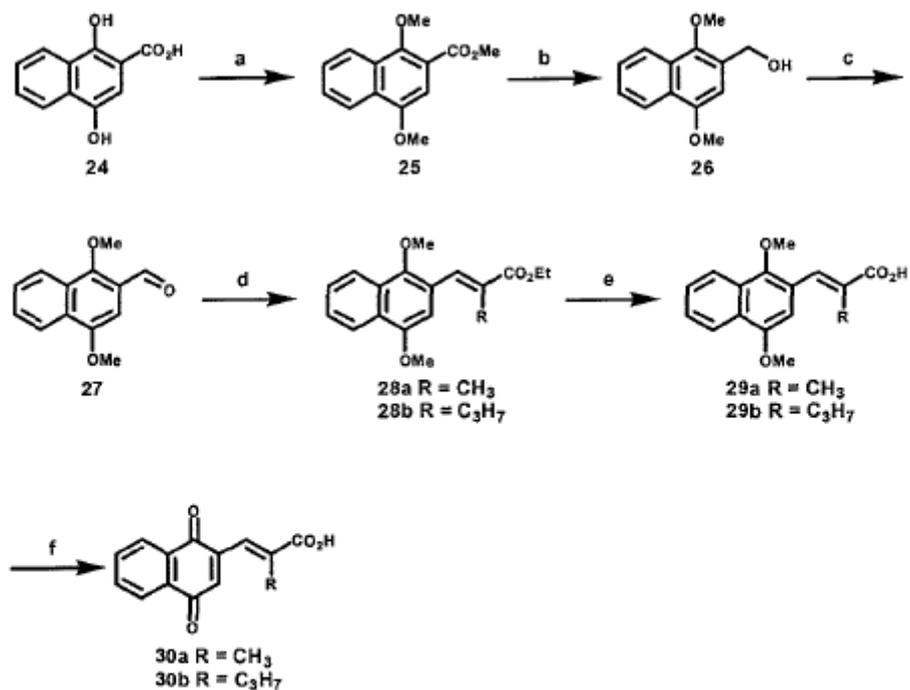
Esquema 4: Derivados modificados en el anillo sintetizados a partir del precursor 19.

15

La síntesis modificada de E3330 también permite la sustitución del anillo no posible con el método de la literatura. Un sustituyente de cloro en la posición 2 de E3330 afectaría la electrónica del anillo mientras se mantiene una sustitución isostérica en el anillo de metilo. Para generar el derivado 2-cloro de E3330 (23), el aldehído 19 se cloró usando SO_2Cl_2 a temperatura ambiente, lo que tiene un rendimiento excelente. A diferencia de los derivados 3-metilo, el derivado 3-cloro 20 sufrió una selectividad E reducida durante la reacción de Emmons, donde hasta el 15% del producto Z se observa a temperatura ambiente. Los isómeros E y Z se distinguen fácilmente por el desplazamiento químico del protón de vinilo. El protón de vinilo del isómero E aparece campo abajo del isómero Z en tanto como 0.5 ppm en algunos derivados. La condensación de Emmons de 20 en tolueno a reflujo proporciona 100% de producto E, que luego se puede saponificar en KOH/EtOH. (Esquema 4) La oxidación final a 23 se intentó inicialmente con ácido nítrico y no se recuperó material de partida o producto. Esto sugirió que las condiciones del ácido nítrico eran demasiado duras para ya sea el tetrametoxibenceno o el producto de quinona. A continuación, CAN se evaluó y se encontró que era un oxidante suficientemente suave para realizar la transformación sin destruir el producto o el material de partida. De este modo, 23 se sintetizaron finalmente a partir de 22 con un 40% de rendimiento por oxidación con CAN.

25

Naftoquinonas 3-no sustituidas

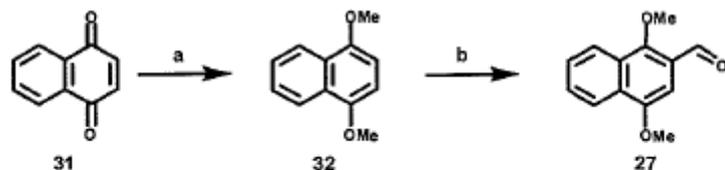


a) K₂CO₃, MeI, acetona, reflujo 12 h, 96%; b) LiAlH₄, THF, rt 8 h, 97%; c) PCC, CH₂Cl₂, rt 8 h, 85%; d) NaH, (EtO)₂P(O)CHRCO₂Et, tolueno, reflujo 8 h, 59 - 73%; e) KOH, EtOH, reflujo 30 min, 83 - 99%; f) HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 4 h, 37 - 58%

Esquema 5: Síntesis basada en la literatura de alcohol 26 y posteriores transformaciones para suministrar naftoquinonas 3-no sustituidas 30a,b.

Los esfuerzos se dirigieron luego hacia la síntesis de derivados de naftoquinona. La serie más simple no incluyó ningún sustituyente en la posición 3; sin un sustituyente estéricamente obstaculizador, estos compuestos ayudarían a exponer el potencial de reacciones de adición de Michael a la quinona.

- 5 Inicialmente, la síntesis del aldehído 27 se realizó usando una ruta que se había usado previamente en el grupo Borch para generar el alcohol 26.²² (Esquema 5) Esta ruta también se usó para generar derivados 3-metilo donde el alcohol 26 se alquiló usando nBuLi/Mel; desafortunadamente, esta alquilación dio como resultado 70-80% de rendimientos donde el material de partida y el producto eran difíciles de separar. Esto condujo a la investigación de otros medios para generar 1,4-dimetoxi-2-naftilaldehído (27) y 1,4-dimetoxi-3-metil-2-naftilaldehído (34). La alquilación reductiva de 1,4-naftoquinona conduce a 1,4-dimetoxinaftaleno 32 en rendimiento cuantitativo.²³ (Esquema 6) La formilación de 32 usando TiCl₄/CHCl₂OCH₃ proporciona aldehído 27.²⁴
- 10



a) i. Pd/C, H₂, THF, rt 4 h, ii. NaH, Me₂SO₄, rt 2 h, 99%; b) NMFA, POCl₃, rt 24 h, 83%

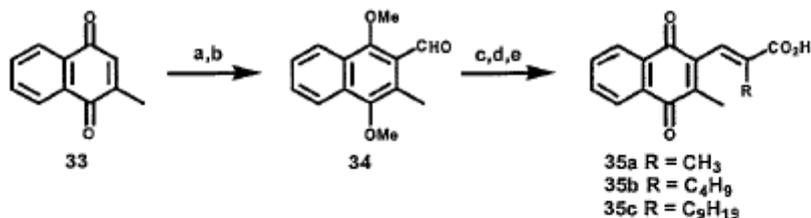
Esquema 6: Síntesis del aldehído 27.

El aldehído 27 se utilizó luego en la reacción de Emmons con ya sea 2-fosfonopropionato de etilo o 2-fosfonopentanoato de etilo para generar los ésteres 28a y 28b, respectivamente. La condensación de Emmons con aldehído 27 precedió a temperatura ambiente para producir casi 100% de producto E. La saponificación y la oxidación de los derivados

15

resultantes procedieron sin incidentes. (Esquema 5) La oxidación final de los naftalenos 3-no sustituidos dio como resultado un rendimiento del 70%.

3-Metil Naftoquinonas

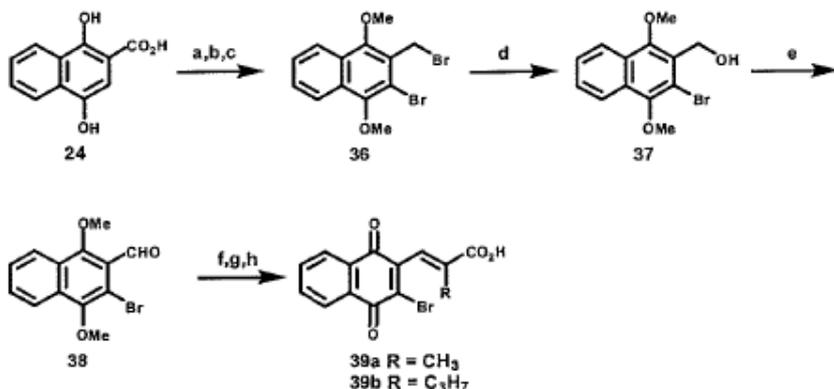


a) i. Pd/C, H₂, THF, rt 4 h, ii. NaH, Me₂SO₄, rt 2 h, 99%; b) DMF, POCl₃, rt 24 h, 69%; c) NaH, (EtO)₂P(O)CH₂CO₂Et, tolueno, reflujo 8 h, 34 - 65%; d) KOH, EtOH, reflujo 30 min, 83 - 100%; e) HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 4 h, 36 - 65%

Esquema 7: Síntesis eficiente de derivados 3-Metil naftoquinona.

- 5 Luego los derivados de 3-metilo se prepararon, la síntesis de la serie 3-metilo comenzó con la alquilación reductiva de naftoquinona 33 seguida de formilación para generar el aldehído 34.^{23,24} (Esquema 7) La reacción de Emmons con el aldehído 34 dio como resultado aproximadamente el 85% de producto E cuando se lleva a cabo en THF a temperatura ambiente y esencialmente 100% de E en tolueno a reflujo. La separación de los isómeros E y Z por cromatografía fue difícil; por lo general el isómero Z no se pudo aislar en forma pura. La hidrólisis del éster usando KOH/EtOH procedió rápidamente a 80 °C, y la oxidación se realizó con ácido nítrico en acetato de etilo.

3-Bromo Naftoquinonas



a) K₂CO₃, MeI, acetona, reflujo 12 h, 96%; b) LiAlH₄, THF, rt 8 h, 97%; c) i. HBr, CH₂Cl₂; ii. Br₂, CH₂Cl₂, 56%; d) CaCO₃, H₂O:Glyme 1:1, reflujo 12 h, 100%; e) PCC, CH₂Cl₂, rt 8 h, 88%; f) NaH, (EtO)₂P(O)CH₂CO₂Et, tolueno, reflujo 8 h, 41 - 47%; g) KOH, EtOH reflujo 30 min, 47 - 100%; h) Ag(II)O, HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 30 min, 46%

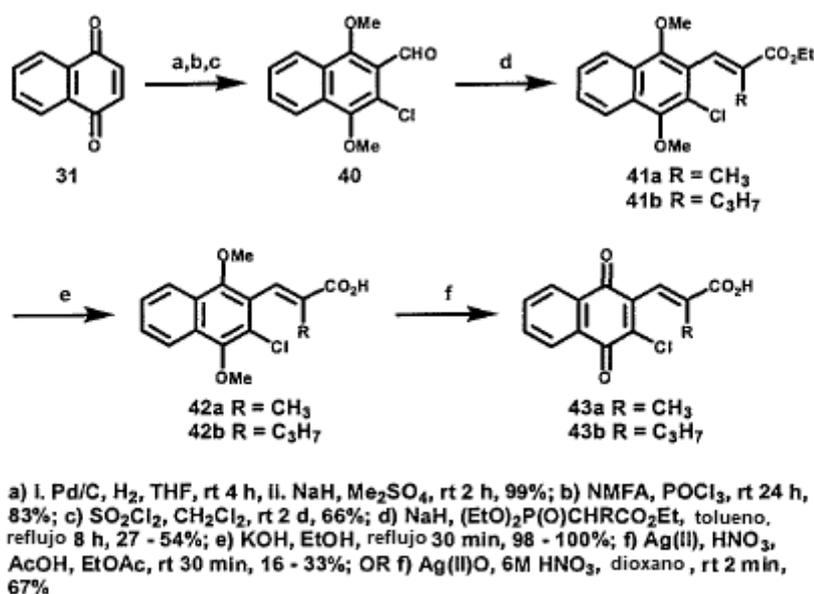
Esquema 8: Estrategia de síntesis inicial para incorporar la sustitución 3-bromo en derivados de naftoquinona.

Se prepararon sustituyentes en la posición 3. Las sustituciones de bromo y cloro fueron los primeros derivados explorados, y luego se preparó flúor con la mayor electronegatividad.

- 15 Los derivados de 3-bromo se prepararon inicialmente mediante una larga síntesis. (Esquema 8). Se encontraron problemas con la bromación del aldehído 27 usando bromo, donde la oxidación del ácido carboxílico se observó como una reacción secundaria. Para evitar este problema, se intentó la bromación del alcohol 26 (Esquema 8) y se descubrió que, independientemente de las condiciones, el HBr generó in situ desplazaba el alcohol para generar el dibromuro 36. (Esquema 8) El alcohol 3-bromo 37 se podría regenerar fácilmente a partir de 36 en rendimiento cuantitativo usando CaCO₃/glyme.²⁵ Oxidación del aldehído 38 proporcionado por el alcohol con un rendimiento razonable. Posteriormente se determinó que la mejor ruta era bromar 1,4-dimetoxi-2-naftaldehído (27), aceptando la pérdida de producto debido a la oxidación.

5 Como un sustrato de Emmons, el 3-bromoaldehído 38 produjo una cantidad significativa de producto de Z-olefina; incluso en tolueno hirviendo se observó 15% de isómero Z. Esto condujo a bajos rendimientos de producto E purificado debido a las dificultades típicas que separan los isómeros E y Z. Después de la hidrólisis, primero se intentó la oxidación a la quinona usando HNO₃/EtOAc/AcOH, pero solo se recuperó el material de partida. Al añadir Ag (II) O a las condiciones del ácido nítrico, se observó la conversión completa a la quinona por TLC y RMN.^{16,22} (Esquema 8) Las quinonas resultantes se obtuvieron con un rendimiento del 70%.

3-cloro naftoquinonas

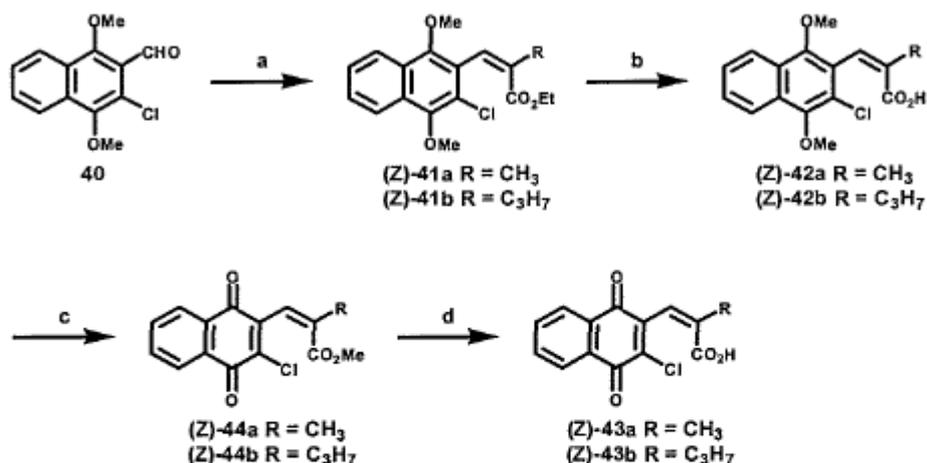


Esquema 9: Síntesis de 3-cloro naftoquinonas a partir del precursor 27 común.

10 La síntesis de la serie 3-cloronaftoquinona se realizó a partir del aldehído 27. El SO₂Cl₂ demostró ser un reactivo mucho más suave que los reactivos de bromación, de este modo no se encontraron problemas al convertir el 27 en cloroaldehído 40. (Esquema 9) Como enfoque alternativo, se hicieron intentos para formular 2-cloro y 2-bromo-1,4-dimetoxinaftaleno. Sin embargo, parece que la naturaleza de extracción de electrones de los halógenos era demasiado grande para permitir la formulación de estos sustratos.

15 Se utilizó el aldehído 40 como sustrato para la reacción de Emmons, generando ésteres 41a, b con un rendimiento del 75%. La reacción de Emmons con el aldehído 40 dio como resultado una baja selectividad E, se produjo aproximadamente 15% de isómero Z en tolueno en ebullición. (Esquema 9) La hidrólisis y la oxidación final del anillo utilizaron las mismas condiciones que los derivados del 3-bromo y se desarrollaron bien para dar quinonas 43a, b.

Se exploró la posibilidad de separar los isómeros E y Z después de la oxidación final, por lo que una mezcla de los productos E y Z Emmons (E-41a y Z-41a) se saponificó y se oxidó en condiciones típicas. ((Esquema 9, Esquema 10)



a) NaH, (EtO)₂P(O)CH(R)CO₂Et, tolueno, reflujo: 8 h, 5 - 10%; b) KOH, EtOH, reflujo 30 min, 99%; c) Ag(II)O, HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 30 min, 14%; d) 2M HCl, EtOH, reflujo 1 h, 49%

Esquema 10: Transformación no esperada de productos de Emmons de isómero Z bajo oxidación de Z-42b hidrolizado

La mezcla resultante de los productos E y Z se sometió a cromatografía, y dos productos se separaron fácilmente y se analizaron mediante MS y RMN. La banda de elución lenta se identificó como el isómero E puro 43a. El compuesto menos polar parecía ser el isómero Z aunque se observó un pico adicional de 3 protones a 3.06 ppm. Los análisis de RMN y MS finalmente confirmaron que el producto era el éster metílico Z-44a.

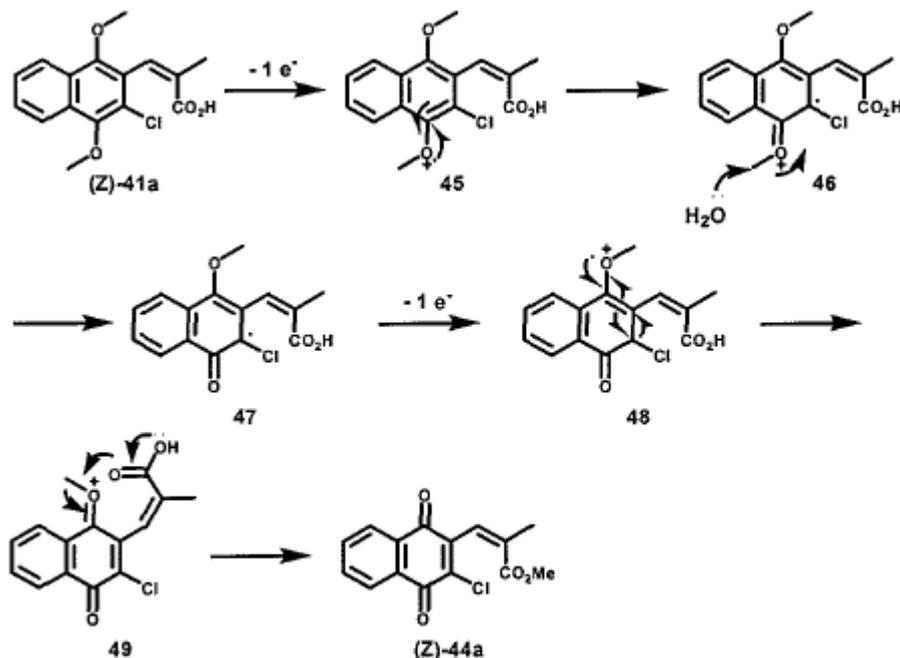
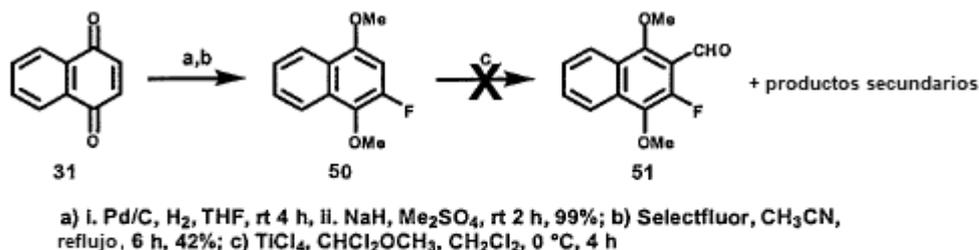


Figura 7; Mecanismo propuesto para esterificación intramolecular durante oxidación de ácido nítrico de (Z)-44a.

Después de examinar los rotámeros potenciales del isómero Z, se hizo evidente que, durante la oxidación, el ácido carboxílico del isómero Z podría atacar al grupo metilo del intermediario 49 de oxonio, realizando una esterificación intramolecular. (Figura 7) Esto se verificó adicionalmente por hidrólisis del éster (Z-44a) en HCl/EtOH; Se intentó KOH/EtOH pero destruyó el material de partida. Por lo tanto, se postuló que la separación de los isómeros éster E y Z no es necesaria después de la reacción de Emmons, porque el éster metílico Z y el ácido carboxílico E son fácilmente

separables después de la oxidación final. Las únicas series que no parecían experimentar esta esterificación intramolecular fueron los derivados 3-no sustituidos, lo que sugiere que la sustitución en la posición 3 favorece al rotámero que puede someterse a ciclación.

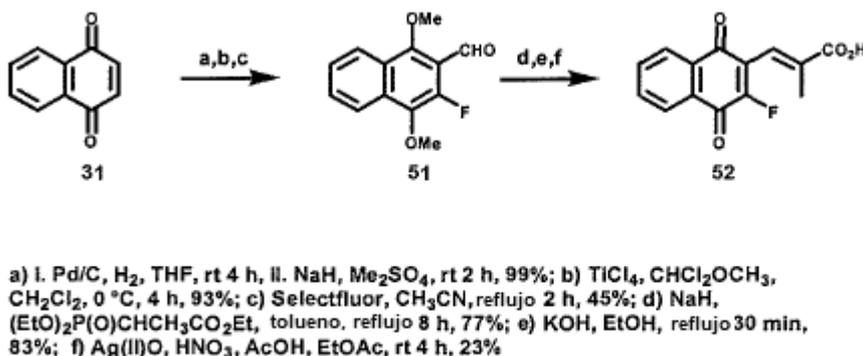
3-Fluoro naftoquinonas



Esquema 11: Estrategia de síntesis inicial para preparar 3-fluoro naftalaldehído 51.

5

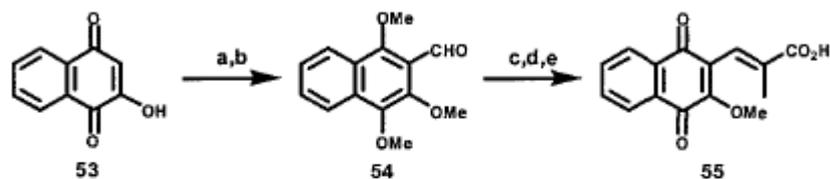
Las fluoraciones aromáticas pueden ser transformaciones difíciles de ejecutar; afortunadamente, los avances en la química del catión fluoruro han permitido la síntesis de compuestos que antes eran inaccesibles. En base a la reactividad, se consideró que el enfoque representado en el esquema 11 genera el aldehído 51, porque el anillo aromático de 1,4-dimetoxinaftaleno (Compuesto 32, Esquema 6) sería más rico en electrones que el del aldehído 27. La fluoración de ambos 1,4-dimetoxinaftaleno para preparar 50, y 1,4-dimetoxi-2-naftaldehído para producir 51 procedió bien en reflujo de acetonitrilo, aunque la reacción con el aldehído 27 produjo productos secundarios que dieron como resultado rendimientos más bajos. Luego se intentó la formilación de 50 usando TiCl₄ y CHCl₂OCH₃ en CH₂Cl₂ y, sorprendentemente, el material de partida se consumió por completo en 4 horas. Se esperaba que con el electrón que retiraba flúor adyacente al sitio de formilación, esta transformación sería difícil; sin embargo, la TLC de la mezcla de reacción mostró un componente que tenía el mismo R_f que el aldehído 51 sintetizado previamente. Tras examinar el producto de reacción por RMN, se determinó que el compuesto formilado no era simplemente aldehído 51, sino una mezcla de cuatro regioisómeros. ¹⁹F RMN dio el análisis más convincente de la mezcla de reacción, ya que había tres conjuntos de dobletes correspondientes a átomos de flúor adyacentes a un protón aromático, y un singlete correspondiente al producto 3-fluoro 51 obtenido por fluoración de aldehído 27 no sustituido. Los dobletes poseían las mismas constantes de acoplamiento observadas en 1,4-dimetoxi-2-fluoronaftaleno, y era obvio que la estrategia representada en el esquema 11 no iba a funcionar.



Esquema 12: Síntesis revisada de 3-fluoro aldehído 51 y posterior transformación para generar 3-fluoro naftoquinona 52.

Afortunadamente, el aldehído 51 se había sintetizado previamente por fluoración del aldehído 27, por lo que la reacción de Emmons se llevó a cabo usando 51. (Esquema 12) El aldehído 51 poseía una selectividad E: Z similar a los otros 3-haloaldehídos, donde la mezcla de reacción en bruto era aproximadamente 5:1 E:Z. Se recogieron pequeñas cantidades de isómeros Emmons puros para el análisis espectral. La mayoría del producto se recogió como una mezcla de los dos isómeros, y la mezcla se usó en la posterior saponificación y oxidación. Como se esperaba, el isómero Z se convirtió completamente en el éster metílico durante la reacción de oxidación final, lo que permite una separación rápida del producto final del ácido E. El éster metílico Z se hidrolizó luego con HCl 2 M en THF para generar el producto Z.

30 3-Metoxi naftoquinonas



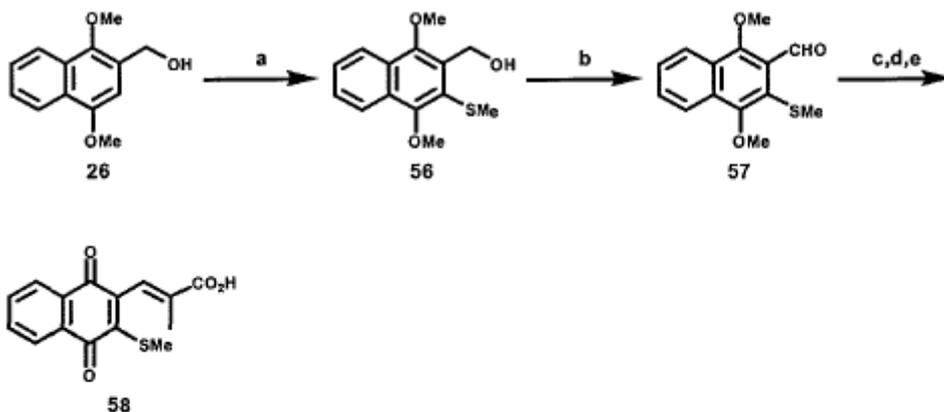
a) i. Pd/C, H₂, THF, rt 4 h, ii. NaH, Me₂SO₄, rt 2 h, 71%; b) i. nBuLi, THF, 0 °C a rt 1 h, ii. DMF, rt 20 min, 89%; c) NaH, (EtO)₂P(O)CHCH₃CO₂Et, tolueno, reflujo 8 h, 27%; d) KOH, EtOH, reflujo 30 min, 100%; e) HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 4 h, 27%

Esquema 13: Estrategia de síntesis de preparación de 3-metoxinaftoquinona 55.

Los átomos electronegativos ya se han sustituido en la posición 3 de los derivados de naftoquinona; sin embargo, todos los sustituyentes fueron halógenos que son relativamente isostéricos al grupo metilo. Los sustituyentes Metoxi y metilitio fueron explorados posteriormente que retendrían un carácter electronegativo pero poseen mayor volumen estérico

- 5 La síntesis del derivado 55 de naftoquinona sustituido con 3-metoxi se representa en el esquema 3. La reacción de Emmons con el aldehído 54 como sustrato dio como resultado la selectividad E más baja de cualquier sustrato encontrado; se observa casi un 50% de Z en tolueno en ebullición. La separación de los ésteres E y Z resultantes resultó difícil y solo se recogieron pequeñas cantidades de isómero E purificado. La saponificación final y la oxidación se llevaron a cabo sin problemas.

10 3-Metilitio naftoquinonas



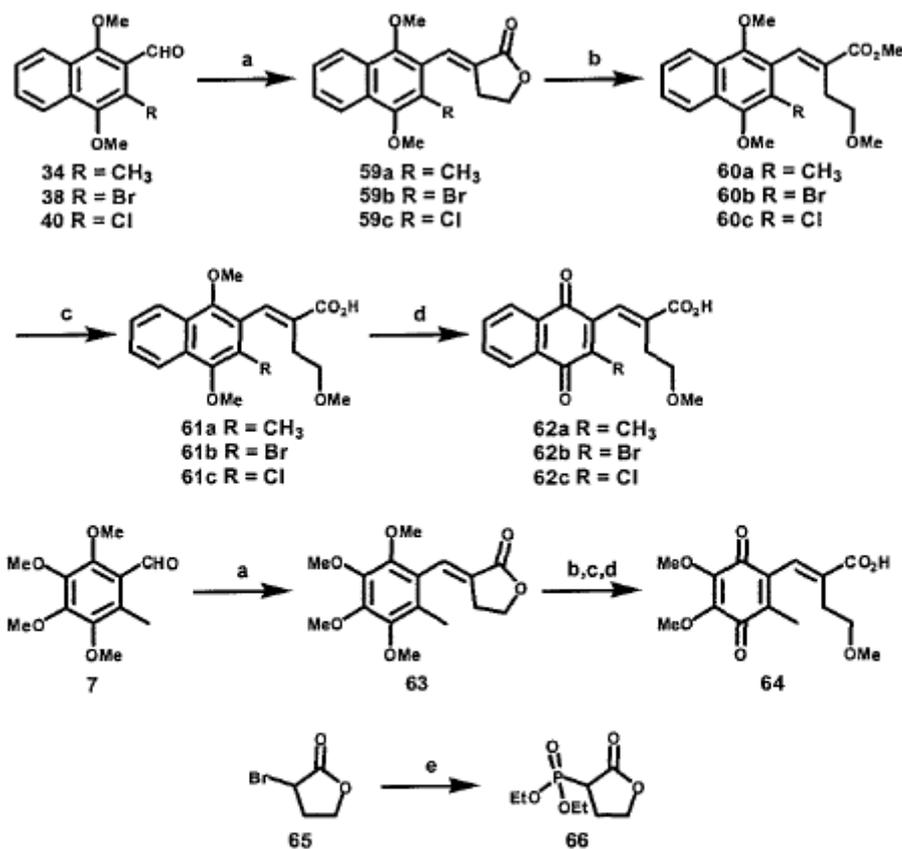
a) i. nBuLi, THF, 0 °C to rt, rt 3 h, ii. Me₂S₂, rt, 30 m; 71% b) PCC, CH₂Cl₂, rt 8 h, 62%; c) NaH, (EtO)₂P(O)CHCH₃CO₂Et, tolueno, reflujo 8 h, 55%; d) KOH, EtOH, reflujo 30 min, 100%; e) HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 4 h min, 38%

Esquema 14: Síntesis basada en la literatura de alcohol metilitio 56 y posteriores transformaciones para producir metilitio naftoquinona 58.

Para generar los derivados de 3-metilitio naftoquinona, el alcohol 26 se desprotonó usando nBuLi y se dejó reaccionar con metildisulfuro.²² (Esquema 14). Se observó un rendimiento reproducible del 80% en la formación de 56. La reacción de Emmons procedió con baja selectividad E; aproximadamente el 30% de isómero Z se observó por RMN. Curiosamente, de todas las naftoquinonas sintetizadas, los derivados 3-no sustituidos tenían la mayor selectividad E cuando la reacción Emmons se realizó a temperatura ambiente. Esto es muy probablemente debido a la influencia estérica que experimenta la unidad estructural ácido insaturado de los sustituyentes más voluminosos de la posición 3. El isómero E purificado se saponificó y se oxidó para generar 58 en forma de un sólido de color rojo.

- 15

Quinonas de cadena lateral de éter



a) NaH, 66, tolueno, reflujo 8 h, 42 - 100%; b) H₂SO₄, CH(OCH₃)₃, MeOH, reflujo 12 h, 58 - 100% c) KOH, EtOH, reflujo 30 min, 77 - 100%; d) Ag(II)O, HNO₃, AcOH, rt 4 h, 19 - 70%; e) POEt₃, reflujo, 5 h, 72%

Esquema 15: Estrategia de síntesis de incorporación de una cadena lateral en las series benzoquinona y naftoquinona.

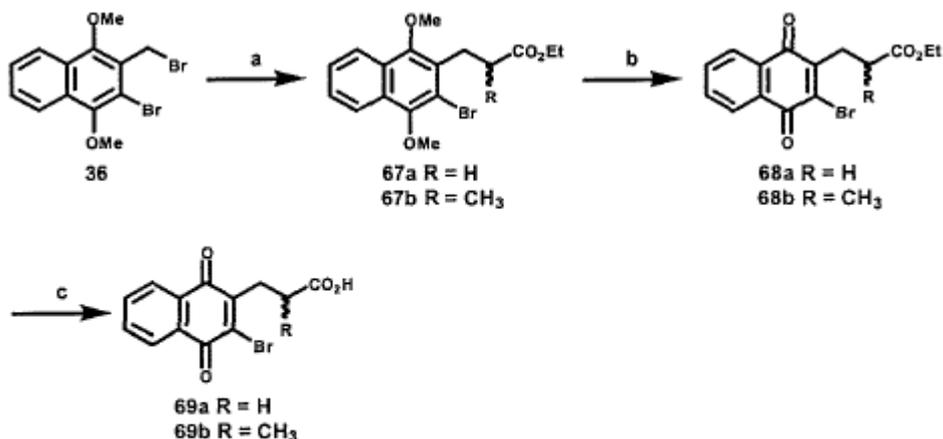
Se empleó un grado de diversidad en la cadena lateral instalando una cadena lateral de metoxietilo en un número de derivados. La síntesis del fosfonato de butirolactona 66 por el método de Arbusov seguido por una reacción de Emmons dio como resultado las lactonas 59a-c y 63 con un rendimiento razonable.²⁶ (Esquema 15) El derivado de benzaldehído 63 mostró la selectividad E más alta; los derivados de 3-metil, 3-bromo y 3-cloro naftaldehído dieron como resultado 15-30% de isómero Z. La separación de isómeros fue tan difícil con los productos de lactona Emmons como con los derivados alifáticos. Después de la purificación, las lactonas se convirtieron en éter/ésteres 60a-c usando trimetil ortoformiato en metanol hirviendo con H₂SO₄ catalítica.²⁷ La saponificación y la oxidación dieron los productos finales 62a-c y 64 con un rendimiento razonable. Los derivados 3-cloro (62c) y 3-bromo (62b) requirieron Ag (II) O durante la oxidación del ácido nítrico a la quinona, mientras que los derivados de metilo (62a y 64) se convirtieron con ácido nítrico.

Naftoquinonas saturadas con 3-bromo. El enlace doble de E3330 se conservó en todos los compuestos preparados hasta ahora, donde se esperaba que la estereoquímica E fuera importante para la unión. Los derivados sintetizados para probar la importancia del enlace doble incluyen el isómero Z del potente inhibidor 43a, un derivado totalmente saturado de 39a y un derivado epoxidado de 43a que mantendría un grado de orientación tridimensional mientras elimina el carácter del enlace doble.

Todos los intentos para reducir el enlace doble del éster 41a usando H₂/Pd, NaBH₄/MeOH/CuCl y N₂H₄/H₂O₂ no tuvieron éxito. Una ruta alternativa se representa en el esquema 16 que utiliza el enolato de propionato de etilo para atacar el halometil-carbono de un 3-halo-2-halometil-1,4-dimetoxinaftaleno. Esto generaría dos enantiómeros en la posición alfa, que luego se podrían hidrolizar y oxidar. Inicialmente, los dos enantiómeros se probarían como una mezcla racémica; si mostraban promesa, podrían resolverse más tarde.

La reacción de 36 con el enolato de litio del propionato de etilo prosiguió rápidamente hasta su finalización. (Esquema 16) Con la flexibilidad de la cadena lateral saturada, se esperaba que ambos enantiómeros experimentasen una

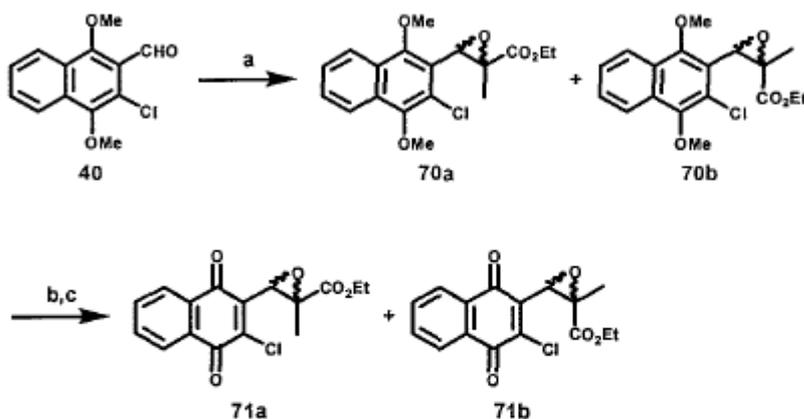
5 esterificación intramolecular durante la reacción de oxidación del anillo. Para evitar esta reesterificación potencial, la hidrólisis del éster etílico se realizó después de la oxidación del anillo. La oxidación del racemato avanzó suavemente con ácido nítrico y Ag (II) O a temperatura ambiente. Después de la purificación, la mezcla racémica se hidrolizó usando HCl 2 M en THF a reflujo para generar 69b como una mezcla de dos isómeros. Usando el mismo procedimiento, se utilizó el enolato de litio de acetato de etilo para generar 69a, el derivado que carece de alfa de sustitución del ácido carboxílico.



a) Li(SiMe₃)₂N, RCH₂CO₂Et, THF, -78 °C a; rt 4 h, 86 - 100%; b) Ag(II)O, HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 4 h, 27 - 41%; c) HCl, EtOH, reflujo; 63 - 78%

Esquema 16: Síntesis de 3-bromo naftoquinonas saturadas 69a y b.

10 Naftoquinonas de 3-cloroepóxido. Inicialmente, la ruta más prometedora para formar los epóxidos 70a, b parecía estar llevando a cabo una reacción de Prelezhof sobre el éster 41a. Desafortunadamente, t-BuOOH, mCPBA y H₂O₂ no generaron el epóxido. Una estrategia alternativa fue condensar el 3-cloroaldehído 40 con el enolato de litio del 2-bromopropionato de etilo en una reacción de Darzens para generar el epóxido.²⁸ (Compuestos 71a y b, Esquema 17). Aunque esta era una ruta establecida de formación de epóxido, la reacción de Darzens tenía el potencial de generar cuatro diastereómeros, mientras que la epoxidación directa de 41a solo produciría dos enantiómeros.



a) Li(SiMe₃)₂N, CH₃CHBrCO₂Et, THF, -78 °C to rt 4 h, 97%; b) KOH, EtOH, reflujo, 1 h, 100%; c) Ag(II)O, HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 3 h, 20%

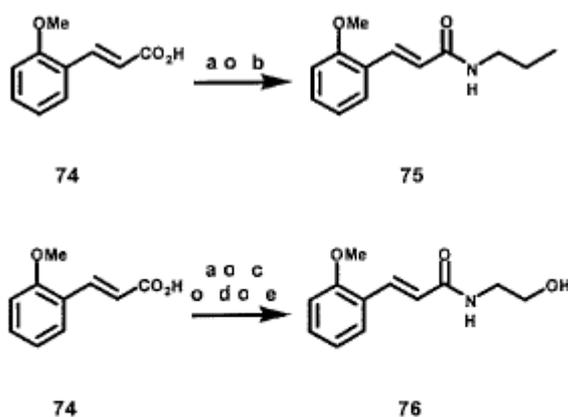
Esquema 17: Condensación de Darzens para generar derivados epóxido de 41a da lugar a 4 diastereómeros

La reacción de Darzens se llevó a cabo en 40, y la mezcla diastereomérica se hidrolizó y se oxidó. Los esfuerzos se dirigirían entonces a separar los isómeros individuales.

5 Derivados de amida y biotina. Los derivados con altas actividades inhibidoras redox se seleccionaron para la derivación del carboxilato para generar las amidas correspondientes. Se deseaba que las amidas permitieran la modificación de los compuestos originales sin afectar al núcleo de naftaleno, que se espera que sea de gran importancia para la unión. Los derivados con un grupo funcional amida proporcionarían un sitio para aumentar la hidrofiliicidad o el anclaje a otras moléculas orgánicas. Los derivados anclados a la biotina a través de un enlace amida actuarían como herramientas moleculares en diversos experimentos que incluyen la cromatografía de afinidad y la resonancia de plasmón superficial (SPR). El primer experimento permitiría el aislamiento de proteínas que interactúan con la derivada, mientras que el último proporcionaría datos de constante de disociación (K_D) para proteínas específicas. Las hidroxietilamidas simples se sintetizaron primero para determinar los efectos de la modificación del grupo carboxilato.

10 Modelo de Química. Los derivados que tienen una función de amida se deben probar para determinar su actividad antes de desarrollar especies complejas conjugadas con biotina. Los derivados de hidroxietilamida de 1 y 43a se debían sintetizar para asegurar que la derivación del ácido carboxílico no afectara negativamente la inhibición redox. (72 y 73, respectivamente, Figura 8). Además de sintetizar amidas modelo, también se requirió la química del modelo para optimizar la transformación de compuestos intermedios preciosos en compuestos biotinilados.

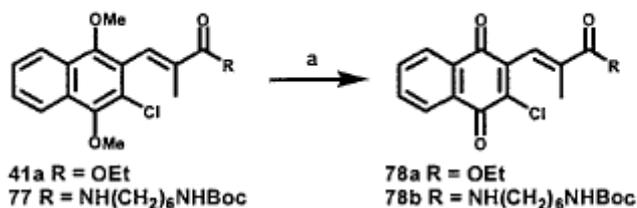
20 El enfoque más directo para las amidas 72 y 73 comienza con la amidación de los dimetoxiarenos correspondientes seguido de la oxidación a la quinona. La prima etapa se optimizó usando ácido trans o-metoxicinámico y etanolamina. (Esquema 18) Se determinó que la N, N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) daba rendimientos más elevados que la 1-[3-(dimetilamino) propil] -3-etilcarbodiimida (EDC/EDCI), donde se observó la conversión completa con la primera y aproximadamente 50 % de conversión con este último. Finalmente, se examinó la estequiometría de los reactivos; dos equivalentes de DCC con 1 equivalente de amina proporcionaron conversión completa a la amida correspondiente.



- a) Ácido, HOBt 0.1 eq, EDCI 1 eq, DMF:CH₂Cl₂ 1:2, rt 40 min, luego amina 1.5 eq. rt, agitar 18 h r.t.
 b) Ácido, HOBt 0.1 eq, DCC 1 eq, DMF:CH₂Cl₂ 1:2, rt 40 min, luego amina 1.5 eq. rt, agitar 18 h r.t.
 c) Ácido, HOBt 0.1 eq, DCC 2 eq, DMF:CH₂Cl₂ 1:1, agitar r.t. 80 min, luego amina 1 eq. rt, agitar 18 h r.t.
 d) Ácido, HOBt 0.1 eq, DCC 1 eq, DMF:CH₂Cl₂ 1:1, agitar r.t. 80 min, luego amina 2 eq. rt, agitar 18 h r.t.
 e) Ácido, HOBt 0.1 eq, DCC 2 eq, DMF:CH₂Cl₂ 1:1, agitar r.t. 80 min, luego amina 2 eq. rt, agitar 18 h r.t.

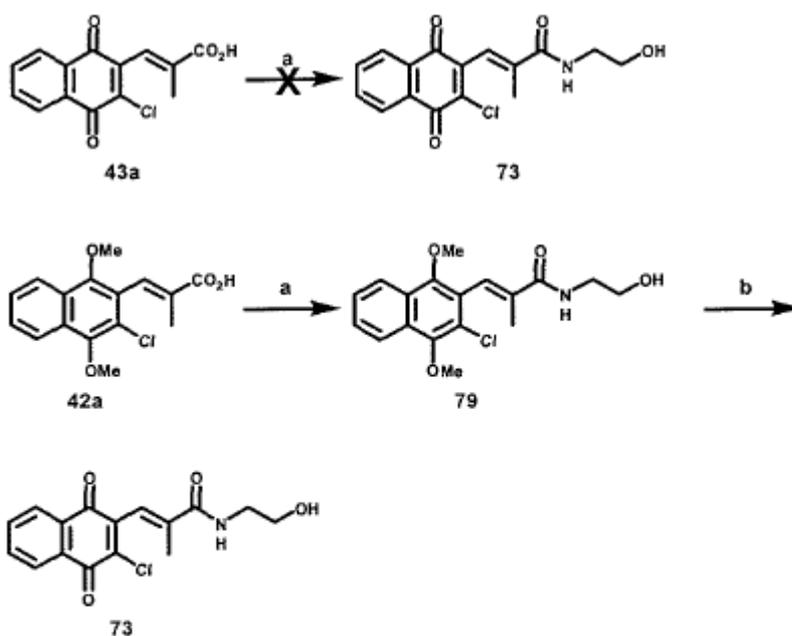
Esquema 18: Química del modelo para condiciones óptimas de Steglich

25 La segunda transformación en modelo fue la oxidación en anillo de los dimetoxinaftalenos 41a y 77 usando nitrato de amonio cérico (CAN) en acetonitrilo/agua. (Esquema 19) Las oxidaciones mediadas por CAN dan como resultado mezclas de reacción que requieren una purificación más extensa que cuando se usa ácido nítrico. Desafortunadamente, la unidad estructural sulfuro en la biotina no es estable al ácido nítrico y probablemente se oxidará a sulfóxido o sulfona. Solo una referencia ha demostrado la oxidación de un sustrato biotinilado usando CAN a 0 °C, durante 20 minutos sin oxidación de biotina.²⁹ Sin embargo, los datos de HPLC informados sugieren que tuvo lugar la oxidación a sulfona y sulfóxidos. De este modo, la reacción de oxidación de los dimetoxiarenos necesitaba estudiarse para determinar los equivalentes mínimos de CAN y el tiempo requerido para realizar la oxidación. Ambos sustratos 41a y 77 se convirtieron en las correspondientes naftoquinonas usando 6 equivalentes de CAN a 0 °C en menos de 20 minutos.



a) CAN 6 eq, MeCN:H₂O 1:1, 0 °C, 20 min

Esquema 19: Química de oxidación del modelo usando CAN.

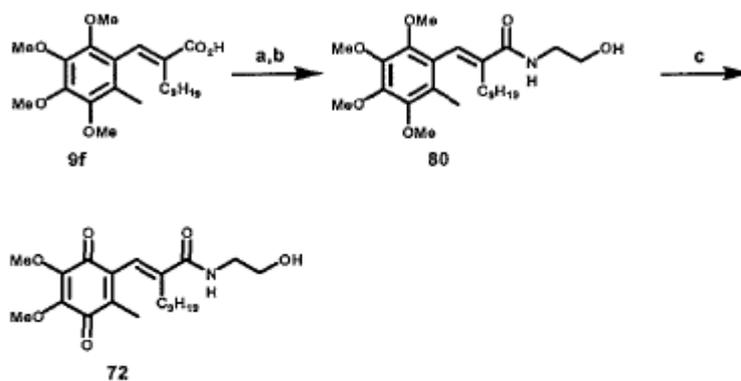


a) i. HOBT 0.1 eq, DCC 2.0 eq, DMF:CH₂Cl₂ 1:1, rt 1.5 h ii. Etanolamina 1.5 eq., rt 12 h, 83% b) Ag(II)O, HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 30 min, 60%

Esquema 20: Síntesis de amida 73.

Con la química del modelo completada, la síntesis de las amidas 72 y 73 podría comenzar. La quinona 43a se usó inicialmente como sustrato para la amidación para preparar quinona 73; sin embargo, no se encontraron condiciones para realizar la transformación de manera eficiente. (Esquema 20) La estrategia alternativa era realizar la oxidación después de acoplar dimetoxinaftaleno 42a a etanolamina. El ácido carboxílico 42a se consumió completamente en condiciones optimizadas de Steglich, y el producto resultante se oxidó con ácido nítrico. Las amidas simples carecían del grupo de biotina que necesitaba el uso de un oxidante suave, lo que permite el uso de ácido nítrico para realizar fácilmente las oxidaciones. La quinona 72 se sintetizó de la misma manera que 73.

10 (Esquema 21)

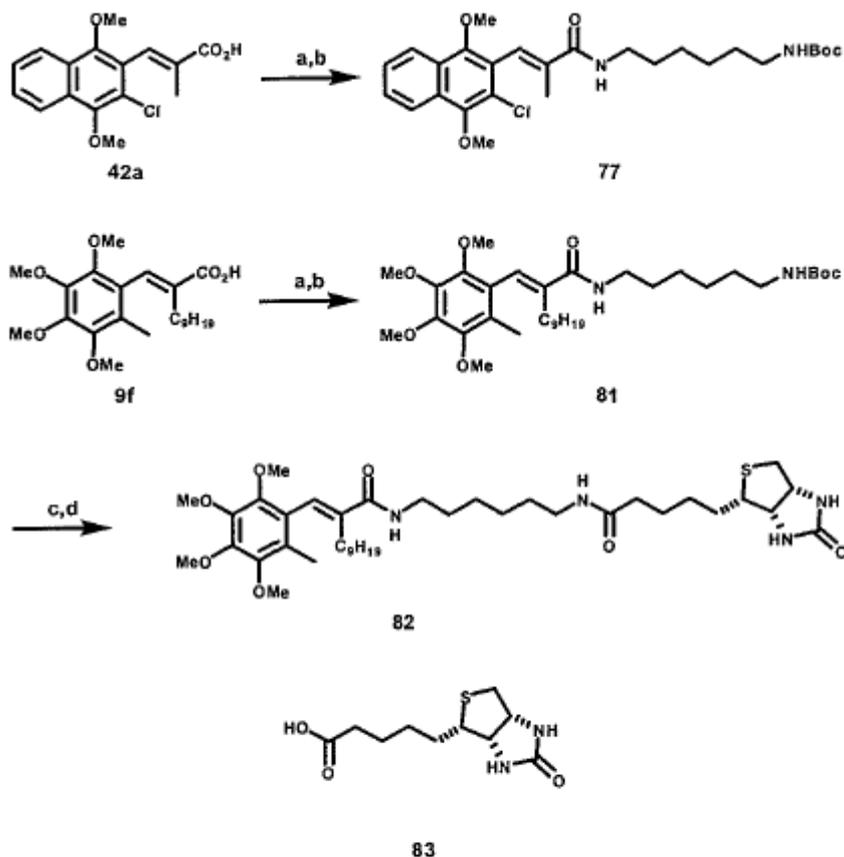


a) HOBt 0.1 eq, DCC 2.0 eq, DMF:CH₂Cl₂ 1:1, rt 1.5 h; b) Etanolamina 1.5 eq., rt 12 h, 81%; c) Ag(II)O, HNO₃, AcOH, EtOAc, rt 30 min, 45%

Esquema 21: Síntesis de amida del modelo 72.

Las amidoquinonas 72 y 73 fueron comparables en actividad a los ácidos carboxílicos originales, y por lo tanto se determinó que la amida es un método práctico para conjugar las moléculas a biotina, o para impartir modificaciones adicionales para mejorar la solubilidad en agua y la selectividad del objetivo de los fármacos.

- 5 Reacciones de amidación derivadas biotiniladas. Dos estrategias estaban disponibles para conjugar dimetoxiarenos 42a y 9f a biotina a través de un enlazante alifático. La primera estrategia fue acoplar los ácidos dimetoxiarenos a N-Boc-1,6-diaminohexano y luego acoplar el enlazante desprotegido a la biotina. (Esquema 22) La segunda estrategia era generar el reactivo de biotinilación 85 y acoplar esto directamente a los ácidos carboxílicos insaturados de dimetoxiarena. (Esquema 23) La segunda estrategia demostró ser la más corta y el reactivo de biotinilación 85 se sintetizó fácilmente.

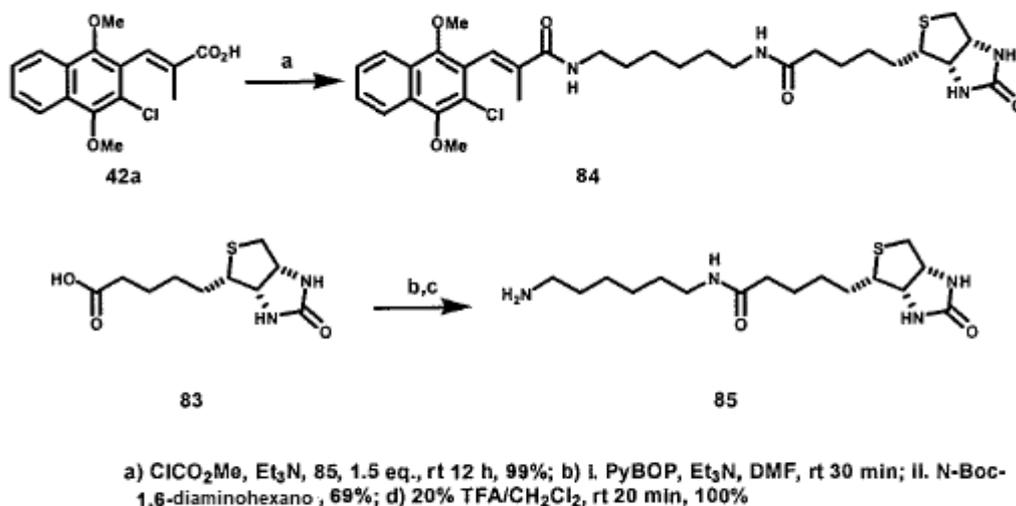


a) HOBt 0.1 eq, DCC 2.0 eq, DMF:CH₂Cl₂ 1:1, rt 1.5 h; b) N-Boc-1,6-diaminohexano 1.5 eq., rt 12 h, 78 - 100%; c) 20% TFA/CH₂Cl₂, rt 20 m, 100%; d) HOBt 0.1 eq, DCC 2.0 eq, DMF, rt 1 h; d) **82**, Et₃N, rt 12 h, 90%

Esquema 22: Ruta de amidación usando estrategia de acoplamiento iterativo.

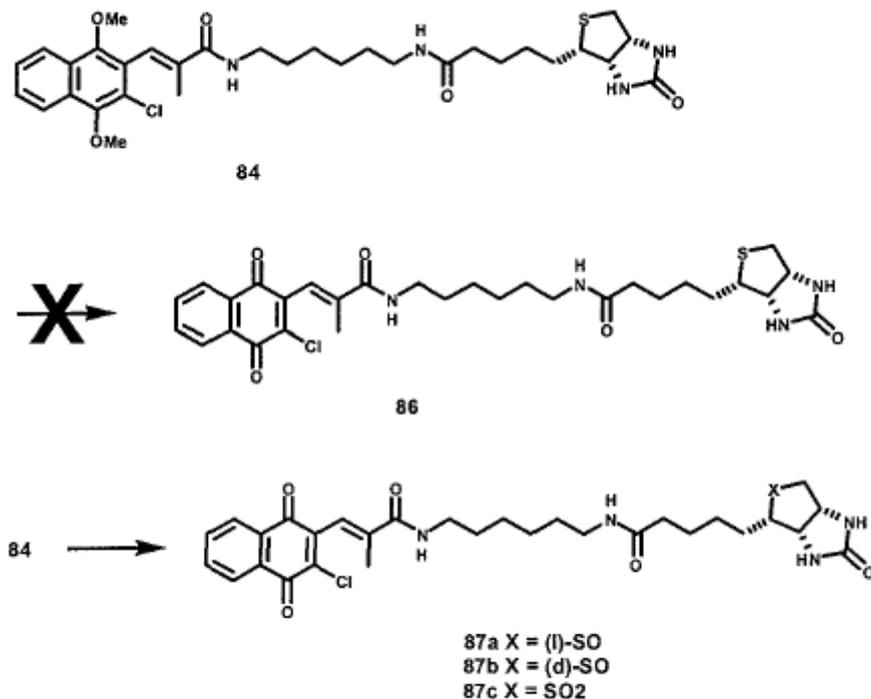
Aunque la segunda ruta se utilizó en última instancia en la síntesis de los reactivos biotinilados, la primera ruta proporcionó información sobre problemas inesperados con la reacción de acoplamiento de DCC. Se aplicaron condiciones de Steglich optimizadas a ambos dimetoxiarenos **9f** y **42a** con N-Boc-1,6-diaminohexano como el componente de amina. La reacción comenzó con reactivos de 1,4-dimetoxiarenos puros; sin embargo, la purificación dio como resultado dos componentes en una proporción de aproximadamente 1: 1. Los dos compuestos se identificaron como isómeros E y Z de los productos acoplados a través de experimentos HMQC y nOe RMN. Las condiciones de DCC daban como resultado la isomerización del enlace doble E y debían reemplazarse para retener la pureza isomérica. El sustrato usado para la química del modelo carecía de un sustituyente en el enlace doble alfa al carbonilo; de este modo, es probable que los isómeros cis y trans fueran suficientemente diferentes en energía para evitar la isomerización. El ácido **42a** se convirtió posteriormente en la amida correspondiente usando cloroforniato de metilo, cloruro de oxalilo o PyBOP sin isomerización de enlace doble.

(Esquema 23)



Esquema 23: Ruta de síntesis a amidas usando reactivo de biotinalación 85.

- Oxidación de dimetoxiarena biotinilada. La avidina unida a la superficie de los chips SPR proporciona una interacción pseudocovalente con biotina que permite que el chip se recubra con moléculas de fármaco. El sulfuro de la biotina es altamente reactivo hacia los reactivos oxidantes, que pueden oxidar el sulfuro a los sulfoxidos correspondientes (R y S) o más allá de la sulfona. El 84 biotinilado se oxidó inicialmente usando las condiciones mínimas previamente determinadas para la amida derivada 77; sin embargo, la reacción requirió una hora a temperatura ambiente para ver la desaparición completa de grupos metoxi en el espectro de ^1H RMN. (Esquema 24) Se esperaba que los protones de metileno y el carbono de metido adyacente al azufre de la biotina fueran los más diagnósticos de la oxidación del sulfuro. Desafortunadamente, ambas regiones fueron enmascaradas por resonancias del enlazante de aminohexano.
- 5
- 10 Una estrategia alternativa era controlar la oxidación de CAN usando HPLC. La proporción de absorbancia UV a 300 y 245 nm se determinó para compuestos que contienen una unidad estructural dimetoxinaftaleno o naftoquinona, donde la proporción era aproximadamente 0.16 para el primero y 0.25 para el último. A continuación, se controló mediante HPLC una oxidación de 84 mediada por CAN, donde la reacción se agitó a 0°C y con 18 equivalentes de CAN. La primera traza de HPLC se tomó después de 5 minutos de reacción, y no había material de partida presente. Curiosamente, los espectros de RMN tomados después de 30 minutos mostraron picos de metoxi sustanciales. Esto indica que la oxidación del sulfuro se está produciendo rápidamente a 0°C , porque una nueva especie de dimetoxinaftaleno comenzó a aparecer en menos de 5 minutos.
- 15



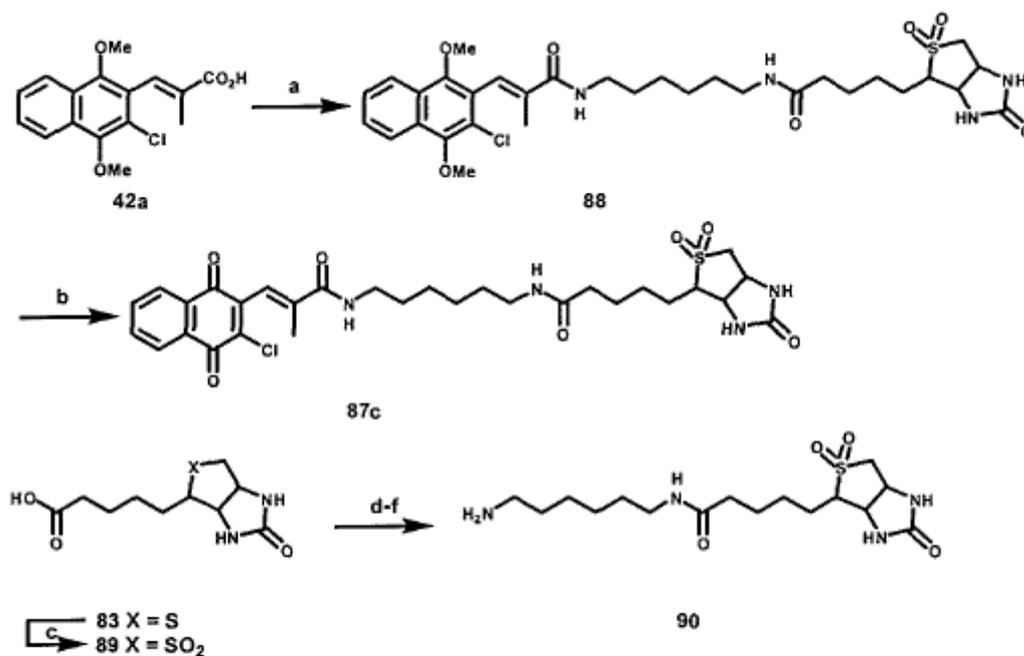
Condiciones: CAN, MeCN:H₂O 1:1, 1 h

Esquema 24: Oxidación de 92 usando CAN.

Afortunadamente, tanto los sulfóxidos (R y S) como la sulfona de la biotina se unen a la avidina con 30-40% de la afinidad del sulfuro original.³⁰ Con esta información, junto con el descubrimiento de que la unidad estructural dimetoxinaftaleno no se puede oxidar sin la oxidación del sulfuro de biotina, se determinó que la reacción debería continuar hasta que solo se observó quinona-sulfona 87c por HPLC. (Esquema 24) Se formuló la hipótesis de que si no está presente dimetoxinaftaleno en la muestra, una mezcla de las cuatro quinonas biotiniladas (86 y 87a-c) se uniría de forma pseudocovalente al chip recubierto de avidina. CAN transformó 84 a 87c; sin embargo, la separación de la quinona de CAN fue difícil.

La purificación por columna de 87c solo fue posible con condiciones MeOH/CH₂Cl₂, y estas condiciones también eluyeron CAN. Se necesitaron más de 15 equivalentes de CAN para completar la transformación a 87c, de este modo la eliminación de CAN a través de la cromatografía o la precipitación no fue eficiente. La purificación por HPLC de fase inversa fue una alternativa, pero sería lenta para la preparación a escala de miligramo.

Derivados de biotina sulfona. Entonces se ideó una estrategia alternativa que generaría solo biotinsulfona quinonas. (Esquema 25) El reactivo sulfonobiotinilante 90 se sintetizó por oxidación de biotina seguido de acoplamiento a N-Boc-1,6-diaminohexano y desprotección de la amina terminal. La biotinsulfona y la correspondiente 6-aminohexilamida protegida con Boc son insolubles en la mayoría de los solventes orgánicos, lo que hace que las transformaciones posteriores sean muy difíciles. Los perfiles de solubilidad se prestaron para la purificación, donde la oxidación de la biotina precipita la sulfona de la solución de ácido acético, y la reacción de acoplamiento precipita el producto de la solución de DMF. Ambos productos se recogen y se lavan para dar un producto puro con un rendimiento excelente. Desafortunadamente, la insolubilidad del reactivo de biotinilación dificulta el acoplamiento al dimetoxinaftaleno. La destobiotina es otra herramienta molecular disponible para la conjugación donde se elimina el sulfuro de biotina. La urea cíclica de la destobiotina solo sacrifica una pérdida de actividad de 20 veces a partir de la afinidad de unión femptomolar de la biotina (10⁻¹⁵ M).

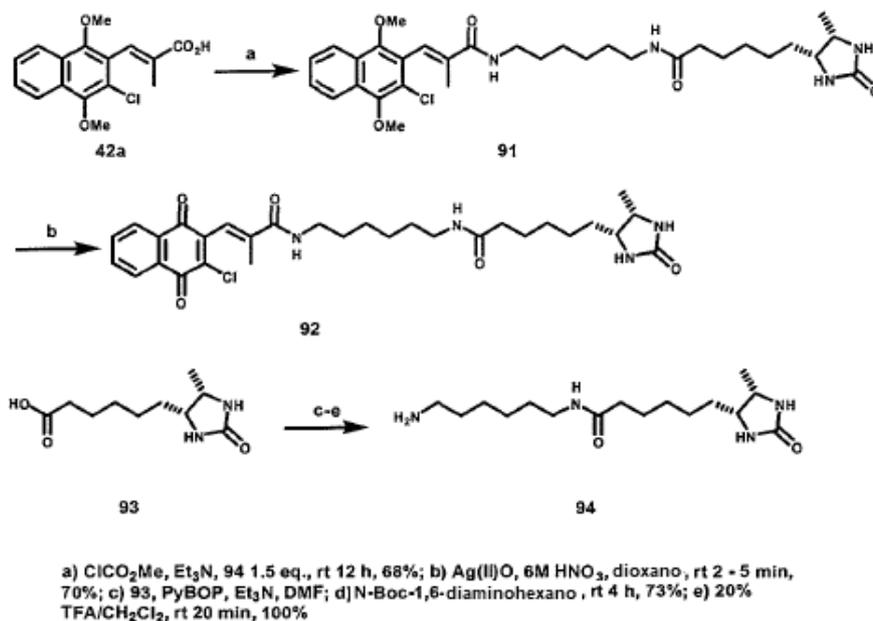


a) ClCO₂Me, Et₃N, 90 1.5 eq., rt 12 h, ; b) CAN, MeCN:H₂O 1:1; c) AcOH:H₂O₂ 35% aq. 3:1, 65 h, 87%; d) 89, PyBOP, Et₃N, DMF, rt 30 min; e) N-Boc-1,6-diaminohexano, rt 5 h, 83%; f) 20% TFA/CH₂Cl₂, 20 min rt, 100%

Esquema 25: Síntesis del reactivo de sulfonobiotinilación 90 y quinona diana 87c.

Derivados de destobiotina. La destobiotina (93) es un derivado de biotina que carece del sulfuro heterociclo. Los sulfóxidos de la biotina y la sulfona se unen a la avidina aproximadamente 3 veces más débil que la biotina; comparativamente, la destobiotina se une a la avidina aproximadamente 20 veces más débil que la biotina.^{31,32} La biotina une a la avidina con una constante de disociación en el intervalo femptomolar (10^{-15} M); una pérdida de entre uno y dos órdenes de magnitud al usar destobiotina aún proporcionará una adhesión pseudocovalente de la molécula del fármaco al chip SPR.

La síntesis de 43a destobiotinilado transcurrió sin problemas siguiendo las químicas previamente ideadas. (Esquema 26) El reactivo 94 de destobiotina se sintetizó usando acoplamiento de PyBOP con N-Boc-1,6-diaminohexano con un rendimiento del 65-70% después de la recristalización. El dimetoxinaftaleno 42a se acopló luego a 94 usando PyBOP, y el producto se oxidó usando 5 equivalentes de CAN a temperatura ambiente. El derivado de destobiotina 92 se sintetizó en cantidades de miligramos y se purificó por cromatografía instantánea para la caracterización.



Esquema 26: Síntesis de 43a destiobiotinilado.

- Se usaron muestras 92 purificadas de reacciones de oxidación con HPLC para controlar el acoplamiento de la quinona 43a para generar 92 a través de una ruta no oxidativa. Ambas condiciones de cloruro de oxalilo y PyBOP dieron como resultado la formación del carboxilo activado; sin embargo, las condiciones de PyBOP dieron como resultado solo trazas de producto y el cloruro de oxalilo no dio como resultado la formación de productos. La destiobiotina 92 es inseparable del precursor de dimetoxinaftaleno 91 mediante cromatografía líquida, en la que solo 1:19 a 1: 9 de MeOH: CH_2Cl_2 es capaz de mover el compuesto por TLC. Adicionalmente, la oxidación mediada por CAN no era una reacción limpia, y se requeriría una purificación por HPLC. La huella de HPLC de una oxidación mediada por CAN en bruto se muestra en la figura 9A.
- El 92 auténtico se había sintetizado y caracterizado a través de la reacción de oxidación CAN, y todo lo que quedaba era optimizar la síntesis para obtener el producto más limpio directamente de la transformación final. El ácido nítrico y $\text{Ag}(\text{II})\text{O}$ se aplicaron a la oxidación de 91 siguiendo el método usado previamente para oxidar todos los 3-halo dimetoxinaftalenos, y esta transformación dio como resultado un producto de oxidación sustancialmente más limpio que CAN. (Figura 9B) Aunque la oxidación de plata (II) era más limpia que la oxidación CAN, la mezcla de reacción resultante todavía requería purificación por HPLC. Entonces se empleó un procedimiento alternativo de oxidación de plata (II) que utilizaba ácido nítrico diluido en 1,4-dioxano para generar una sal de nitrato de plata soluble.³³ Esta transformación se completó en menos de 3 minutos a temperatura ambiente con 5-7 equivalentes de $\text{Ag}(\text{II})\text{O}$ y dio como resultado un producto extremadamente limpio.
- Figura 9: Espectros de HPLC de reacciones de oxidación y acoplamiento para sintetizar quinona 92. A. La mezcla de reacción en bruto de una oxidación mediada por CAN de 1 hora usando 6 equivalentes de oxidante. B. Ácido nítrico estándar/oxidación de óxido argéntico de dimetoxinaftaleno 91. C. Nuevas condiciones de ácido nítrico/óxido argéntico que utilizan nitrato de plata soluble en dioxano para la oxidación de 91. D. Espectros UV del producto (92) componente de elución más rápido de oxidación de $\text{Ag}(\text{II})\text{O}$ en dioxano. E. Mezcla de reacción en bruto de acoplamiento de PyBOP quinona 43a a reactivo de destiobiotinilado 94. F. Purificación por cromatografía instantánea de la reacción de acoplamiento de PyBOP de la figura 9E. G. Muestra de la figura 9F después del almacenamiento en MeCN durante 8 días a -20°C . Todas las muestras se procesaron a 40:60 de acetonitrilo: agua en una columna analítica C8, los espectros se recogieron a 300 nm. El tiempo de retención para el producto es de 12.6 minutos y el pico está indicado por una flecha. Los productos de descomposición están indicados por un asterisco.
- Todos los productos secundarios observados en la CAN y las oxidaciones originales de plata (II) estaban ausentes de la reacción en dioxano, aunque ahora había dos picos con espectros UV idénticos y tiempos de retención similares. (Figura 9C) El único producto observado tanto en ^1H como en ^{13}C RMN de la mezcla de reacción en bruto correspondía al de la quinona 92 sintetizada previamente. Esto llevó a la hipótesis de que la nueva especie observada a los 11.6 minutos era probablemente un complejo de plata con ya sea la olefina o los enlaces de quinona de 92. Lavar la muestra con HCl diluido y salmuera redujo la cantidad del pico de 11.6 minutos, consistente con la hipótesis de que este es un complejo entre el producto observado a los 12.6 minutos y la plata (I).

Simultáneamente, se exploró una reacción de acoplamiento entre la quinona 43a y la amina 94 mediante HPLC. Los métodos fueron el cloruro de oxalilo y el acoplamiento de PyBOP, donde la etapa de activación de ambas reacciones se confirmó por evolución del gas (cloruro de oxalilo) o ^{31}P RMN (PyBOP). El análisis de HPLC no mostró producto en la reacción de cloruro de oxalilo y producto mínimo en el acoplamiento de PyBOP. (Figura 9D/E) La quinona que reacciona se separa fácilmente de la quinona destiobiotinilada, de este modo la optimización de esta reacción daría lugar a un producto que podría purificarse mediante cromatografía instantánea.

Permitir que la reacción se active con PyBOP y trietilamina durante demasiado tiempo (2 h) dio como resultado que la solución de oro inicial se volviera de color rojo intenso, lo que ha sido previamente una indicación de que la quinona se ha descompuesto en presencia de un nucleófilo. Cuando la solución de color rojo resultante se trató luego con la amina 94, solo se observaron trazas de producto acoplado por HPLC. La etapa de activación se acortó a continuación a 10 minutos seguido de un tratamiento de 30 minutos con amina 94 y se mantuvo una solución de color amarillo homogénea durante toda la reacción con un rendimiento superior al 60%. Como se predijo, la reacción de acoplamiento para sintetizar 92 proporcionó una mezcla de reacción que se purificó fácilmente por cromatografía instantánea. Sin embargo, la reacción entre una quinona y una amina ha sido muy difícil de controlar, dando como resultado frecuentemente una solución de color verde oscuro o rojo después de la adición de la base durante la etapa de activación. De este modo, la ruta de acoplamiento a 92 es ventajosa en que el producto se puede separar fácilmente de otras especies que contienen quinona o destiobiotina, pero desfavorable en el sentido de que la reacción puede tomar un giro catastrófico por razones actualmente no aparentes.

Sin datos estructurales para Ape1, se formuló la hipótesis de que la recopilación de suficientes datos biológicos de una amplia gama de inhibidores conduciría a una evaluación de la relación de actividad de estructura cualitativa (QSAR). De este modo, se buscó una estructura cristalina del derivado 3-cloro 43a para proporcionar una base sólida para los estudios QSAR.

Figura 12: A. Cristal del inhibidor 43a usado para el estudio de difracción de rayos X. B. Estructura generada a partir de los datos recopilados de los estudios de difracción de rayos X en 43a.

Los cristales del inhibidor 43a (Figura 12A) se cultivaron usando difusión de vapor, y los datos recogidos se usaron para generar la estructura en la figura 12B. A partir de esta estructura cristalina se obtuvo una conformación del inhibidor. La unidad estructural de ácido insaturado de la estructura cristalina posee una configuración de transdieno anticipada, y el anillo de quinona se contorsiona ligeramente en una conformación de barco. El enlace doble exocíclico y el anillo residen casi a 30° desde el paralelo, lo que muy probablemente se debe a los compuestos estéricos del sustituyente 3-cloro. (Figura 13) La estructura derivada del estudio de difracción de rayos X muestra tanto la relación entre planos de quinona y ácidos insaturados así como la conformación de ácidos insaturados como transdienes.

Cuando se produjeron mezclas de isómeros E y Z, a partir de ya sea la reacción de Emmons o más tarde de las isomerizaciones encontradas en la reacción de Steglich, las asignaciones definitivas de E y Z debían darse a los compuestos aislados. El desplazamiento químico de ^1H RMN del protón de vinilo es significativamente diferente para los isómeros E y Z, donde el protón de vinilo E aparece más abajo en el campo hasta en 0.7 ppm. Sin embargo, se buscó un análisis más convincente para probar aún más la identidad de los isómeros. Una base sólida concreta fue dada a esta evidencia en desarrollo por la estructura cristalina de rayos X determinada para 43a. La geometría de enlace doble de E observable en la estructura cristalina es incuestionable, y los isómeros E y Z precedentes pudieron identificarse en la serie de ácidos insaturados de los compuestos de naftaleno al rastrear el linaje de E-43a hacia atrás. Como era de esperar, los isómeros E tenían los protones de vinilo de campo abajo, y los cambios de campo arriba correspondían a los isómeros Z.

Para los ácidos insaturados de naftaleno, la comparación de los desplazamientos de protones de vinilo fue suficiente para la posterior identificación del compuesto. Sin embargo, cuando se encontraron isómeros con las condiciones de Steglich, los protones de vinilo en los productos de amida aparecían en el campo más arriba de lo esperado. Los desplazamientos relativos de los protones de vinilo, así como los efectos geométricos esperados sobre los desplazamientos de otros protones, incluidos los protones amida y alfa, todos correlacionados con la asignación esperada de los isómeros E y Z. Para garantizar que nuestras asignaciones fueran correctas con estas nuevas amidas insaturadas, se tomaron 2D y nOe RMN para identificar el carbono beta en el primero y observar las mejoras del protón de vinilo en este último. Los isómeros E y Z previamente identificados E-42a y Z-42a se usaron nuevamente en ambos tipos de experimentos RMN avanzados. Primero, se recogieron los espectros HMQC de E-42a y Z-42a para identificar el carbono beta, y se determinó que el isómero E tenía un desplazamiento de campo abajo de 3.5 ppm (134.6 y 131.1 ppm, respectivamente). (Figuras 14A y 14B). Segundo, las mismas muestras se realizaron en otros experimentos nOe donde se irradiaron protones metílicos alílicos (1.90 ppm para E y 2.20 ppm para Z). Para el isómero E no se observaron mejoras en el protón de vinilo; el isómero Z experimentó una mejora del protón de vinilo tras la irradiación de los protones alílicos. (Figura 15A y Figura 15B) Una tercera entidad conocida se incorporó al conjunto de datos de "entrenamiento", y este fue 9f (Esquema 1), el precursor de ácido insaturado de E3330. En este caso, el carbono beta se identificó de nuevo a través del espectro HMQC (136.4 ppm, Figura 14C); sin embargo, la irradiación nOe se realizó en el protón de vinilo en lugar de en los protones alílicos porque el sustituyente alfa ahora ha cambiado de un grupo metilo simple a un grupo nonilo. La irradiación no mostró una mejora de los protones de metileno del grupo nonilo, pero sí mostró una potenciación del anillo de metilo, como se esperaba. (Figura 15C) Finalmente, se examinó la primera amida simple generada (79) para comparar los efectos de convertir un ácido insaturado en amida insaturada. (Figura

14D y Figura 15D) La mejora nOe siguió a los datos experimentales de los otros isómeros E donde no se observó una mejora del protón de vinilo tras la irradiación de los protones alílicos. Sin tener el isómero Z, no se pudieron hacer comparaciones con respecto a los desplazamientos químicos de los carbonos beta a partir de los datos HMQC; sin embargo, la asignación del carbono beta (128.12 ppm) todavía era posible. Más tarde, el isómero E de 79 se sintetizó a partir de ácido E puro usando cloroformiato de metilo, confirmando la geometría de la muestra de RMN previa.

Figura 14: espectros HMQC de A. E-42a; B. Z-42a; C. 9f; y D. 79. Los picos correspondientes al protón de vinilo/carbono beta se han marcado con un círculo en negro.

Figura 15: espectros nOe de A. E-42a; B. Z-42a; C. 9f; y D. 79. El sitio del protón irradiado en el experimento se indica en la estructura por un asterisco. Las regiones de diagnóstico positivas para la mejora están representadas por un círculo cerrado, un círculo roto denota áreas de diagnóstico negativas para la mejora. A. No se observa una mejora del protón de vinilo mediante la irradiación de los protones alílicos de E-42a a 1.95 ppm. Estos son los resultados esperados para una E olefina confirmada. B. Se observa una mejora del protón de vinilo a 6.98 ppm después de la irradiación de los protones alílicos de Z-42a a 2.28 ppm. Se esperaba una mejora para la olefina Z confirmada. C. La irradiación del protón de vinilo a 7.62 ppm no muestra una mejora de los protones de metileno de 9f; sin embargo, se observa una mejora en el pico de metilo en el anillo a 2.12 ppm. Esto se mantiene con la falta de mejora observada en las olefinas E. D. La irradiación de los protones alílicos de 79 no muestra una mejora de los protones de vinilo, lo que sugiere una olefina E.

Figura 16: Análisis de los isómeros Z y E (Z) -77 y (E) -77, respectivamente, mediante comparación directa de espectros de ^1H RMN (A/B), espectros HMQC (C/D), mejora nOe a partir de la irradiación de protones alílicos (E/F) y mejora de nOe a partir de la irradiación de protones de vinilo (G/H). A/B. El protón de vinilo del isómero Z (6.64 ppm, Figura 16A) está significativamente campo más arriba que el del isómero E correspondiente (7.36 ppm, Figura 16B). C/D. Los datos de HMQC para los isómeros Z y E se correlacionan con el mismo patrón observado en isómeros E y Z auténticos, donde el carbono Z beta está campo más arriba (122.4 ppm, Figura 16C) que el carbono E beta (127.3 ppm, Figura 16D). El espectro nOe del isómero Z muestra que la irradiación en la posición alílica (Figura 16E) tiene poco efecto sobre el resto de la molécula, pero la irradiación en el protón de vinilo (Figura 16G) muestra una mejora en un grupo metoxilo en el anillo. La irradiación de tanto los protones alílicos (Figura 16F) como vinilo (Figura 16H) del isómero E no tiene transferencia a otras partes de la molécula.

Figura 17: Comparación directa de los isómeros Z y E (Z)-81 y (E)-81, respectivamente, por sus correspondientes espectros de ^1H RMN (A/B), espectros de HMQC (C/D) y mejora de nOe de la irradiación de protones de vinilo (E/F). La comparación con el espectro ^1H (G) y la mejora de nOe mediante la irradiación del protón de vinilo (H) de otro compuesto ((E) -80) ayuda a identificar los fenómenos conservados. A/B. Como antes, el isómero Z muestra un desplazamiento campo más arriba de los protones de vinilo. C/D. El desplazamiento químico para el carbono beta en el isómero Z se encuentra campo más arriba (123.6 ppm vs. 126.7 ppm), consistente con el conjunto de entrenamiento de compuestos conocidos. E. Curiosamente, la irradiación del protón de vinilo del isómero Z no genera un efecto nOe sobre los protones de metileno. F. Además se observan fenómenos extraños tras la irradiación de los protones de vinilo del isómero E. La transferencia se observa a un pico de metoxi (3.69 ppm) y un pico a 2.02 ppm. Un examen más detallado indica que el pico mejorado a 2.02 ppm es el anillo de metilo y no los protones de metileno alílico, de este modo, la asignación de E para los espectros en los rodales derechos. G. El espectro de protones se proporciona para (E)-80, que muestra patrones de pico similares a los isómeros E. Adicionalmente, el carbono beta se cambia a 127.8 ppm, lo que corresponde a los isómeros E. H. La irradiación del protón de vinilo de (E)-80 da como resultado una mejora nOe de un pico a 2.03 ppm, que corresponde al anillo de metilo y no a los protones de metileno alílico.

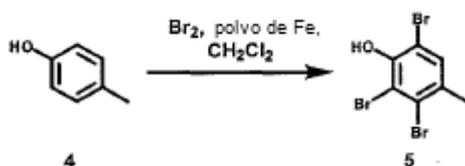
Se han sintetizado derivados de E3330 en los que se examinaron sistemáticamente cinco aspectos del inhibidor, que incluyen: 1) núcleo de benzoquinona; 2) anillo de metilo; 3) sustituyente alfa n-nonilo; 4) enlace doble exocíclico; y 5) unidad estructural ácido carboxílico. Sin una visión estructural del bolsillo de unión de Ape1, los derivados se diseñaron en un enfoque SAR para desarrollar un inhibidor de plomo que luego podría elaborarse más con información estructural.

Los datos recogidos de la serie limitada de benzoquinonas mostraron que la cadena lateral de nonilo de E3330 tiene una actividad similar a los derivados de metilo y butilo; adicionalmente, los datos mostraron que una cadena lateral de al menos un grupo metilo era deseable para retener un nivel de actividad próximo al de E3330. El conocimiento del sustituyente alfa en el enlace doble se transfirió luego a la serie de naftoquinonas más fácilmente modificada donde podrían comenzar exploraciones adicionales en el sustituyente 3 en el anillo. Los derivados de naftoquinona se desarrollaron primero con modificaciones en la posición 3 que incluyen derivados no sustituidos de metilo, flúor, cloro, bromo, metoxi y metililo. Todos los derivados con un átomo electronegativo unido a la posición 3 mostraron de 3 a 30 veces más actividad que el derivado sustituido con metilo.

Los derivados finales en la serie de naftoquinonas definieron la importancia de la unidad estructural de ácido insaturado. Los derivados de éster de metilo y de hidroxietilamida mostraron una retención de actividad completa en comparación con los ácidos carboxílicos originales. Adicionalmente, la diversificación del enlace doble mediante epoxidación y saturación proporcionó compuestos con actividades similares a los derivados insaturados. El descubrimiento más interesante vino del isómero Z de la potente naftoquinona 43a; la actividad se retuvo mientras se invertía la orientación del ácido y el sustituyente alfa en el enlace doble. Estos datos fueron los más convincentes sugiriendo la falta de significancia del ácido insaturado exocíclico en la unión.

Los datos recopilados de los derivados preparados comienzan a mostrar preferencias para el sitio activo redox de Ape1. Los inhibidores conjugados a biotina se han sintetizado para proporcionar muestras para estudios SPR para determinar las constantes de disociación para 43a. Esta herramienta molecular también se puede usar en cromatografía de afinidad para determinar la selectividad entre las proteínas de un lisado celular.

- 5 Los reactivos se usaron como se recibieron de fuentes comerciales, como lo fueron los solventes anhidros que incluyen acetato de etilo, tolueno, benceno, metanol, DMF, éter dietílico y 1,2-dimetoxietano. El THF, el CH₂Cl₂ y el acetonitrilo se destilaron antes de su uso, y la acetona se secó sobre MS activada durante 2 horas bajo argón. Se realizaron separaciones cromatográficas instantáneas usando gel de sílice de 32-63 μm; la cromatografía en capa fina se realizó con placas GHLF Analtech de 250 μm con indicador fluorescente de 254 nm. Todos los ¹H RMN se realizaron en un Bruker de 300 MHz RMN equipado con una sonda multinuclear (¹H, ¹³C, ¹⁹F y ³¹P) de 5 mm. Los espectros ¹H se calibraron con bien sea CHCl₃ a 7.24 ppm, (CH₃)₂SO a 2.49, o (CH₃)CO a 2.04 ppm. El ¹³C RMN se calibró con CHCl₃ a 77.0 ppm. Los experimentos 2D RMN y nOe se realizaron en un Bruker 500 MHz RMN equipado con una sonda multinuclear (¹H, ¹³C, ¹⁹F y ³¹P) de 5 mm. Los puntos de fusión se midieron usando un termómetro de mercurio Mel-Temp II y 300 °C. Todos los MP se informan sin ajustar.
- 10
- 15 Los análisis elementales se realizaron en the Purdue University Microanalysis Lab. La cristalografía de molécula pequeña se realizó en the Purdue University Chemistry Crystallography Center. Los datos de espectros de masas se recolectaron en the Purdue University Mass Spectrum lab. Los ensayos de inhibición redox Ape1 se realizaron en Indiana University School of Medicine. A continuación, los datos fueron analizados por EMSA en el mismo laboratorio. Los datos de muerte celular se recogieron en compuestos de interés. La toxicología inicial se realizó en the toxicology lab a IUSoM.
- 20



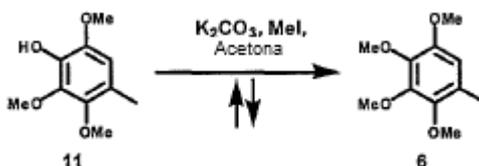
4-Metil-2,3,6-tribromofenol (5):

- De acuerdo con los procedimientos modificados de Shinkawa et al. y Keinan et al.,^{14,16} p-cresol (4,5,2 mL, 50 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (300 mL) a temperatura ambiente en un matraz de fondo redondo de 500 mL y 2 bocas unido a un embudo de adición y una trampa de KOH. Se añadió Fe (0.050 g, 0.90 mmol) a temperatura ambiente, y luego se añadió gota a gota bromo (7.8 mL, 150 mmol) en CH₂Cl₂ (50.0 ml) a la reacción. Después de la adición, la reacción se agitó durante 8 horas adicionales a temperatura ambiente. La reacción se añadió después a un embudo de separación y se agitó con agua hasta que desapareció el color rojo. La capa orgánica se separó a continuación, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó para proporcionar un sólido de color blanco. El producto en bruto se separó de 2,6-dibromo p-cresol por recristalización en hexanos. Se obtuvo 5 (15.39 g, 44.74 mmol, 89%) como agujas de color blanco finas.
- 25
- 30

R_f = 0.20 (EtOAc:hexanos 1:9)

mp = 90-91 °C (Literatura 95-106 °C){#930} {#920}

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.38 (s, 3H); 5.85 (s, 1H, OH); 7.36 (s, 1H)



35

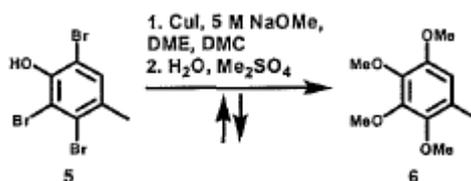
2,3,4,5-tetrametoxitolueno (6):

- De acuerdo con una modificación del procedimiento de Brimble et al.,³⁶ Se añadieron 11 (0.660 g, 3.33 mmol) y K₂CO₃ (4.08 g, 29.5 mmol) a un matraz de fondo redondo de 250 mL secado a la llama seguido de acetona seca. (120.0 mL) y MeI (2.0 mL, 32 mmol) a temperatura ambiente. Se unió un condensador de reflujo con camisa de agua y la reacción se calentó a reflujo, durante 12 horas. A continuación, la reacción se enfrió, se filtró y el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo de color marrón se resuspendió luego en CH₂Cl₂, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El
- 40

aceite incoloro resultante se purificó después ya sea por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos 1: 9) para proporcionar 6 (0.690 g, 3.25 mmol, 99%) como un aceite incoloro.

$R_f = 0.57$ (EtOAc:hexanos 7:13)

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{): } \delta$ 2.20 (s, 3H); 3.76 (s, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.84 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 6.42 (s, 1H)



5

2,3,4,5-tetrametoxitolueno (6):

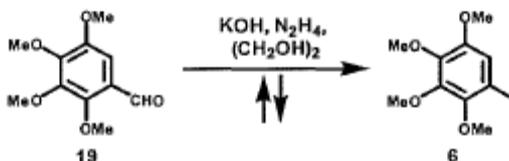
Después de un procedimiento modificado por Keinan et al.,¹⁴ se añadió NaOMe (25%, 4.37 M, 60.0 mL, 262 mmol) a un matraz de fondo redondo de 250 mL secado por llama con 3 bocas unido a una trampa de Dean Stark. Luego, se añadieron DME (60.0 mL) y DMC (5.0 mL) y la reacción se destiló hasta que se eliminaron 38.0 mL de MeOH (54%, NaOMe 11.9 M). Alternativamente, Na (6.03 g, 262 mmol) se puede disolver en MeOH (70.0 mL), luego se añaden DME (60.0 mL) y DMC (5.0 mL), y se destiló MeOH (44.0 mL) para proporcionar 54% de NaOMe. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió CuI (6.32 g, 33.2 mmol) y la reacción de color blanco espesa se convirtió en una solución púrpura oscura espesa. La reacción se calentó a ebullición y la trampa de Dean Stark se reemplazó por un condensador de reflujo con camisa de agua. Se disolvió 5 (7.97 g, 23.2 mmol) en DME (10.0 mL) y luego se añadió a reflujo con la suficiente lentitud para evitar los golpes. Finalmente, la solución se vuelve demasiado espesa para agitar y hierve violentamente. La solución se dejó hervir a reflujo durante 24 horas y el progreso se controló mediante RMN.

Al finalizar, la reacción se enfrió a ~ 50 °C y se añadió agua (155.0 mL). Luego se añadió lentamente Me₂SO₄ (20.0 mL, 211 mmol) y la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente mientras se agitaba. La reacción se agita durante otras 2 horas y luego se acidifica y se filtra a través de Celite. La reacción se extrajo luego con acetato de etilo y se lavó con salmuera. Después de secar sobre MgSO₄, la reacción se filtró y se condensó. El aceite en bruto se purificó por cromatografía en columna instantánea (EtOAc: hexanos 1:49 o EtOAc/CH₂Cl₂ 1:49) para proporcionar 6 (3.21 g, 15.1 mmol, 65%) como un aceite incoloro moderadamente contaminado con 2,4, 5-trimetoxitolueno y 3,4,5-trimetoxitolueno.

20

$R_f = 0.57$ (EtOAc:hexanos 7:13)

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{): } \delta$ 2.20 (s, 3H); 3.76 (s, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.84 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 6.42 (s, 1H)



25

2,3,4,5-tetrametoxitolueno (6):

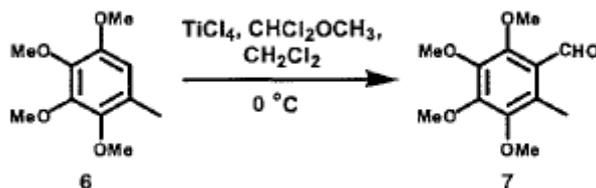
De acuerdo con un procedimiento generalizado de Matsubara et al.,²¹ se añadió 19 (2.99 g, 13.2 mmol) a un matraz de fondo redondo de 100 mL secado con llama, y luego etilenglicol (28.0 mL), KOH (2.36 g, 42.1 mmol), y se añadió hidrazina (6.0 ml, 190 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó a reflujo, durante 8 horas y luego se enfrió. La solución se vertió en salmuera y se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica se lavó con NaOH diluido, salmuera, y luego se secó sobre MgSO₄. El producto en bruto se podría usar sin purificación adicional, o purificarse usando cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos 7:13) para proporcionar 6 (2.37 g, 11.2 mmol, 85%) como un aceite incoloro.

30

$R_f = 0.57$ (EtOAc:hexanos 7:13)

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{): } \delta$ 2.43 (s, 3H); 3.74 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 10.41 (s, 1H)

35

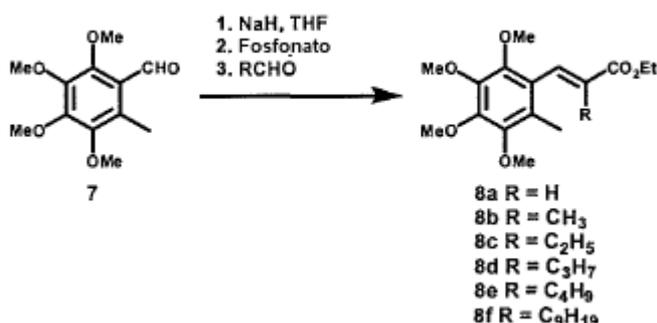


6-metil-2,3,4,5-tetrametoxibenzaldehido (7):

De acuerdo con el procedimiento de Ohkawa et al.,¹⁵ 6 (0.690 g, 3.25 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (2.0 mL) en un matraz de fondo redondo de 25 mL secado a la llama y se enfriaron a 0 °C. Luego, se añadió éter metílico de α, α -diclorometilo (0.85 mL, 9.6 mmol) a 0 °C, seguido de TiCl₄ (1 M en CH₂Cl₂, 9.0 mL, 9.0 mmol) a 0 °C. La reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 6 horas bajo argón. La reacción se vertió luego en agua enfriada y se agitó durante 10 minutos. La reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite en bruto se purificó después ya sea por cromatografía instantánea (1:49 EtOAc:hexanos si se prepara a través de p-cresol; 3:17 EtOAc: hexanos si se preparaba mediante reducción con Wolffe-Kishner) para proporcionar 7 (0.696 g, 2.90 mmol, 89%) como un aceite de color amarillo.

R_f = 0.26 (EtOAc:hexanos 3:17)

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.44 (s, 3H); 3.74 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 10.24 (s, 1H)



(E)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)propenoato de etilo (8a):

De acuerdo con el procedimiento modificado de Murphy et al.,²⁶ se añadió NaH (0.131 g, 3.27 mmol) a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 50 mL, secado a la llama conectado a un condensador de reflujo con camisa de agua. El matraz se purgó con argón y se unió un tubo de secado a la parte superior. Se añadió THF (15.0 mL) al matraz seguido de fosfonato (fosfonoacetato de trietilo, 0.36 ml, 1.8 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 30 minutos, y luego el aldehído (0.323 g, 1.34 mmol) se disolvió en THF (10.0 mL) y se añadió rápidamente a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante otras 12 h a temperatura ambiente, luego se diluyó con acetato de etilo y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó, se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (CH₂Cl₂ a EtOAc 1:19 EtOAc:CH₂Cl₂) para proporcionar 8a (0.343 g, 1.11 mmol, 83%) como un aceite de color amarillo pálido.

R_f = 0.17 (CH₂Cl₂)

E:Z = 1:0 en THF a temperatura ambiente.

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.32 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 2.26 (s, 3H); 3.76 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 3.94 (s, 3H); 4.24 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 6.52 (d, 1H, J = 16.2 Hz); 7.77 (d, 1H, J = 16.2 Hz)

(E)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metilpropenoato de etilo (8b):

El compuesto 8b se preparó a partir de 7 (0.569g, 2.37 mmol) como se describió anteriormente para 8a para dar 0.674 g (2.08 mmol, 88%) del producto como un aceite de color amarillo después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3).

R_f = 0.48 (EtOAc:hexanos 1:3)

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.31 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.71 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.01 (s, 3H); 3.67 (s, 3H); 3.77 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 4.24 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.47 (d, 1H, J = 0.6 Hz)

(*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-etilpropenoato de etilo (8c):

El compuesto 8c se preparó a partir de 7 (0.437 g, 1.82 mmol) como se describió anteriormente para 8a para dar 0.258 g (0.762 mmol, 42%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3).

5 $R_f = 0.50$ (EtOAc:hexanos 1:3)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 0.94 (t, 3H, $J = 7.5$ Hz); 1.33 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 2.02 (s, 3H); 2.15 (q, 2H, $J = 7.5$ Hz); 3.69 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 4.26 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz); 7.36 (s, 1H)

(*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-propilpropenoato de etilo (8d):

10 El compuesto 8d se preparó a partir de 7 (0.437 g, 1.82 mmol) como se describió anteriormente para 8a para dar 0.275 g (0.780 mmol, 43%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3).

$R_f = 0.52$ (EtOAc:hexanos 1:3)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 0.75 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.33 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.35 (m, 2H); 2.03 (s, 3H); 2.11 (m, 2H); 3.69 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 4.25 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz); 7.38 (s, 1H)

15 (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-butilpropenoato de etilo (8e):

El compuesto 8e se preparó a partir de 7 (0.650 g, 2.71 mmol) como se describió anteriormente para 8a para dar 0.484 g (1.32 mmol, 49%) del producto como un aceite de color amarillo después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:9).

$R_f = 0.54$ (EtOAc:hexanos 1:3)

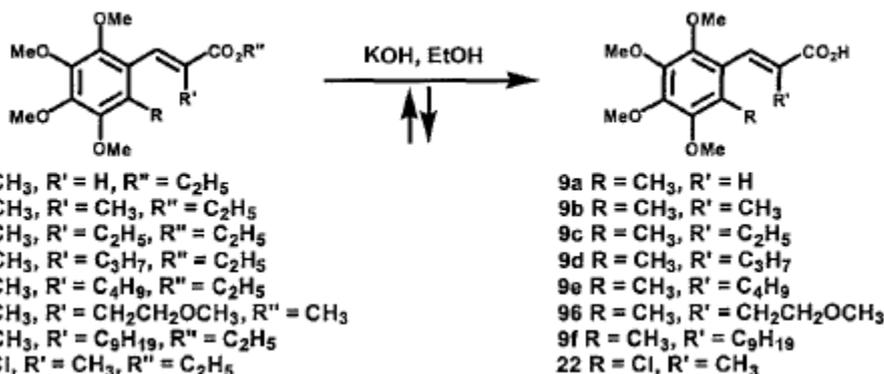
20 $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 0.73 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.12 (m, 2H); 1.29 (m, 2H); 1.32 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 2.03 (s, 3H); 2.13 (m, 2H); 3.69 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 4.25 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz); 7.37 (s, 1H)

(*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-nonilpropenoato de etilo (8f):

El compuesto 8f se preparó a partir de 7 (0.581 g, 2.42 mmol) como se describió anteriormente para 8a para dar 0.621 g (1.42 mmol, 59%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 3:17).

25 $R_f = 0.40$ (EtOAc:hexanos 3:17)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 0.84 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.08-1.22 (m, 11H); 1.24-1.35 (m, 3H); 1.33 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 2.03 (s, 3H); 2.12 (m, 2H); 3.69 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 4.25 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz); 7.37 (s, 1H)



Ácido (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-propenoico (9a):

30 Método A: Emmons éster 8a (0.066 g, 0.21 mmol) se disolvió en EtOH (10.0 mL) y luego se añadió KOH (0.095 g, 1.69 mmol) a la reacción. La reacción se calentó a ebullición y se agitó a esta temperatura durante 30 minutos. A continuación, la reacción se enfrió, se acidificó y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El ácido resultante se usó luego en bruto, o se puede purificar por cromatografía instantánea (Et_2O :hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et_2O /hexanos para proporcionar 9a
 35 (0.046 g, 0.16 mmol, 78%) como un sólido de color marrón claro.

Método B: El éster Emmons 8a se disolvió en DME (10.0 mL) a lo que luego se añadió NaOH (2 M, 2.0 mL, 2.0 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó a reflujo, durante 3 horas o hasta que la TLC (EtOAc:hexanos 1:4) indicó que se había consumido todo el material de partida. La reacción se acidificó a continuación, se diluyó con EtOAc, se lavó 3 veces con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó.

- 5 $R_f = 0.16$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)
 mp = 96-97 °C
¹H RMN (CDCl₃): δ 3.77 (s, 3H); 3.81 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 6.59 (d, 1H, J = 16.2 Hz); 7.90 (d, 1H, J = 16.2 Hz)
 Ácido (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metilpropenoico (9b):
- 10 El compuesto 9b se preparó a partir de 8b (0.156 g, 0.481 mmol) como se describió anteriormente para 9a usando el método B para dar 0.121 g (0.408 mmol, 85%) del producto como un sólido de color amarillo claro después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.
 $R_f = 0.16$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)
 mp = 98-102 °C
- 15 ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.76 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.05 (s, 3H); 3.69 (s, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 7.64 (d, 1H, J = 1.2 Hz)
 Ácido (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-etilpropenoico (9c):
- 20 El compuesto 9c se preparó a partir de 8c (0.041 g, 0.12 mmol) como se describió anteriormente para 9a para dar 0.010 g (0.033 mmol, 27%) del producto como un aceite de color oro después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%).
 $R_f = 0.16$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)
¹H RMN (CDCl₃): δ 0.98 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 2.04 (s, 3H); 2.18 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 3.70 (s, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 7.53 (s, 1H)
 Ácido (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-propilpropenoico (9d):
- 25 El compuesto 9d se preparó a partir de 8d (0.034 g, 0.098 mmol) como se describió anteriormente para 9a para dar 0.029 g (0.090 mmol, 92%) del producto como un aceite de color oro después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%).
 $R_f = 0.18$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)
- 30 ¹H RMN (CDCl₃): δ 0.77 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.41 (m, 2H); 2.04 (s, 3H); 2.13 (m, 2H); 3.70 (s, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 7.55 (s, 1H)
 Ácido (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-butilpropenoico (9e):
- El compuesto 9e se preparó a partir de 8e (0.166 g, 0.453 mmol) como se describió anteriormente para 9a usando el método B para dar 0.144 g (0.426 mmol, 94%) del producto como sólido amorfo de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.
- 35 $R_f = 0.26$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)
 mp = 70-85 °C
¹H RMN (CDCl₃): δ 0.74 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.19 (m, 4H); 2.04 (s, 3H); 2.15 (m, 2H); 3.70 (s, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 7.53 (s, 1H)
 Ácido (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-nonilpropenoico (9f):
- 40 El compuesto 9f se preparó a partir de 8f (0.121 g, 0.277 mmol) como se describió anteriormente para 9a usando el método B para dar 0.107 g (0.262 mmol, 93%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%).
 $R_f = 0.36$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)
- 45 ¹H RMN (CDCl₃): δ 0.84 (t, 3H, J = 6.9 Hz); 1.13 (m, 12H); 1.36 (m, 2H); 2.04 (s, 3H); 2.14 (m, 2H); 3.70 (s, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 7.537 (s, 1H)

^{13}C RMN (CDCl_3): δ 12.9, 14.1, 22.7, 28.0, 28.3, 29.3, 29.5, 33.8, 31.9, 53.4, 60.7, 60.9, 61.1, 61.3, 124.7, 135.6, 136.6, 144.7, 146.5, 146.7, 147.8, 172.5

Ácido (*E*)-3-(2-cloro-3,4,5,6-tetrametoxifenil)-2-metilpropenoico (22):

- 5 El compuesto 22 se preparó a partir de 21 (0.255 g, 0.740 mmol) como se describió anteriormente para 9a usando el método A para dar 0.222 g (0.701 mmol, 95%) del producto como un sólido amorfo de color rojo después de la cromatografía instantánea (Et_2O :hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et_2O /hexanos.

R_f = 0.20 (Et_2O :hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

^1H RMN (CDCl_3): δ 1.81 (s, 3H); 3.71 (s, 3H); 3.86 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 7.57 (d, 1H, J = 1.2 Hz)

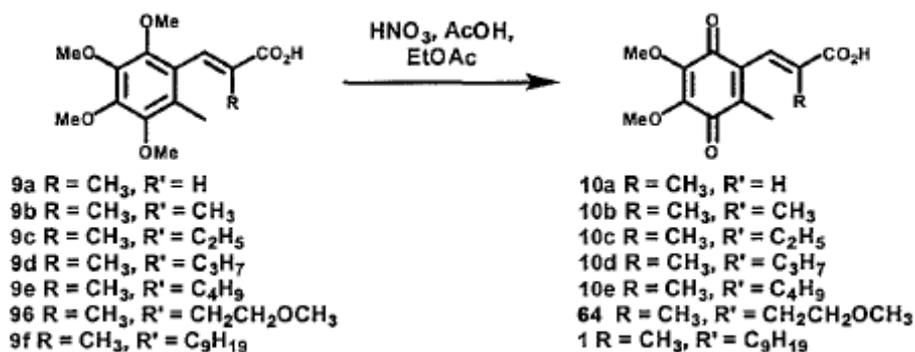
Ácido (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metoxietilpropenoico (96):

- 10 El compuesto 96 se preparó a partir de 95 (0.074 g, 0.21 mmol) como se describió anteriormente para 9a usando el método A para dar 0.070 g (0.21 mmol, 100%) del producto como un sólido de color marrón claro después de la cromatografía instantánea (Et_2O :hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et_2O /hexanos.

R_f = 0.16 (Et_2O :hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 97-99 °C

- 15 ^1H RMN (CDCl_3): δ 2.07 (s, 3H); 2.45 (t, 2H, J = 6.9 Hz); 3.20 (s, 3H); 3.68 (s, 3H); 3.69 (q, 2H, J = 6.9 Hz); 3.76 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 7.59 (s, 1H)



Ácido (*E*)-3-(4,5-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-propenoico (10a):

- 20 Método A: Siguiendo las modificaciones a los procedimientos por Shinkawa et al. y Flader et al.,^{16,22} el ácido 9a (0.089 g, 0.31 mmol) se disolvió en acetato de etilo (10.0 mL) a temperatura ambiente, luego se añadieron HNO₃ (1.0 mL) y AcOH (6 gotas) a temperatura ambiente y la reacción se agitó durante 4 horas. La reacción se diluyó a continuación con EtOAc (20.0 mL), se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite de color rojo se purificó a continuación mediante cromatografía en columna instantánea (Et_2O :hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et_2O /hexanos para proporcionar 10a.

- 25 Método B: Siguiendo el procedimiento de Flader et al.,²² se disolvió 9a (0.046, 0.16 mmol) en acetonitrilo (5.0 mL) a temperatura ambiente, luego nitrato de amonio cérico (0.294 g, 0.536 mmol) disuelto en agua (5.0 mL) fue añadido a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 30 minutos y luego se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El sólido de color rojo resultante se recristalizó (Et_2O /hexanos) para proporcionar 10a (0.024 g, 0.093 mmol, 57%) como un sólido de color rojo.

- 30 R_f = 0.06 (Et_2O :hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 116-125 °C

^1H RMN (CDCl_3): δ 2.19 (s, 3H); 4.00 (s, 6H); 6.76 (d, 1H, J = 16.2 Hz); 7.60 (d, 1H, J = 16.2 Hz)

Ácido (*E*)-3-(4,5-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-metilpropenoico (10b):

- 35 El compuesto 10b se preparó a partir de 9b (0.057 g, 0.19 mmol) como se describió anteriormente para 10a usando el método B para dar 0.016 g (0.060 mmol, 31%) del producto como un sólido de color rojo después de la cromatografía instantánea (Et_2O :hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et_2O /hexanos.

$R_f = 0.06$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 134-136 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.77 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 1.95 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 4.01 (s, 3H); 4.03 (s, 3H); 7.39 (s, 1H)

Ácido (*E*)-3-(4,5-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-etilpropenoico (10c):

- 5 El compuesto 10c se preparó a partir de 9c (0.010 g, 0.033 mmol) como se describió anteriormente para 10a para dar 0.003 g (0.010 mmol, 32%) del producto como un sólido de color rojo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.10$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 124-131 °C

- 10 ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.01 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.94 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.12 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 3.99 (s, 3H); 4.01 (s, 3H); 7.23 (d, 1H, J = 1.2 Hz)

Ácido (*E*)-3-(4,5-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-propilpropenoico (10d):

- 15 El compuesto 10d se preparó a partir de 9d (0.029 g, 0.090 mmol) como se describió anteriormente para 10a para dar 0.016 g (0.053 mmol, 59%) del producto como un sólido de color rojo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.12$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 95-99 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.76 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.41 (m, 2H); 1.91 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 2.04 (m, 2H); 3.95 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 7.24 (s, 1H)

- 20 Ácido (*E*)-3-(4,5-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-butilpropenoico (10e):

El compuesto 10e se preparó a partir de 9e (0.015 g, 0.044 mmol) como se describió anteriormente para 10a para dar 0.005 g (0.018 mmol, 40%) del producto como un sólido de color rojo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.12$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

- 25 mp = 54-55 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.82 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.22 (m, 2H); 1.39 (m, 2H); 1.95 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.10 (m, 2H); 3.99 (s, 3H); 4.02 (s, 3H); 7.24 (s, 1H)

Ácido (*E*)-3-(4,5-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-nonilpropenoico (1):

- 30 El compuesto 1 se preparó a partir de 9f (1.13 g, 2.77 mmol) como se describió anteriormente para 10a usando el método A para dar 0.443 g (1.17 mmol, 42%) del producto como un sólido de color rojo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.16$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 56-57 °C (Lit. 68 °C){#280}

análisis elemental: calculado C(66.65%), H(7.99%); encontrado C(66.32%), H(7.89%)

- 35 ¹H RMN (CDCl₃): δ 0.84 (t, 3H, J = 6.6 Hz), 1.18 (bs, 14H); 1.39 (bs, 2H); 1.94 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 2.09 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 3.99 (s, 3H); 4.02 (s, 3H); 7.26 (d, 1H, J = 1.5 Hz)

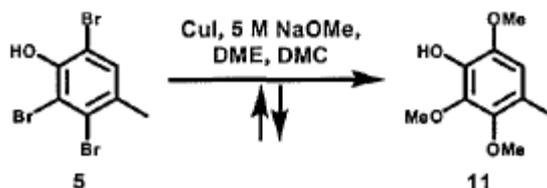
Ácido (*E*)-3-(4,5-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-metoxietilpropenoico (64):

- 40 El compuesto 64 se preparó a partir de 96 (0.070 g, 0.21 mmol) como se describió anteriormente para 10a usando el método A para dar 0.012 g (0.039 mmol, 19%) del producto como un sólido de color rojo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.06$ (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 104-106 °C

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.95 (d, 3H, $J = 1.5$ Hz); 2.40 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz); 3.24 (s, 3H); 3.44 (t, 2H, 6.6 Hz); 3.99 (s, 3H); 4.01 (s, 3H); 7.35 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz)



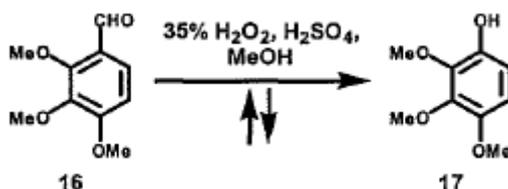
4-Metil-2,3,6-trimetoxifenol (11):

- 5 Siguiendo un procedimiento modificado por Shinkawa et al. and Keinan et al.,^{14, 16} se añadió NaOMe (25%, 4.37 M, 50.0 mL, 219 mmol) se añadieron a un matraz de fondo redondo de 100 mL secado por llama de 3 bocas unido a una trampa de Dean Stark. Era imperativo usar una barra de agitación suficientemente grande para permitir la agitación de la solución muy concentrada. Se añadieron DME (24.0 mL) y DMC (8.5 mL) y la reacción se destiló hasta que se eliminaron 31.5 mL de MeOH (NaOMe 11.8 M). Alternativamente, se pueden disolver Na (5.04 g, 219 mmol) en MeOH (70.0 mL), luego se puede añadir DME (60.0 mL) y DMC (5.0 mL), y se destiló MeOH (45.0 mL). La reacción opaca de color blanco se enfrió a temperatura ambiente y se añadió CuI (5.173 g, 27.1 mmol), en cuyo punto la reacción se convirtió en una solución púrpura oscura espesa. La reacción se calentó a ebullición y la trampa de Dean Stark se reemplazó por un condensador de reflujo con camisa de agua. Se disolvió 5 (5.89 g, 17.1 mmol) en DME (10.0 mL) y luego se añadió a reflujo con la suficiente lentitud para evitar el golpe. Finalmente, la solución se vuelve demasiado espesa para agitar y hierve violentamente. La solución se dejó hervir a reflujo durante 24 horas y el progreso se controló mediante RMN.

Al finalizar, la reacción se enfrió a ~ 50 °C y se añadió agua (50.0 mL). La reacción se acidificó lentamente y luego se filtró a través de Celite. La reacción se extrajo luego con acetato de etilo y se lavó con salmuera. Después de secar sobre MgSO_4 , la reacción se filtró y se condensó. El aceite en bruto se purificó por cromatografía en columna instantánea ($\text{Et}_2\text{O}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:49) para proporcionar 11 (1.67 g, 8.43 mmol, 49%) como un aceite incoloro.

$R_f = 0.26$ (EtOAc:hexanos 1:4)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 2.18 (s, 3H); 3.76 (s, 3H); 3.82 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 5.42 (bs, 1H, OH); 6.41 (s, 1H)

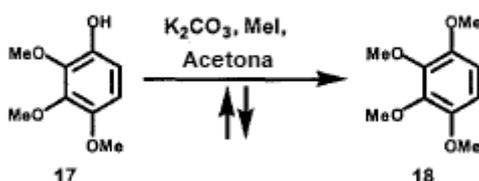


2,3,4-trimetoxifenol (17):

- 25 Siguiendo un procedimiento modificado por Tremblay et al.,¹⁷ se disolvió 2,3,4-trimetoxibenzaldehído (16, 6.075 g, 31.0 mmol) en MeOH (60.0 mL) y luego se añadieron H_2SO_4 (0.6 mL) y H_2O_2 ac. al 35% (4.0 mL, ~ 40 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó entonces a reflujo durante 2 horas y se controló mediante TLC (EtOAc:hexanos 1:4) para determinar la finalización. Cuando se completó la reacción, la solución se enfrió y se extrajo con acetato de etilo. Las capas se separan y la capa orgánica se lava con salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se filtró. La cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:4) proporciona 17 (5.564 g, 30.2 mmol, 98%) como un aceite de color rojo claro.

$R_f = 0.29$ (EtOAc:hexanos 1:4)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 3.79 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 3.94 (s, 3H); 5.34 (ancho s, 1H, OH); 6.57 (q, 2H, $J = 9.0, 22.8$ Hz)



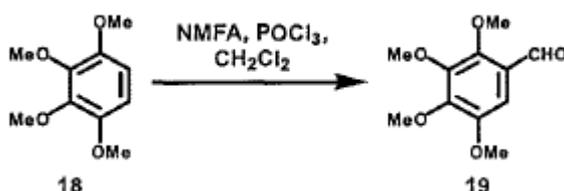
1,2,3,4-tetrametoxibenceno (18):

5 Siguiendo el procedimiento de Tremblay et al.,¹⁷ se disolvió 17 (3.851 g, 20.9 mmol) en acetona seca (90.0 ml), y se añadió K₂CO₃ (9.36 g, 67.7 mmol) seguido de MeI (9.0 mL, 144 mmol). La reacción se calentó a reflujo, durante 26 h y se controló mediante TLC (EtOAc: hexanos 1: 9) para determinar la finalización. Cuando se completó, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. La acetona se eliminó a presión reducida y el residuo se recogió en CH₂Cl₂ (50 mL). La suspensión se filtró, se secó sobre MgSO₄, se filtró de nuevo y se condensó. El producto en bruto se puede purificar por cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:4), sin embargo, la recristalización en Et₂O/hexanos fue suficiente para proporcionar 18 (3.405 g, 17.2 mmol, 82%) en bruto como agujas de color blanco.

R_f = 0.35 (EtOAc:hexanos 1:4)

10 mp = 86-87 °C (Lit. 87-87.5 °C)³⁷

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.80 (s, 6H); 3.88 (s, 6 H); 6.56 (s, 2H)



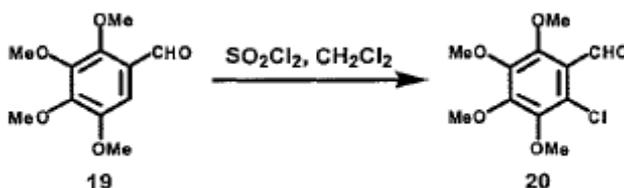
2,3,4,5-tetrametoxibenzaldehído (19):

15 Siguiendo el procedimiento de Syper et al.,¹⁹ se añadió N-metilformanilida (1.0 mL, 8.1 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama en atmósfera de argón y un tubo de secado. Se añadió POCl₃ (1.0 mL, 11 mmol) a temperatura ambiente y se eliminó la línea de Argón. Después de 5 minutos, se disolvió 18 (1.067 g, 5.38 mmol) en CH₂Cl₂ (2.0 mL) y se añadieron a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente bajo un tubo de secado durante 48 horas y se controló mediante ¹H RMN. Cuando se completó, la reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera saturada, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El producto resultante se separó de la N-metilformanilida restante usando cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:4) para proporcionar 19 (1.141 g, 5.04 mmol, 94%) como un aceite incoloro.

R_f = 0.17 (Et₂O:hexanos 1:4)

Mp = aceite (Lit. 38 °C d)³⁸

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.85 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 3.97 (s, 3H); 7.09 (s, 1H); 10.27 (s, 1H)



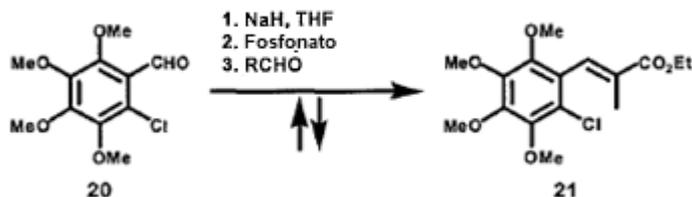
25

2-Cloro-3,4,5,6-tetrametoxibenzaldehído (20):

30 De acuerdo con un procedimiento general de cloración de arilo de Lopez-Alvarado,³⁹ se disolvió 19 (0.767 g, 3.39 mmol) en CH₂Cl₂ (10.0 mL) a temperatura ambiente y luego se añadió SO₂Cl₂ (puro, 0.31 mL, 3.7 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 1 hora y se controló por ¹H RMN para determinar la finalización. La reacción se diluyó después con CH₂Cl₂, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó después mediante cromatografía en columna instantánea (Et₂O: hexanos 1: 4) para proporcionar 20 (0.861 g, 3.30 mmol, 97%) como un aceite incoloro.

R_f = 0.27 (Et₂O:hexanos 1:4)

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.84 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 4.02 (s, 3H); 10.34 (s, 1H)



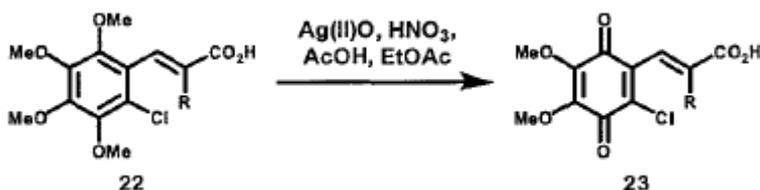
(*E*)-3-(2-cloro-3,4,5,6-tetrametoxifenil)-2-metilpropenoato de etilo (21):

De acuerdo con el procedimiento modificado de Murphy et al.,²⁶ se añadió NaH (0.455 g, 11.3 mmol) a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 50 mL secado a la llama conectado a un condensador de reflujo con camisa de agua. El matraz se purgó con argón y se unió un tubo de secado a la parte superior. Se añadió tolueno (20.0 mL) al matraz seguido de fosfonato (1.3 ml, 6.0 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó a reflujo, durante 30 minutos, y el aldehído (20, 0.861 g, 3.30 mmol) se disolvió en tolueno (14.0 mL) y se añadió lentamente a reflujo. La reacción se calentó durante otras 8 h bajo reflujo. La reacción se enfrió luego a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó, se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (iPr2O: hexanos 1: 9) para proporcionar 21 (0.559 g, 1.62 mmol, 49%) como un aceite incoloro.

$R_f = 0.29$ (Et₂O:hexanos 1:4)

E:Z = 1:0 en tolueno a reflujo

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.34 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.78 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 3.69 (s, 3H); 3.86 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 3.94 (s, 3H); 4.26 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.42 (q, 1H, J = 1.5 Hz)



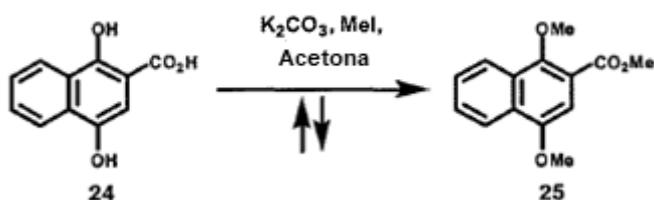
Ácido (*E*)-3-(2-cloro-4,5-dimetoxi-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-metilpropenoico (23):

Siguiendo un procedimiento modificado de Flader et al.,²² se disolvió 22 (0.124 g, 0.391 mmol) en acetonitrilo (10.0 mL) a temperatura ambiente, se añadió luego nitrato de amonio cérico (0.970 g, 1.77 mmol) disuelto en agua (8.0 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 30 minutos y luego se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite de color rojo se purificó a continuación mediante cromatografía en columna instantánea (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et₂O/hexanos para proporcionar 23 (0.026 g, 0.091 mmol, 22%) como un sólido de color rojo.

$R_f = 0.32$ (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%)

mp = 183-185 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.83 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 4.03 (s, 3H); 4.05 (s, 3H); 7.28 (d, 1H, J = 1.2Hz)



Metil 1,4-dimetoxi-2-naftoato (25):

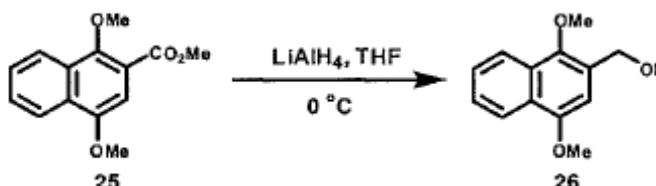
De acuerdo con una modificación del procedimiento por Brimble et al.,³⁶ se añadieron ácido 1,4-dihidroxi-2-naftoico (24, 2.77 g, 13.6 mmol) y K₂CO₃ (14.01 g, 101.4 mmol) a un matraz de fondo redondo de 250 mL, secado a la llama seguido

de acetona seca (120.0 mL) y MeI (13.0 mL, 209 mmol) a temperatura ambiente. Se unió un condensador de reflujo con camisa de agua y la reacción se calentó a reflujo, durante 12 horas. A continuación, la reacción se enfrió, se filtró y el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo de color marrón se resuspendió luego en CH₂Cl₂, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite/sólido de color marrón resultante se purificó después ya sea por cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 7:13) o se recristalizó en Et₂O/hexanos para proporcionar 25 (3.19 g, 13.0 mmol, 96%) en forma de cristales granulares de color marrón.

R_f = 0.44 (EtOAc:hexanos 3:17)

mp = 50-52 °C (Lit. 48-50 °C)²²

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.98 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 7.14 (s, 1H); 7.57 (m, 2H); 8.22 (m, 2H)



10

1,4-dimetoxi-2-hidroximetilnaftaleno (26):

De acuerdo con el procedimiento de Flader et al.,²² se añadió hidruro de litio y aluminio (0.855 g, 21.4 mmol) a un matraz de fondo redondo de 250 mL secado a la llama en atmósfera de argón, al que se añadió THF seco (150.0 mL) a temperatura ambiente. Luego se disolvió el éster 25 (5.05 g, 20.5 mmol) en THF (50.0 mL) y se añadió lentamente a temperatura ambiente en atmósfera de argón, y la reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 8 horas. La reacción se inactivó luego mediante la adición de H₂O (1.0 mL) gota a gota a 0 °C, seguido de NaOH 2 M (2.0 mL), y luego H₂O (3.0 mL). La suspensión resultante se filtró luego y el filtrado se acidificó con HCl diluido, se lavó con salmuera saturada, se secó sobre MgSO₄ y se filtró. El filtrado condensado dio como resultado un sólido en bruto que podía purificarse por cromatografía en columna instantánea (EtOAc:hexanos 7:13) o la recristalización en Et₂O/hexanos para proporcionar 26 (4.34 g, 19.9 mmol, 97%) como largas agujas de color blanco.

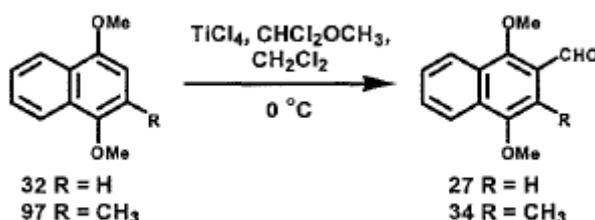
15

20

R_f = 0.30 (EtOAc:hexanos 7:13)

mp = 66-68 °C (Lit. 69-70 °C)²²

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.29 (ancho s, 1H); 3.89 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 4.86 (s, 2H); 6.79 (s, 1H); 7.49 (m, 2H); 8.01 (dd, 1H, J = 1.2, 7.5 Hz); 8.21 (dd, 1H, J = 1.2, 7.5 Hz)



25

1,4-dimetoxi-2-naftaldehído (27):

Método A:

Siguiendo un procedimiento modificado de Ito y col.,²⁴ se añadió a un matraz de fondo redondo de 50 mL secado a la llama 32 (1.34 g, 7.12 mmol) disuelto en CH₂Cl₂ (10.0 mL) y luego se enfrió a 0 °C bajo argón. A continuación, se añadió TiCl₄ (1 M en CH₂Cl₂, 8.0 mL, 8.0 mmol) lentamente a 0 °C seguido éter metílico de α,α-diclorometilo (0.71 mL, 8.0 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C, durante 3 horas y se vertió en agua y se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. La reacción se extrajo después con EtOAc, se lavó con salmuera saturada, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó usando cromatografía instantánea (CH₂Cl₂) para proporcionar 27 (1.43 g, 6.62 mmol, 93%) como un sólido de color blanco que se recristalizó en Et₂O:hexanos para proporcionar agujas de color blanco.

30

35

Alternativamente, se añadió éter metílico α, α-diclorometilo a CH₂Cl₂ en un matraz de fondo redondo secado a la llama a 0 °C. Se añadió TiCl₄ a 0 °C y se agitó durante 5 minutos. Luego se añadió 32 a 0 °C disuelto en CH₂Cl₂ y la reacción se agitó a 0 °C, durante 4 horas. La reacción se vertió luego en agua y se agitó durante 10 minutos a temperatura

ambiente. La reacción se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera saturada, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó.

Método B:

- 5 A un matraz de fondo redondo de 50 mL secado a la llama se le añadió fosforosoocloruro (5.0 mL, 55 mmol) y luego N-metilformanilida (4.9 mL, 54 mmol) a temperatura ambiente. La solución transparente incolora se convirtió en una solución de color amarillo pálido durante 10 minutos a temperatura ambiente, y luego se añadió sólido 32 (4.99 g, 40.5 mmol) a la reacción a temperatura ambiente, y el 32 residual se añadió disuelto en CH₂Cl₂ (2.0 mL). La reacción rápidamente se volvió de color naranja y demasiado espesa para agitar. Después de 12 h a temperatura ambiente, se añadió CH₂Cl₂ (5 x 5.0 mL) en porciones durante un período de 4 horas para reanudar la agitación mientras se mantenía la reacción concentrada. Después de 30 horas, se retiró una muestra, se trató con agua, se secó y se analizó mediante TLC (EtOAc: hexanos 1: 3) y ¹H RMN para determinar que no quedaba material de partida. La suspensión de color naranja se diluyó luego con CH₂Cl₂ hasta un volumen final de 150 mL, y la solución de color rojo se trató con hielo y se agitó durante 2 horas. La capa orgánica se separó a continuación, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El sólido de color marrón resultante se suspendió entonces en acetona (75.0 mL) y se llevó a ebullición, en cuyo punto la solución era transparente/de color marrón. Se añadió hexano en ebullición a un volumen total de 125 mL y la solución se enfrió a temperatura ambiente y luego a -20 °C. Se recogieron agujas de color marrón claro y se determinó que 27 (4.77 g, 22.1 mmol, 83%) era puro por RMN.

R_f = 0.62 (CH₂Cl₂)

mp = 108 * 109 °C (Lit. 120-121 °C)²³

- 20 ¹H RMN (CDCl₃): δ 4.01 (s, 3H); 4.08 (s, 3H); 7.11 (s, 1H); 7.62 (m, 2H); 8.23 (m, 2H); 10.56 (s, 1H)

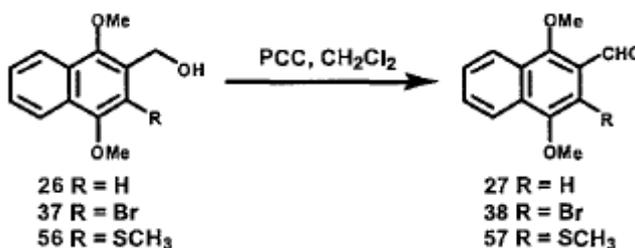
1,4-dimetoxi-3-metil-2-naftaldehído (34):

El compuesto 34 se preparó a partir de 97 (1.90 g, 9.39 mmol) como se describió anteriormente para 27 siguiendo el método A para dar 1.490 g (6.47 mmol, 69%) del producto como un sólido de color blanco que se recristalizó en Et₂O/hexanos para proporcionar agujas de color blanco.

- 25 R_f = 0.57 (EtOAc:hexanos 3:7)

mp = 78-80 °C (Lit. 83.5-93.7 °C)²⁴

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.63 (s, 3H); 3.85 (s, 3H); 4.05 (s, 3H); 7.59 (dt, 2H, J = 7.2, 33.3 Hz); 8.14 (dd, 2H, J = 8.4, 26.1 Hz)



1,4-dimetoxi-2-naftaldehído (27):

- 30 Se añadió clorocromato de piridinio (PCC, 1.04 g, 4.8 mmol) a un matraz de fondo redondo de 100 mL secado a la llama seguido de CH₂Cl₂ seco (25.0 mL) a temperatura ambiente bajo argón. El alcohol 26 (0.607 g, 2.78 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (5.0 mL) y se añadió lentamente a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante otras 12 h a temperatura ambiente antes de verterse en una lechada de fluorocil, MgSO₄ y CH₂Cl₂. Después de agitar, la suspensión se filtró a través de celite y se condensó. El sólido resultante se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (CH₂Cl₂) para proporcionar 27 (0.510 g, 2.36 mmol, 85%) como agujas de color blanco. El producto también se purificó por recristalización en Et₂O: hexanos si no estaba presente material de partida.

R_f = 0.62 (CH₂Cl₂)

mp = 108-109 °C (Lit. 120-121 °C)²³

¹H RMN (CDCl₃): δ 4.01 (s, 3H); 4.08 (s, 3H); 7.11 (s, 1H); 7.62 (m, 2H); 8.23 (m, 2H); 10.56 (s, 1H)

- 40 3-bromo-1,4-dimetoxi-2-naftaldehído (38):

El compuesto 38 se preparó a partir de 37 (1.85 g, 6.24 mmol) como se describió anteriormente para 27 para dar 1.61 g (5.47 mmol, 88%) del producto como agujas de color blanco después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 3:17). El producto también se purificó por recristalización en Et₂O/hexanos si no estaba presente material de partida.

R_f = 0.29 (EtOAc:hexanos 1:9)

5 mp = 99-100 °C (Lit. 110 °C)³⁸

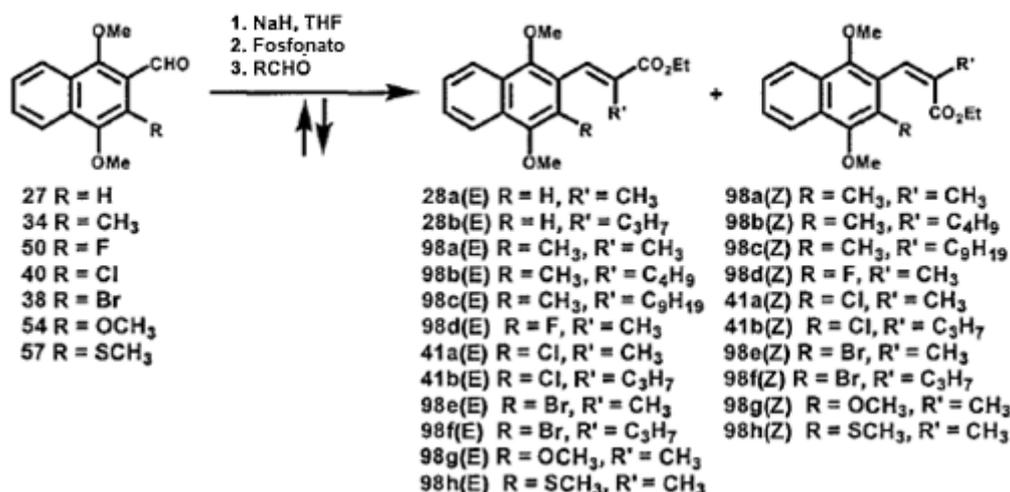
¹H RMN (CDCl₃): δ 3.98 (s, 3H); 4.05 (s, 3H); 7.65 (m, 2H); 8.18 (dd, 2H, J = 8.1, 33 Hz); 10.53 (s, 1H)

1,4-Dimetoxi-3-metilsulfanil-2-naftaldehído (57):

10 El compuesto 57 se preparó a partir de 56 (0.514 g, 1.94 mmol) como se describió anteriormente para 27 para dar 0.308 g (1.17 mmol, 62%) del producto como un aceite de color amarillo/sólido después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:9).

R_f = 0.26 (EtOAc:hexanos 1:9)

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.47 (s, 3H); 4.01 (s, 3H); 4.04 (s, 3H); 7.62 (m, 2H); 8.13 (d, 1H, J = 8.1 Hz); 8.21 (d, 1H, J = 8.1 Hz); 10.70 (s, 1H)



15 (*E*)-3-(1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo (28a):

De acuerdo con el procedimiento modificado de Murphy et al., 26 se añadió NaH (0.303 g, 7.59 mmol) a un matraz de fondo redondo de 50 mL secado a la llama conectado a un condensador de reflujo con camisa de agua. El matraz se purgó con argón y se unió un tubo de secado a la parte superior. Se añadió tolueno (20.0 mL) al matraz seguido de fosfonato (1.0 mL, 4.6 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó a reflujo, durante 30 minutos, y el aldehído 27 (0.542 g, 2.51 mmol) se disolvió en tolueno (5.0 mL) y se añadió lentamente a reflujo. La reacción se calentó durante otras 8 h bajo reflujo. La reacción se enfrió luego a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó, se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (iPr₂O:hexanos <1:19) y se recristalizó en Et₂O/hexanos para proporcionar 28a puro (0.554 g, 1.84 mmol, 73%) como un aceite incoloro.

25 R_f = 0.30 (iPr₂O: hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 20:1 en tolueno a reflujo

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.36 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 2.10 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 3.91 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 4.29 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 6.70 (s, 1H); 7.51 (m, 2H); 7.96 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 8.152 (m, 2H)

(*E*)-3-(1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-propilpropenoato de etilo (28b):

30 El compuesto 28b se preparó a partir de 27 (0.495 g, 2.29 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.443 g (1.35 mmol, 59%) del producto como un sólido de color blanco después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:19) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.35$ (i-Pr₂O:hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 20:1 a -78 °C

mp = 36-38 °C

5 ¹H RMN (CDCl₃): δ 0.94 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.36 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.60 (m, 2H); 2.53 (m, 2H); 3.84 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 4.29 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 6.71 (s, 1H); 7.51 (m, 2H); 7.96 (s, 1H); 8.09 (dd, 1H, J = 1.2, 7.5 Hz); 8.21 (dd, 1H, J = 1.8, 7.5 Hz)

(E)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo (41a):

10 El compuesto 41a se preparó a partir de 40 (2.93 g, 11.7 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 2.56 g (7.65 mmol, 65%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:19) y recristalización en Et₂O/hexanos. (1.50 g de E, sólido de color amarillo; 0.960 g de E/Z, aceite de color oro; 0.101 g de Z, sólido de color oro)

$R_f = E = 0.32$; Z = 0.24 (iPr₂O: hexanos 1:19, 4 desarrollos) E:Z = 15:5 en tolueno a reflujo

mp= 108-109 °C

15 ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.37 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.83 (s, 3H); 3.75 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 4.30 (q, 2H, J = 7.2); 7.55 (m, 2H); 7.68 (s, 1H); 8.11 (m, 2H)

(E)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-il)propilpropenoato de etilo (41b):

20 El compuesto 41b se preparó a partir de 40 (0.261 g, 1.04 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.115 g (0.32 mmol, 32%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:19) y recristalización en Et₂O/hexanos. (0.057 g de E; 0.098 g de E/Z)

20 $R_f = E = 0.31$; Z = 0.23 (i-Pr₂O:hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 15:5 en tolueno a reflujo

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.72 (t, 3H, J = 7.5); 1.36 (t, 3H, J = 7.2); 1.41 (m, 2H); 2.22 (m, 2H); 3.77 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 4.30 (q, 2H, J = 7.2); 7.55 (m, 2H); 7.57 (s, 1H); 8.11 (m, 2H)

(E)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilnaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo (98a):

25 El compuesto 98a se preparó a partir de 34 (0.506 g, 2.20 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.541 g (1.42 mmol, 65%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (iPr₂O: hexanos 1:19).

$R_f = E = 0.22$; Z = 0.15 (i-Pr₂O:hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 20:1 en tolueno a reflujo.

30 ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.36 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.79 (s, 3H); 2.28 (s, 3H); 3.73 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 4.30 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.49 (m, 2H); 7.70 (s, 1H); 8.07 (m, 2H)

(E)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilnaftalen-2-il)-2-butilpropenoato de etilo (98b) :

35 El compuesto 98b se preparó a partir de 34 (0.383 g, 1.67 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.209 g (0.58 mmol, 34%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:9) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = E = 0.37$; Z = 0.27 (i-Pr₂O:hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 20:1 en tolueno a reflujo

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.70 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.11 (m, 2H); 1.31 (m, 2H); 1.36 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 2.21 (m, 2H); 2.28 (s, 3H); 3.75 (s, 3H); 3.86 (s, 3H); 4.29 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.49 (m, 2H); 7.59 (s, 1H); 8.08 (m, 2H)

40 (E)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilnaftalen-2-il)-2-nonilpropenoato de etilo (98c):

El compuesto 98c se preparó a partir de 34 (0.479 g, 2.08 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.373 g (0.874 mmol, 41%) del producto como un aceite de color amarillo después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:9).

$R_f = 0.29$ (i-Pr₂O:hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 20:1 en tolueno a reflujo

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.81 (t, 3H, J = 6.9 Hz); 1.07 (m, 10H); 1.29 (m, 4H); 1.36 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 2.20 (t, 2 hexanos, J = 7.2 Hz); 2.28 (s, 3H); 3.75 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 4.30 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.48 (m, 2H); 7.59 (s, 1H); 8.08 (m, 2H) etilo

(*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-fluoronaftalen-2-il)-2-metilpropeonoato (98d):

- 5 El compuesto 98d se preparó a partir de 50 (0.216 g, 0.922 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.226 g (0.710 mmol, 77%) del producto como un aceite de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:19). (0.093 g de E puro; 0.128 g de E/Z; 0.005 g de Z)

R_f = E = 0.25; Z = 0.17 (Et₂O:hexanos 1:19, 3 desarrollos)

E:Z = 5:1 en tolueno a reflujo

- 10 ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.36 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.91 (t, 3H, J = 1.8 Hz); 3.80 (s, 3H); 4.05 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 4.30 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.51 (m, 2H); 7.67 (s, 1H); 8.09 (dd, 1H, J = 1.2, 7.5 Hz); 8.14 (dd, 1H, J = 1.2, 7.5 Hz)

¹⁹F RMN (CDCl₃): δ -137.41 (s, 1F)

(*E*)-3-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo (98e):

- 15 El compuesto 98e se preparó a partir de 38 (0.515 g, 1.75 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.373 g (0.984 mmol, 56%) del producto como un sólido de color blanco después de la cromatografía instantánea (i-Pr₂O:hexanos 1:19) y recristalización en Et₂O/hexanos. (0.314 g de E; 0.059 g de Z)

R_f = E = 0.26; Z = 0.19 (i-Pr₂O:hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 17:3 en tolueno a reflujo

mp = 102 -103 °C

- 20 ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.37 (t, 3H, 7.2 Hz); 1.81 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 3.74 (s, 3H); 3.97 (s, 3H); 4.31 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.56 (m, 2H); 7.65 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 8.11 (m, 2H)

(*E*)-3-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-propilpropenoato de etilo (98f):

- 25 El compuesto 98f se preparó a partir de 38 (0.514 g, 1.75 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.346 g (0.849 mmol, 49%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:19) y recristalización en Et₂O/hexanos. (0.291 g de E; 0.055 g de Z)

R_f = E = 0.33; Z = 0.23 (i-Pr₂O:hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 17:3 en tolueno a reflujo

mp = 89-90 °C

- 30 ¹H RMN (CDCl₃): δ 0.72 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.36 (t, 3H, J = 6.9 Hz); 1.40 (m, 2H); 2.21 (m, 2H); 3.76 (s, 3H); 3.97 (s, 3H); 4.30 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.54 (s, 1H); 7.56 (m, 2H); 8.11 (m, 2H)

(*E*)-3-(1,3,4-trimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo (98g):

El compuesto 98g se preparó a partir de 54 (0.330 g, 1.33 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.119 g (0.360 mmol, 27%) del producto como un aceite de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:9) y recristalización en Et₂O/hexanos. (fracciones E/Z descartadas)

- 35 R_f = E = 0.17; Z = 0.11 (i-Pr₂O:hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 11:9 en tolueno a reflujo

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.36 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.87 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 3.75 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 4.29 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.47 (m, 2H); 7.73 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 8.09 (m, 2H)

(*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilsulfanilnaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo (98h):

- 40 El compuesto 98h se preparó a partir de 57 (0.308 g, 1.17 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.231 g (0.667 mmol, 55%) del producto como un sólido amorfo de color amarillo después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:9) y recristalización en Et₂O/hexanos. (0.165 g de E; 0.065 g de E/Z)

R_f = 0.26 (EtOAc:hexanos 1:9)

E:Z = 7:3 en tolueno a reflujo

^1H RMN (CDCl_3): δ 1.37 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.82 (s, 3H); 2.37 (s, 3H); 3.72 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 4.30 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.54 (m, 2H); 7.86 (s, 1H); 8.10 (m, 2H)

Isómeros Z:

5 (3Z)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo ((Z)-41a):

El compuesto (Z)-41a se preparó a partir de 40 (2.93 g, 11.7 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 2.56 g (7.65 mmol, 65%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et_2O :hexanos 1:19) y recristalización en Et_2O /hexanos. (1.50 g de E, sólido de color amarillo; 0.959 g de E/Z, aceite de color oro; 0.101 g de Z, sólido de color oro)

10 R_f = 0.24 (i- Pr_2O :hexanos 1:19, 4 desarrollos)

E:Z = 15:5 en tolueno a reflujo

mp = 122-128 °C

^1H RMN (CDCl_3): δ 0.81 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 2.20 (d, 3H, J = 1.8 Hz); 3.77 (s, 3H); 3.96 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 3.96 (s, 3H); 6.83 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.50 (m, 2H); 8.06 (m, 2H)

15 (3Z)-3-(1,4-dimetoxi-3-fluoronaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo ((Z)-98d):

El compuesto (Z)-98d se preparó a partir de 50 (0.216 g, 0.922 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.226 g (0.710 mmol, 77%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et_2O :hexanos 1:19). (0.093 g de E puro; 0.128 g de E/Z; 0.0047 g de Z)

R_f = 0.17 (i- Pr_2O : hexanos 1:19)

20 mp = 37-39 °C

E:Z = 17:3 en tolueno a reflujo

^1H RMN (CDCl_3): δ 0.97 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 2.20 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 3.83 (s, 3H); 4.01 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 4.05 (, 2H, J = 7.2 Hz); 6.79 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.47 (m, 2H); 8.08 (m, 2H)

^{19}F RMN (CDCl_3): δ -138.93 (s, 1F)

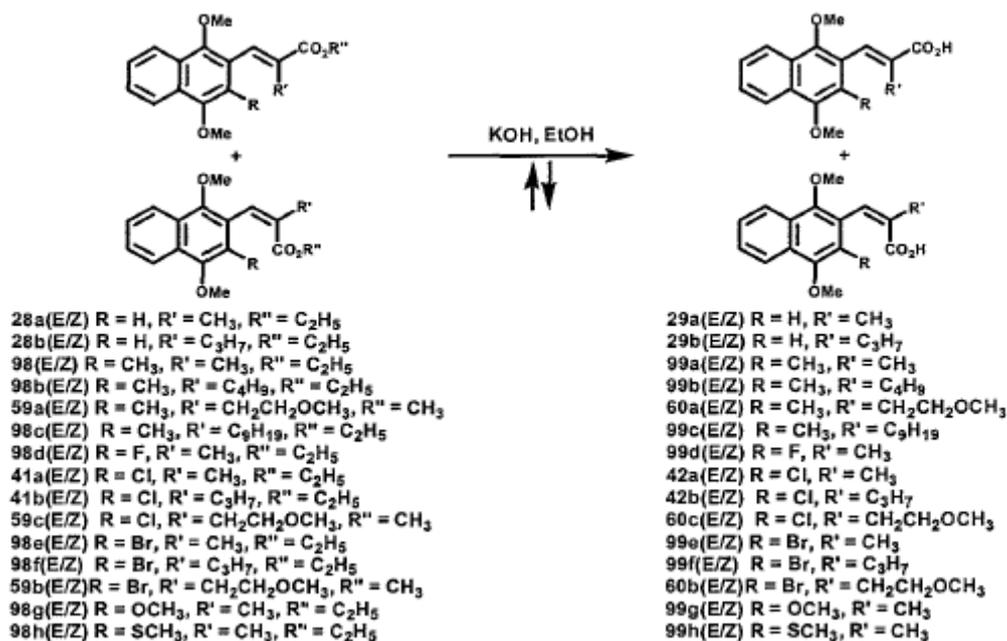
25 (3Z)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilsulfanilnaftalen-2-il)-2-metilpropenoato de etilo ((Z)-98h, SIN REFERENCIA):

El compuesto (Z)-98h se preparó a partir de 57 (0.308 g, 1.17 mmol) como se describió anteriormente para 28a para dar 0.2306 g (0.667 mmol, 55%) del producto como un sólido amorfo de color amarillo después de la cromatografía instantánea (EtOAc :hexanos 1:9). (0.165 g de E; 0.065 g de E/Z)

R_f = 0.26 (EtOAc :hexanos 1:9)

30 E:Z = 7:3 en tolueno a reflujo

^1H RMN (CDCl_3): δ 0.78 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 2.20 (d, 3H, J = 1.8 Hz); 2.38 (s, 3H); 3.72 (s, 3H); 3.93 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 3.99 (s, 3H); 6.99 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.48 (m, 2H); 8.05 (m, 2H)



Ácido (*E*)-3-(1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoico (29a):

5 Se disolvió éster Emmons 28a (0.231 g, 0.769 mmol) en EtOH (10.0 mL) y luego se añadió KOH (0.400 g, 7.13 mmol) a la reacción. La reacción se calentó a ebullición y se agitó a esta temperatura durante 30 minutos. A continuación, la reacción se enfrió, se acidificó y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El ácido resultante se usó después en bruto, o se puede purificar por cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et₂O/hexanos para proporcionar 29a (0.175 g, 0.643 mmol, 83%) como un sólido de color blanco.

R_f = 0.24 (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

10 mp = 149-155 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.16 (d, 3H, J = 1.2); 3.86 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 6.75 (s, 1H); 7.53 (m, 2H); 8.15 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 8.17 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-il)-2-propilpropenoico (29b):

15 El compuesto 29b se preparó a partir de 28b (0.215 g, 0.656 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.193 g (0.642 mmol, 99%) del producto como un sólido de color blanco después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.24 (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 139-141.5 °C

20 ¹H RMN (CDCl₃): δ 0.98 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.67 (m, 2H); 2.58 (m, 2H); 3.87 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 6.76 (s, 1H); 7.53 (m, 2H); 8.11 (m, 1H); 8.16 (s, 1H); 8.22 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoico (42a):

25 El compuesto 42a se preparó a partir de 41a (0.959 g, 2.90 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.872 g (2.84 mmol, 98%) del producto como un sólido de color marrón claro después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 3:17 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.08 (acetona:hexanos 3:17 AcOH al 0.5%)

mp = 155-157 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.88 (s, 3H); 3.77 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 7.58 (m, 2H); 7.85 (s, 1H); 8.123 (m, 2H)

¹³C RMN (CDCl₃): δ 14.7, 61.4, 62.0, 122.2, 123.0, 124.2, 126.8, 127.5, 127.7, 129.0, 132.1, 135.0, 148.7, 150.7, 172.3

Ácido (*E*)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-propilpropenoico (42b):

El compuesto 42b se preparó a partir de 41b (0.028 g, 0.077 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.026 g (0.077 mmol, 100%) del producto como un sólido de color rojo después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

5 $R_f = 0.19$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 188-190 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.74 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.44 (m, 2H); 2.26 (m, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.989 (s, 3H); 7.56 (m, 2H); 7.75 (s, 1H); 8.13 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilnaftalen-2-il)-2-metoxietilpropenoico (60a):

10 El compuesto 60a se preparó a partir de 59a (0.104 g, 0.302 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.076 g (0.23 mmol, 77%) del producto como un sólido de color marrón claro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.10$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 145-148 °C

15 ¹H RMN (CDCl₃): δ 2.30 (s, 3H); 2.57 (t, 2H, J = 6.6 Hz); 3.17 (s, 3H); 3.44 (t, 2H, J = 6.6 Hz); 3.77 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 7.50 (m, 2H); 7.86 (s, 1H); 8.08 (dt, 2H, J = 8.4, 1.2 Hz)

Ácido (*E*)-3-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metoxietilpropenoico (60b):

20 El compuesto 60b se preparó a partir de 59b (0.179 g, 0.437 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.060 g (0.15 mmol, 35%) del producto como un sólido de color marrón claro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.12$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 158 -160 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.57 (t, 3H, J = 6.3 Hz); 3.27 (s, 3H); 3.45 (t, 3H, J = 6.3 Hz); 3.79 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 7.57 (m, 2H); 7.72 (s, 1H); 8.12 (m, 2H)

25 Ácido (*E*)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metoxietilpropenoico (60c):

El compuesto 60c se preparó a partir de 59c (0.064 g, 0.17 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.067 g (0.19 mmol, 112%) del producto como un sólido de color marrón claro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.12$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

30 mp = 145-146 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.60 (t, 2H, J = 6.6 Hz); 3.21 (s, 3H); 3.45 (t, 2H, J = 6.6 Hz); 3.80 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 7.56 (m, 2H); 7.80 (s, 1H); 8.11 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilnaftalen-2-il)-2-metilpropenoico (99a):

35 El compuesto 99a se preparó a partir de 98a (0.176 g, 0.560 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.134 g (0.468 mmol, 83%) del producto como un sólido de color amarillo claro después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 3:17 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.20$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 153-155 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.80 (s, 3H); 3.75 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 7.51 (m, 2H); 7.72 (s, 1H); 8.09 (m, 2H)

40 Ácido (*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilnaftalen-2-il)-2-butilpropenoico (99b):

El compuesto 99b se preparó a partir de 98b (0.148 g, 0.415 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.154 g (0.469 mmol, 113%) del producto como un sólido de color blanco después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.24$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 133-134 °C

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 0.70 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.13 (m, 2H); 1.38 (m, 2H); 2.26 (m, 2H); 2.31 (s, 3H); 3.77 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 7.51 (m, 2H); 7.78 (s, 1H); 8.10 (m, 2H)

5 Ácido (*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilnaftalen-2-il)-2-nonilpropenoico (99c):

El compuesto 99c se preparó a partir de 98c (0.164 g, 0.384 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.152 g (0.381 mmol, 96%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%).

$R_f = 0.33$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

10 $^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 0.81 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.07 (m, 10H); 1.18 (m, 2H); 1.37 (m, 2H); 2.24 (m, 2H); 2.30 (s, 3H); 3.77 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 7.50 (m, 2H); 7.77 (s, 1H); 8.09 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-fluoronaftalen-2-il)-2-metilpropenoico (99d):

15 El compuesto 99d se preparó a partir de 98d (0.128 g, 0.402 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.097 g (0.33 mmol, 83%) del producto como un sólido de color blanco después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 1:4 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.13$ (acetona:hexanos 1:4 AcOH al 0.5%)

mp = 157-158.5 °C

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 1.93 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 3.82 (s, 3H); 4.06 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 7.52 (m, 2H); 7.83 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 8.10 (d, 1H, J = 8.4 Hz); 8.15 (d, 1H, J = 8.4 Hz)

20 $^{19}\text{F RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ -137.38 (s, 1F)

Ácido (*E*)-3-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoico (99e):

El compuesto 99e se preparó a partir de 98e (0.314 g, 0.828 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.291 g (0.829 mmol, 100%) del producto como un sólido de color blanco después de recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.32$ (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%)

25 mp = 143-145 °C

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 1.86 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 3.77 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 7.57 (m, 2H); 7.82 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 8.13 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-propilpropenoico (99f):

30 El compuesto 99f se preparó a partir de 98f (0.177 g, 0.435 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.078 g (0.21 mmol, 47%) del producto como un sólido de color blanco después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.19$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 187-194 °C

35 $^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 0.74 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.45 (m, 2H); 2.25 (m, 2H); 3.79 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 7.57 (m, 2H); 7.71 (s, 1H); 8.13 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(1,3,4-trimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoico (99g):

El compuesto 99g se preparó a partir de 98g (0.073 g, 0.22 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.068 g (0.22 mmol, 100%) del producto como un sólido de color marrón claro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

40 $R_f = 0.13$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 119-123 °C

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 1.91 (s, 3H); 3.77 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 7.49 (m, 2H); 7.91 (s, 1H); 8.10 (t, 2H, J = 6.6 Hz)

Ácido (*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilsulfanilnaftalen-2-il)-2-metilpropenoico (99h):

El compuesto 99h se preparó a partir de 98h (0.165 g, 0.476 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.181 g (0.568 mmol, 118%) del producto como un sólido de color naranja después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

5 $R_f = 0.18$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = XX-XX °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.82 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.37 (s, 3H); 3.72 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 7.51 (m, 2H); 7.99 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 8.07 (m, 2H)

Isómeros Z:

10 Ácido (3Z)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenoico ((Z)-42a):

El compuesto (Z)-42a se preparó a partir de (Z)-41a (0.959 g, 2.90 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.872 g (2.84 mmol, 99%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 3:17 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.08$ (acetona:hexanos 3:17 AcOH al 0.5%)

15 mp = 145-155 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.20 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 3.77 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 6.89 (q, 1H, J = 1.5 Hz); 7.50 (m, 2H); 8.04 (m, 2H)

¹³C RMN (CDCl₃): δ 20.8, 61.3, 61.7, 122.2, 122.8, 125.9, 126.5, 127.1, 127.3, 128.6, 131.1, 132.6, 148.6, 149.9, 171.0

Ácido (3Z)-3-(1,4-dimetoxi-3-fluoronaftalen-2-il)-2-metilpropenoico ((Z) 99d):

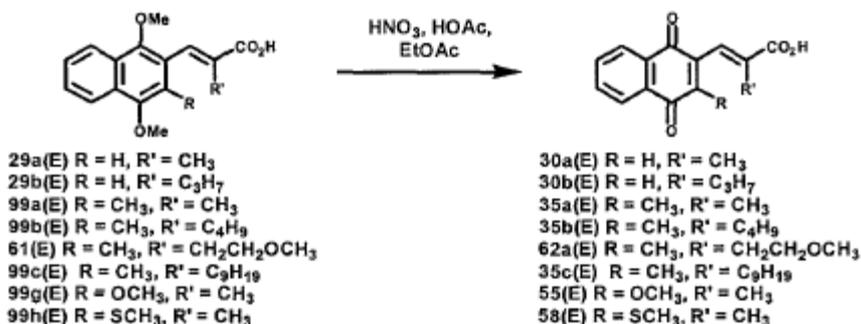
20 El compuesto (Z)-99d se preparó a partir de (Z)-98e (0.128 g, 0.402 mmol) como se describió anteriormente para 29a para dar 0.097 g (0.33 mmol, 83%) del producto como un sólido de color blanco después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 1:4 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.13$ (acetona:hexanos 1:4 AcOH al 0.5%)

mp = XX-XX °C

25 ¹H RMN (CDCl₃): 2.23 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 3.86 (s, 3H); 4.00 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 6.92 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.49 (m, 2H); 8.11 (dos d, 2 H, ocultos bajo el isómero E)

¹⁹F RMN (CDCl₃): δ -138.26 (s, 1F)



Ácido (*E*)-3-(1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico (30a):

30 Siguiendo los procedimientos modificados de Shinkawa et al. y Flader et al.,^{16,22} se disolvió el ácido 29a (0.114 g, 0.419 mmol) en acetato de etilo (10 mL) a temperatura ambiente, luego se añadieron HNO₃ (1.0 mL) y AcOH (3 gotas) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 4 horas antes de diluirse con acetato de etilo y lavarse con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite de color amarillo se purificó luego por ya sea cromatografía en columna instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et₂O/hexanos para proporcionar 30a (0.059 g, 0.24 mmol, 58%) como un sólido de color amarillo.

35

Alternativamente, la reacción se puede realizar como una mezcla de isómeros E y Z bajo las mismas condiciones. Después del tratamiento, la mezcla será el ácido E y el éster metílico Z de un evento de esterificación intramolecular que tiene lugar con el intermedio de oxonio. La separación mediante cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) fue necesaria para separar los componentes de éster y ácido.

5 R_f = 0.43 (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 205 °C d

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.13 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 6.99 (s, 1H); 7.79 (m, 3H); 8.11 (m, 2H)

¹H RMN (acetona-D₆): δ 2.15 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 7.06 (s, 1H); 7.72 (m, 1H); 7.89 (m, 2H); 8.09 (m, 2H)

¹H RMN (DMSO-D₆): δ 2.04 (s, 3H); 7.06 (s, 1H); 7.52 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.90 (m, 2H); 8.04 (m, 2H)

10 Ácido (*E*)-3-(1,4-naftoquinon-2-il)-2-propilpropenoico (30b):

El compuesto 30b se preparó a partir de 29b (0.193 g, 0.643 mmol) como se describió anteriormente para 30a para dar 0.064 g (0.24 mmol, 37%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos. (0.064 g de E; 0.006 g de éster metílico de Z)

R_f = 0.60 (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

15 mp = 156-160 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.97 (t, 3H, J = 7.5 Hz); 1.58 (m, 2H); 2.46 (m, 2H); 6.94 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 7.77 (m, 3H); 8.12 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(3-metil-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico (35a):

20 El compuesto 35a se preparó a partir de 99a (0.083 g, 0.29 mmol) como se describió anteriormente para 30a para dar 0.048 g (0.19 mmol, 65%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 3:17 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.30 (Et₂O:hexanos 2:3)

mp = 195-196 °C

análisis elemental: calculado C(70.31%), H(4.72%); encontrado C(69.93%), H(4.79%)

25 ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.81 (bs, 3H, J = 1.2 Hz); 2.11 (bs, 3H, J = 1.2 Hz); 7.58 (m, 1H, J = 1.2, 1.2 Hz); 7.73 (m, 2H); 8.09 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(3-metil-1,4-naftoquinon-2-il)-2-butilpropenoico (35b):

30 El compuesto 35b se preparó a partir de 99b (0.148 g, 0.45 mmol) como se describió anteriormente para 30a para dar 0.050 g (0.17 mmol, 37%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.47 (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 119-121 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.78 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.20 (m, 2H); 1.41 (m, 2H); 2.12 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 2.16 (m, 2H); 7.46 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.73 (m, 2H); 8.10 (m, 2H)

35 Ácido (*E*)-3-(3-metil-1,4-naftoquinon-2-il)-2-nonilpropenoico (35c):

El compuesto 35c se preparó a partir de 99c (0.152 g, 0.381 mmol) como se describió anteriormente para 30a para dar 0.050 g (0.14 mmol, 36%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.60 (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

40 mp = 64-66 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.81 (t, 3H, J = 6.9 Hz); 1.18 (m, 15H); 1.42 (m, 2H); 2.12 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 2.14 (m, 2H); 7.46 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.73 (m, 2H); 8.10 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(3-metoxi-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico (55):

El compuesto 58 se preparó a partir de 99g (0.060 g, 0.20 mmol) como se describió anteriormente para 30a para dar 0.015 g (0.05 mmol, 27%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.43 (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

5 mp = 205 °C d

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.83 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 4.15 (s, 3H); 7.53 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.73 (m (5), 2H); 8.08 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(3-metilsulfanil-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico (58):

10 El compuesto 55 se preparó a partir de 99h (0.180 g, 0.565 mmol) como se describió anteriormente para 30a para dar 0.063 g (0.22 mmol, 38%) del producto como un sólido esponjoso de color rojo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y la recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.45 (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 195-196 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.81 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.58 (s, 3H); 7.56 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 7.72 (m, 2H); 8.09 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(3-metil-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metoxietilpropenoico (62a):

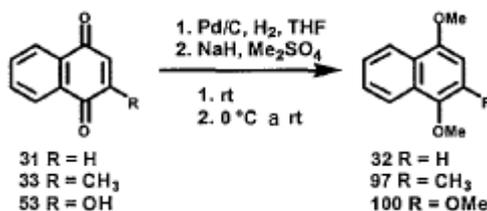
15 El compuesto 62a se preparó a partir de 61a (0.076 g, 0.23 mmol) como se describió anteriormente para 30a para dar 0.049 g (0.16 mmol, 70%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.45 (Et₂O:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 147-148 °C

20 análisis elemental: calculado C(67.99%), H(5.37%); encontrado C(68.10%), H(5.51%)

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.12 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.45 (t, 2H, J = 6.6 Hz); 3.20 (s, 3H); 3.44 (t, 2H, J = 6.6 Hz); 7.53 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 7.73 (m, 2H); 8.09 (m, 2H)



1,4-dimetoxinaftaleno (32):

25 Siguiendo el procedimiento de Evans et al.,²³ se añadieron, 1,4-naftoquinona (31, 10.00 g, 63.20 mmol) y Pd/C (10% en peso, 0.994 g) a un matraz de fondo redondo de 500 mL secado a la llama a temperatura ambiente bajo Argón. A continuación se añadió THF (250.0 mL) a temperatura ambiente, el recipiente de reacción se cubrió con papel de aluminio y luego se purgó con H₂ durante 10 minutos. Se colocó un balón lleno de H₂ y la reacción se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. La reacción se purgó entonces con argón antes de añadir NaH (5.66 g, 142 mmol)

30 lentamente a 0 °C. Después de 10 minutos, se añadió Me₂SO₄ (13.0 mL, 137 mmol) lentamente a 0 °C. La reacción se hizo demasiado espesa para agitar después de añadir Me₂SO₄, y se añadieron 50 mL de THF para facilitar la agitación. La mezcla de color verde oscuro se dejó agitar a temperatura ambiente, durante 4 horas. La reacción se filtró entonces a través de celite, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se condensó. El sólido resultante se purificó después ya sea por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos) o se recristalizó en Et₂O: hexanos para proporcionar 32 (11,74

35 g, 62,42 mmol, 99%) como agujas de color rosa.

R_f = 0.76 (CH₂Cl₂)

mp = 74-78 °C (Lit. 84-86 °C)²³

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.95 (s, 6H); 6.69 (s, 2H), 7.50 (m, 2H); 8.20 (m, 2H)

1,4-dimetoxi-2-metilnaftaleno (97):

El compuesto 97 se preparó a partir de 33 (3.54 g, 20.6 mmol) como se describió anteriormente para 32 para dar 4.02 g (19.9 mmol, 97%) del producto como un sólido de color blanco de bajo punto de fusión después de la cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos 1:19).

$R_f = 0.60$ (EtOAc:hexanos 3:7)

5 mp = 29-31 °C (Literatura 35.9-36.3)²⁴

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.43 (s, 3H); 3.85 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 7.45 (dt, 2H, J = 7.2, 27.3 Hz); 8.09 (dd, 2H, J = 8.4, 50.1 Hz)

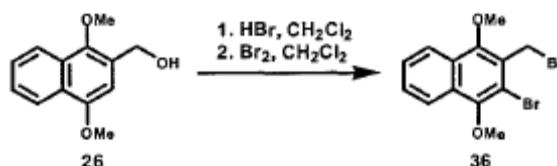
1,2,4-trimetoxinaftaleno (100):

El compuesto 100 se preparó a partir de 53 (5.23 g, 33.3 mmol) como se describió anteriormente para 32 para dar 5.19 g (23.8 mmol, 71%) del producto como un aceite de color rojo que se solidificó en el congelador.

10 $R_f = 0.17$ (EtOAc:hexanos 1:9); 0.50 (CH₂Cl₂)

Mp = aceite (Lit. 38-40 °C)³⁸

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.91 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 6.63 (s, 1H); 7.40 (m, 2 H); 8.09 (dd, 2 H, J = 8.4, 30.9 Hz)



2-bromo-3-bromometil-1,4-dimetoxinaftaleno (36):

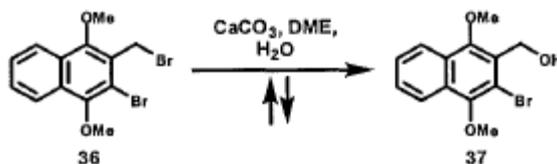
15 Se disolvió alcohol 26 (9.80 g, 45.0 mmol) en CH₂Cl₂ (150.0 mL) en un matraz de fondo redondo de 500 mL secado a la llama. Se añadió HBr concentrado (22.0 mL) para desplazar el alcohol, la solución se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se diluyó a continuación con CH₂Cl₂ (300.0 mL) y se añadió Br₂ (2.40 mL, 47.7 mmol) gota a gota disuelto en CH₂Cl₂ (50.0 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 6 horas más antes de lavarse con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se filtró. El sólido resultante se purificó usando cromatografía en columna instantánea (EtOAc: hexanos 1:19) para proporcionar 36 (9.02 g, 25.1 mmol, 56%) como un polvo de color amarillo.

20

$R_f = 0.46$ (EtOAc:hexanos 3:17)

mp = 81-83 °C (Lit. 85 °C)⁴⁰

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.98 (s, 3H); 4.08 (s, 3H); 4.92 (s, 2H); 7.56 (m, 2H); 8.08 (m, 2H)



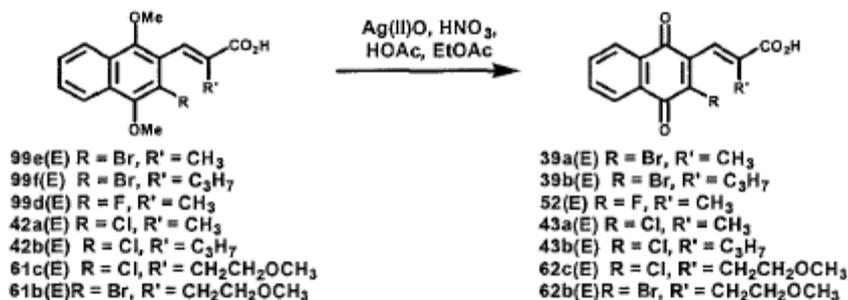
25 2-bromo-1,4-dimetoxi-3-hidroximetilnaftaleno (37):

30 Siguiendo un procedimiento modificado de Smith et al.,²⁵ se disolvió dibromuro 36 (1.73 g, 4.80 mmol) en 1,2-dimetoxietano (50.0 mL), y luego se añadió a CaCO₃ (2.50 g, 25.0 mmol) en H₂O (50.0 mL) a temperatura ambiente. La reacción se calentó a reflujo, durante TIME y luego se enfrió a temperatura ambiente. La reacción se extrajo con EtOAc (75.0 mL) y las capas orgánicas se lavaron con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se filtró. El sólido de color rosa resultante se purificó después mediante cromatografía en columna instantánea (EtOAc: hexanos 1: 3) para proporcionar 37 (1.49 g, 5.01 mmol, 105%) en forma de un sólido de color rosa.

$R_f = 0.26$ (EtOAc:hexanos 1:3)

mp = 93-96 °C (Lit. 116-117 °C)²²

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.97 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 5.01 (s, 2H); 7.55 (m, 2H); 8.09 (m, 2H)



Ácido (*E*)-3-(3-bromo-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico (39a):

5 Siguiendo un procedimiento modificado de Shinkawa et al. y Flader et al.,^{16,22} se disolvió el ácido 99e (0.291 g, 0.829 mmol) en acetato de etilo (10.0 mL) a temperatura ambiente, luego se añadieron HNO₃ (1.0 mL) y AcOH (6 gotas) a temperatura ambiente. Se añadió entonces óxido de plata (II) (0.379 g, 3.05 mmol) y la reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente, durante 1 hora antes de filtrarse a través de una pipeta Pasteur y un tapón de algodón, lavando el sólido con acetato de etilo y luego lavando la capa orgánica con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite de color amarillo se purificó después ya sea por cromatografía en columna instantánea (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et₂O/hexanos para proporcionar 39a (0.122 g, 0.380 mmol, 46%) como un sólido de color amarillo.

10 Alternativamente, la reacción se puede realizar como una mezcla de isómeros *E* y *Z* bajo las mismas condiciones. Después del tratamiento, la mezcla será el ácido *E* y el éster metílico *Z* de un evento de esterificación intramolecular que tiene lugar con el intermedio de oxonio. La separación mediante cromatografía instantánea (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) fue necesaria para separar los componentes de éster y ácido.

15 R_f = 0.32 (Et₂O:hexanos 1:1 AcOH al 0.5%)

mp = 186-189 °C

análisis elemental: calculado C(52.36%), H(2.28%); encontrado C(52.50%), H(4.01%)

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.85 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 7.33 (m, 1H); 7.91 (m, 2H); 8.14 (m, 2H)

Ácido (*E*)-3-(3-bromo-1,4-naftoquinon-2-il)-2-propilpropenoico (39b):

20 El compuesto 39b se preparó a partir de 99f (0.078 g, 0.21 mmol) como se describió anteriormente para 39a para dar 0.033 g (0.10 mmol, 46%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (3:7 acetona:hexanos AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

R_f = 0.22 (3:7 acetona:hexanos AcOH al 0.5%)

mp = 145 °C d

25 ¹H RMN (CDCl₃): δ 0.81 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.48 (m, 2H); 2.18 (dd, 1H, J = 7.5, 9.3 Hz); 7.29 (s, 1H); 7.79 (m, 2H); 8.13 (m, 1H); 8.20 (m, 1H)

Ácido (*E*)-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico (43a):

30 El compuesto 43a se preparó a partir de 42a (0.872 g, 2.84 mmol) como se describió anteriormente para 39a para dar 0.121 g (0.437 mmol, 16%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos. (0.121 g de *E*; 0.115 g de éster metílico de *Z*)

R_f = 0.44 (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 229-230 °C

análisis elemental: calculado C(60.78%), H(3.28%); encontrado C(60.48%), H(3.40%)

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.87 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 7.45 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.79 (m, 2H); 8.13 (m, 1H); 8.19 (m, 1H)

35 Ácido (*E*)-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-propilpropenoico (43b):

El compuesto 43b se preparó a partir de 42b (0.053 g, 0.16 mmol) como se describió anteriormente para 39a para dar 0.016 g (0.05 mmol, 33%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.47$ (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 164 °C d

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 0.81 (t, 3H, J = 7.5 Hz); 1.50 (m, 2H); 2.19 (t, 2H, J = 7.5 Hz); 7.36 (s, 1H); 7.79 (m, 2H); 8.14 (m, 1H); 8.20 (m, 1H)

5 Ácido (*E*)-3-(3-fluoro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico (52):

El compuesto 52 se preparó a partir de 99d (0.097 g, 0.33 mmol) como se describió anteriormente para 39a para dar 0.020 g (0.08 mmol, 23%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 3:17 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et_2O /hexanos. (0.020 g de E; 0.015 g de material de partida de E; 0.023 g de éster metílico de Z)

10 $R_f = 0.08$ (EtOAc:hexanos 1:4 0.5 % AcOH)

mp = 185-190 °C d

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.94 (d, 3H, J = 3.9 Hz); 7.45 (s, 1H); 7.80 (m, 2H); 8.15 (m, 2H)

$^1\text{H RMN}$ (DMSO): δ 1.83 (d, 3H, J = 3.9 Hz); 7.15 (s, 1H); 7.91 (m, 2H); 8.06 (m, 2H)

$^{19}\text{F RMN}$ (CDCl_3): δ -109.67 (s, 1F)

15 Ácido (*E*)-3-(3-bromo-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metoxietilpropenoico (62b):

El compuesto 62b se preparó a partir de 61b (0.060 g, 0.15 mmol) como se describió anteriormente para 39a para dar 0.029 g (0.08 mmol, 53%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et_2O /hexanos.

$R_f = 0.45$ (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

20 mp = 168-172 °C

análisis elemental: calculado C(52.62%), H(3.59%); encontrado C(53.57%), H(3.59%)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 2.52 (t, 2H, J = 6.6 Hz); 3.18 (s, 3H); 3.46 (t, 2H, J = 6.6 Hz); 7.41 (s, 1H); 7.78 (m, 2H); 8.12 (m, 1H); 8.19 (m, 1H)

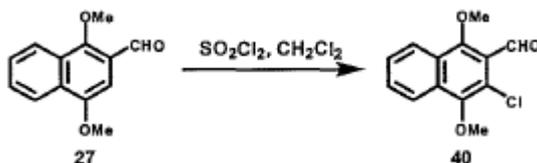
Ácido (*E*)-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metoxietilpropenoico (62c):

25 El compuesto 62c se preparó a partir de 61c (0.067 g, 0.19 mmol) como se describió anteriormente para 39a para dar 0.032 g (0.10 mmol, 53%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et_2O /hexanos.

$R_f = 0.48$ (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 160 °C d

30 $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 2.52 (t, 2H, J = 6.3 Hz); 3.17 (s, 3H); 3.45 (t, 2H, J = 6.3 Hz); 7.47 (s, 1H); 7.78 (m, 2H); 8.12 (m, 1H); 8.18 (m, 1H)



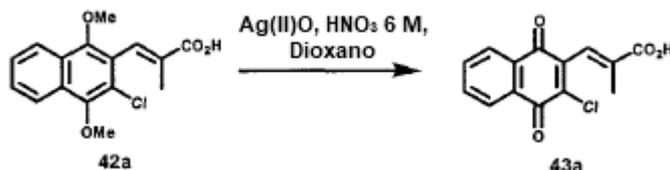
3-Cloro-1,4-dimetoxi-2-naftaldehído (40):

35 Después de un procedimiento de cloración aromática general por Lopez-Alvarado³⁹, se disolvió el aldehído 27 (2.12 g, 9.81 mmol) en CH_2Cl_2 (15.0 mL) a temperatura ambiente en un matraz de fondo redondo de 50 mL secado a la llama bajo argón y un tubo de secado. Se añadió SO_2Cl_2 puro (0.92 mL, 11 mmol) a temperatura ambiente y se eliminó la línea de Argón. Después de 20 h, la reacción se completó mediante RMN, y la reacción se diluyó con CH_2Cl_2 (50.0 mL), se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se filtró. El sólido resultante se purificó por cromatografía instantánea (CH_2Cl_2 : hexanos 1: 1) para proporcionar 40 (1.63 g, 6.52 mmol, 66%) como agujas de color blanco.

$R_f = 0.21$ (CH_2Cl_2 :hexanos 1:1)

mp = 94-96 °C

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 3.99 (s, 3H); 4.05 (s, 3H); 7.64 (m, 2H); 8.17 (dd, 2H, $J = 8.4, 33$ Hz); 10.61 (s, 1H)



5 Ácido (*E*)-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico (43a):

10 Siguiendo un procedimiento modificado por Snyder et al.,³³ se combinaron dimetoxinaftaleno 42a (0.146 g, 0.476 mmol) y Ag(II)O (0.434 g, 3.51 mmol) en un matraz de fondo redondo de 5 mL y se suspendieron en dioxano (1.5 mL). A la suspensión de color negro se le añadió HNO_3 6 M (1.0 mL, 6.0 mmol) a temperatura ambiente. El Ag(II)O negro se disolvió rápidamente con la evolución del gas, dando como resultado un soluto de color amarillo con un precipitado de color amarillo. La reacción se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente y la TLC no mostró material de partida presente. La suspensión se filtró en primer lugar y la torta del filtro se suspendió en CH_2Cl_2 , se trató con agua, se separó, se lavó con salmuera, se secó, se filtró y se condensó. El filtrado de reacción de color amarillo se diluyó igualmente con CH_2Cl_2 , se trató con agua, se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. La torta del filtro proporcionó 43a puro que luego se purificó por recristalización en acetona/hexano (0.0601 g, 0.22 mmol, 47%). El filtrado proporcionó un 43a menos puro que se purificó primero por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos 1: 4 AcOH al 0.5%) y luego se recristalizó en acetona/hexano (0.027 g, 0.099 mmol, 21%).

$R_f = 0.44$ (acetona:hexanos 2:3 AcOH al 0.5%)

mp = 229-230 °C

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.87 (d, 3H, $J = 1.5$ Hz); 7.45 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz); 7.79 (m, 2H); 8.13 (m, 1H); 8.19 (m, 1H)



20

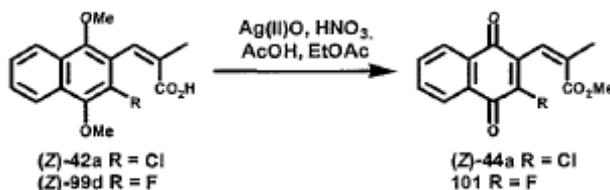
Ácido (*Z*)-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoico ((*Z*)-43a):

25 Se suspendió el éster metílico 44a (0.100 g, 0.344 mmol) en EtOH (3.0 mL), luego se añadió HCl 2 M (10.0 mL) y la reacción se calentó a reflujo, durante 24 h. Después de que la TLC sugirió que se consumió todo el material de partida, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con salmuera y se extrajo dos veces con CH_2Cl_2 . Las fracciones orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se condensaron. El ácido resultante se separó después del material de partida restante mediante cromatografía en columna instantánea (EtOAc:hexanos 1:9 AcOH 0 al 0.5%) para proporcionar (*Z*)-43a (0.046 g, 0.16 mmol, 49%) como un sólido esponjoso de color amarillo que se recristalizó en acetona: hexanos.

$R_f = 0.20$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

30 mp = 166-169 °C

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 2.19 (d, 3H, $J = 1.5$ Hz); 6.58 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz); 7.73 (m, 2H); 8.06 (m, 1H); 8.14 (m, 1H)



(Z)-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoato de metilo ((Z)-44a):

5 Siguiendo un procedimiento modificado de Shinkawa et al. y Flader et al.,^{16,22} se disolvió el ácido (Z) -42a (0.872 g, 2.84 mmol) en acetato de etilo (10 mL) a temperatura ambiente, luego se añadieron HNO₃ (1.0 mL) y AcOH (6 gotas) a temperatura ambiente. Se añadió entonces óxido de plata (II) (2.63 g, 21.2 mmol) en porciones y la reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente, durante 1 hora antes de filtrarse a través de una pipeta tapada con algodón, diluida con acetato de etilo y lavar con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite de color amarillo se purificó después ya sea por cromatografía en columna instantánea (acetona :hexanos 3:17 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et₂O/hexanos para proporcionar (Z) -44a (0.115 g, 0.396 mmol, 14%) como un sólido de color oro oscuro. (0.115 g de éster metílico de Z; 0.121 g de ácido E)

10 Alternativamente, la reacción se puede realizar como una mezcla de isómeros E y Z bajo las mismas condiciones. Después del tratamiento, la mezcla será el ácido E y el éster metílico Z de un evento de esterificación intramolecular que tiene lugar con el intermedio de oxonio. La separación mediante cromatografía instantánea (acetona: hexanos 3:17 AcOH al 0.5%) fue necesaria para separar los componentes de éster y ácido.

R_f = 0.24 (acetona:hexanos 3:17 AcOH al 0.5%)

15 mp = 227 °C d

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.21 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 3.06 (s, 3H); 7.43 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 7.58 (dt, 1H, J = 7.5, 0.6 Hz); 7.77 (dt, 1H, J = 7.5, 1.5 Hz); 7.95 (d, 1H, J = 7.8 Hz); 8.15 (d, 1H, J = 7.5 Hz)

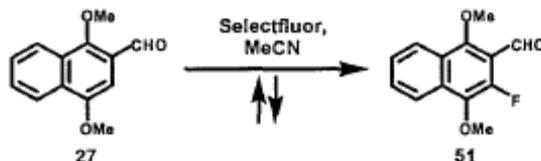
(Z)-3-(3-fluoro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenoato de metilo (101):

20 El compuesto 101 se preparó a partir de (Z)-99d (0.097 g, 0,33 mmol) como se describió anteriormente para (Z)-43a usando óxido de plata (II) (0.309 g, 2.49 mmol) para dar 0.023 g (0.082 mmol, 25%) del producto como un sólido de color oro oscuro después de la cromatografía instantánea (acetona: hexanos 3:17 AcOH al 0.5%) y recristalización en Et₂O/hexanos. (0.0225 g de Z; 0.0201 g de ácido E; 0.0151 g de material de partida E)

R_f = 0.32 (EtOAc:hexanos 1:4 AcOH al 0.5%)

mp = 118 -120 °C

25 ¹H RMN (CDCl₃): δ 2.18 (s, 3H); 3.07 (s, 3H); 7.32 (s, 1H); 7.60 (dt, 1H, J = 7.8, 1.5 Hz); 7.73 (dt, 1H, J = 7.8, 1.5 Hz); 7.94 (dd, 1H, J = 7.8, 1.5 Hz); 8.14 (dd, 1H, J = 7.8, 1.5 Hz)



1,4-Dimetoxi-3 -fluoro-2-naftaldehído (51):

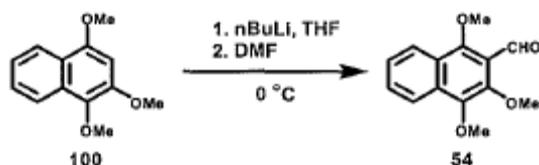
30 Se añadió aldehído 27 (0.517 g, 2.39 mmol) a un matraz de fondo redondo de 50 mL secado a la llama en atmósfera de argón, seguido de Selectfluor (1.25 g, 3.37 mmol) y MeCN (20.0 mL). La reacción luego se calentó a reflujo, durante 8 horas antes de enfriarse y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó 3 veces con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó para proporcionar el aldehído en bruto como un sólido de color amarillo. Después de la cromatografía instantánea (CH₂Cl₂: hexanos 3: 1) se obtuvo aldehído 51 (0.254 g, 1.08 mmol, 45%) como un sólido de color amarillo.

35 R_f = 0.36 (CH₂Cl₂:hexanos 3:1)

mp = 69-71 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 4.07 (s, 3H); 4.09 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 7.54 (t, 1H, J = 7.8 Hz); 7.66 (t, 1H, J = 7.8 Hz); 8.18 (m, 2H); 10.54 (s, 1H)

¹⁹F RMN (CDCl₃): δ -146.26 (s, 1F)



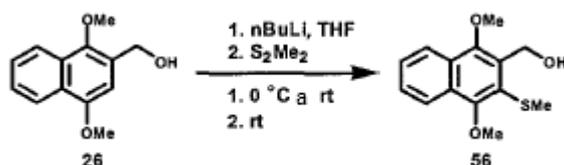
1,3,4-trimetoxi-2-naftaldehído (54):

De acuerdo con el procedimiento de Syper et al.,³⁸ se disolvió 100 (1.07 g, 4.90 mmol) n en THF (20.0 mL) a 0 °C bajo Argón, y luego se añadió nBuLi (1.6 M en hexanos, 4.0 mL, 10.0 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C, durante 5 horas antes de añadir DMF (0.850 mL, 11.0 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó durante otros 30 minutos a temperatura ambiente antes de inactivar con agua. La reacción se diluyó con éter etílico y se lavó con salmuera saturada. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El producto en bruto se usó como una mezcla 5: 1 de producto: material de partida, proporcionando 54 (1.07 g, 4.35 mmol, 89%) como un aceite de color amarillo. Después de la purificación mediante cromatografía en columna (CH₂Cl₂ a EtOAc: CH₂Cl₂ 1: 9) se obtuvo aldehído 54 puro como un sólido de color amarillo.

R_f = 0.25 (EtOAc:hexanos 1:9); 0.20 (CH₂Cl₂)

mp = 43-45 °C (Lit. 53 °C d)³⁸

¹H RMN (CDCl₃): δ 3.99 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 4.03 (s, 3H); 7.55 (m, 2H); 8.15 (dd, 2H, J = 8.4, 21 Hz); 10.57 (s, 1H)



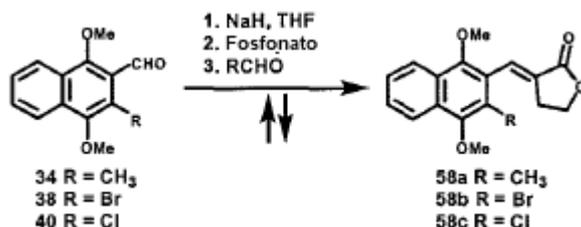
1,4-dimetoxi-2-hidroximetil-3-metilsulfaninaftaleno (56):

Siguiendo el procedimiento de Flader et al.,²² se disolvió alcohol 26 (0.521 g, 2.39 mmol) en THF (9.0 mL) en un matraz de fondo redondo de 25 mL secado a la llama bajo argón, y luego se enfrió a 0 °C. A 0 °C, se añadió lentamente nBuLi (2.5 M en hexanos, 2.4 mL, 6.0 mmol), luego se retiró el baño de hielo y la reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 1 hora. Se añadió dimetildisulfuro (0.50 mL, 5.6 mmol) lentamente a temperatura ambiente y la reacción se agitó durante otros 30 minutos a temperatura ambiente antes de verterse en agua, acidificar con HCl 2 M y extraer con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se filtraron. El sólido resultante se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (EtOAc:hexanos 1:4) para proporcionar 56 (0.446 g, 1.69 mmol, 71%) como un sólido de color verde.

R_f = 0.48 (EtOAc:hexanos 7:13)

mp = 60-62 °C (Lit. Oil)²²

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.51 (s, 3H); 3.97 (s, 3H); 4.01 (s, 3H); 5.05 (s, 2H); 7.53 (m, 2H); 8.09 (m, 2H)



(E)-4'-(1,4-dimetoxi-2-metilnaftalen-2-il)-3-etilidenotetrahidrofuran-2-ona (58a):

De acuerdo con el procedimiento modificado de Murphy et al.,²⁶ se añadió NaH (0.269 g, 6.72 mmol) a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 100 mL secado a la llama conectado a un condensador de reflujo con camisa de agua. El matraz se purgó con argón y se unió un tubo de secado a la parte superior. Se añadió tolueno (10.0 mL) al matraz seguido de fosfonato (1.54 g, 6.95 mmol) disuelto en tolueno (10.0 mL) a temperatura ambiente. La reacción se calentó

a reflujo, durante 30 minutos, y el aldehído (34, 0.486 g, 2.11 mmol) se disolvió en tolueno (10.0 mL) y se añadió lentamente a reflujo. La reacción se calentó durante otras 8 h a reflujo antes de enfriarse a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó, se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó por cromatografía en columna instantánea (EtOAc:hexanos 1:4) y se recrystalizó en Et₂O/hexanos para proporcionar 58a (0.674 g, 2.26 mmol, 107%) como un sólido de color blanco.

$R_f = 0.32$ (EtOAc:hexanos 1:3)

E:Z = 100:0 en tolueno a reflujo

mp = 105-107 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.37 (s, 3H); 2.92 (dt, 2H, J = 7.2, 3 Hz); 3.70 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 4.40 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 7.52 (m, 2H); 7.69 (t, 1H, J = 3Hz); 8.09 (m, 2H)

(*E*)-4'-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-3-etilidenotetrahidrofuran-2-ona (58b):

El compuesto 58b se preparó a partir de 38 (0.588 g, 1.99 mmol) como se describió anteriormente para 58a para dar 0.307 g (0.845 mmol, 42%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 3:17) y recrystalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.09$ (EtOAc:hexanos 1:9)

E:Z = 3:1 en tolueno a reflujo

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.92 (dt, 2H, J = 3, 7.2 Hz); 3.73 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 4.41 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 7.59 (m, 2H); 7.74 (t, 1H, J = 3Hz); 8.12 (m, 2H)

(*E*)-4'-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-3-etilidenotetrahidrofuran-2-ona (58c):

El compuesto 58c se preparó a partir de 40 (0.484 g, 1.94 mmol) como se describió anteriormente para 58a para dar 0.311 g (0.974 mmol, 51%) del producto como un aceite incoloro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:9). (0.137 g de E; 0.174 g de E/Z)

$R_f = E = 0.13$; Z = 0.07 (3:37 EtOAc:hexanos, desarrollado 4x)

E:Z = 9:1 en tolueno a reflujo.

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.94 (dt, 2H, J = 7.2, 3 Hz); 3.73 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 4.41 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 7.58 (m, 2H); 7.77 (t, 1H, 3 Hz); 8.12 (m, 2H)



(*E*)-3-(1,4-dimetoxi-3-metilnaftalen-2-il)-2-metoxietilpropenoato de metilo (59a):

De acuerdo con un procedimiento modificado por King et al.,²⁷ se añadió 58a (0.243 g, 0.815 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama en atmósfera de argón y se unió un condensador de reflujo con camisa de agua. Después se añadió MeOH anhidro (3.0 mL), seguido de H₂SO₄ (10 gotas) y ortoformiato de trimetilo (0.65 mL, 8.5 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó luego a reflujo durante 12 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera saturada, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El producto en bruto resultante se sometió a cromatografía (EtOAc:hexanos 1: 3) y se recrystalizó en Et₂O/hexanos para proporcionar 59a (0.249 g, 0.723 mmol, 59%) en forma de cristales de color marrón claro.

$R_f = 0.43$ (EtOAc:hexanos 1:3)

mp = 64-65 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.28 (s, 3H); 2.55 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 3.07 (s, 3H); 3.37 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 3.75 (s, 3H); 3.85 (s, 3H); 3.86 (s, 3H); 7.48 (m, 2H); 7.71 (s, 3H); 8.07 (m, 2H)

(*E*)-3-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metoxietilpropenoato de metilo (59b):

El compuesto 59b se preparó a partir de 58b (0.257 g, 0.708 mmol) como se describió anteriormente para 59c para dar 0.291 g (0.711 mmol, 100%) del producto como cristales de marrón claro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3) y recristalización en Et₂O/hexanos.

5 $R_f = 0.42$ (EtOAc:hexanos 1:3)

mp = 66-67 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.57 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 3.12 (s, 3H); 3.39 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 3.77 (s, 3H); 3.86 (s, 3H); 3.97 (s, 3H); 7.42 (m, 2H); 7.65 (s, 1H); 8.10 (m, 2H)

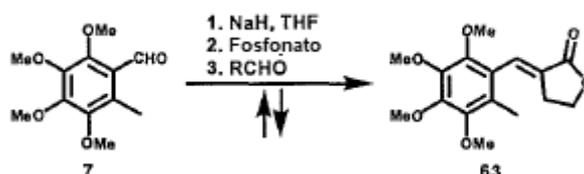
(*E*)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metoxietilpropenoato de metilo (59c):

10 El compuesto 59c se preparó a partir de 58c (0.098 g, 0.30 mmol) como se describió anteriormente para 59a para dar 0.064 g (0.17 mmol, 58%) del producto como cristales de marrón claro después de la cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3) y recristalización en Et₂O/hexanos.

$R_f = 0.44$ (EtOAc:hexanos 1:3)

mp = 61-62 °C

15 ¹H RMN (CDCl₃): δ 2.59 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 3.12 (s, 3H); 3.39 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 3.78 (s, 3H); 3.39 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 7.55 (m, 2H); 7.68 (s, 1H); 8.10 (m, 2H)



(*E*)-4'-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-3-etilidenotetrahidrofuran-2-ona (63):

20 De acuerdo con el procedimiento modificado de Murphy et al., se añadió ²⁶ NaH (0.210 g, 5,25 mmol) a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 100 mL secado a la llama conectado a un condensador de reflujo con camisa de agua. El matraz se purgó con argón y se unió un tubo de secado a la parte superior. Se añadió tolueno (30.0 mL) al matraz seguido de fosfonato (1.83 g, 8.2 mmol) disuelto en tolueno (10.0 mL) a temperatura ambiente. La reacción se calentó a reflujo, durante 30 minutos, y el aldehído (7, 0.501 g, 2.09 mmol) se disolvió en tolueno (5.0 mL) y se añadió lentamente a reflujo. La reacción se calentó durante otras 8 h a reflujo antes de enfriarse a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó, se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (EtOAc: hexanos 1: 3) para proporcionar 63 (0.429 g, 1.39 mmol, 66%) como un sólido de color blanco.

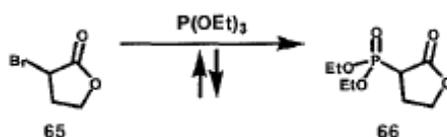
25

$R_f = 0.18$ (EtOAc:hexanos 1:3)

E:Z = 20:1 en tolueno a reflujo.

30 mp = 78-79 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 2.12 (s, 3H); 2.85 (dt, 2H, J = 7.2, 3 Hz); 3.65 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 4.35 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 7.48 (t, 1H, J = 3 Hz)



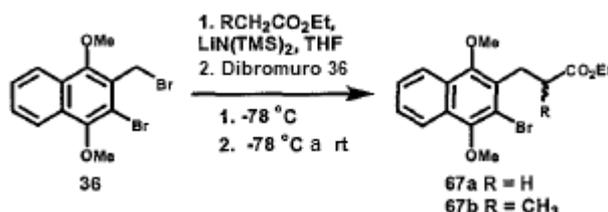
Dietil 3-fosfonotetrahidrofuran-2-ona (66):

35 Después del procedimiento de Murphy et al.²⁶ se añadió α -bromo- γ -butirolactona (65, 3.0 mL, 32.2 mmol) a un matraz de fondo redondo de 25 mL secado a la llama seguido de fosfito de trietilo (6.0 mL, 35 mmol) La mezcla se sometió a reflujo durante 4 horas y luego se eliminó el bromuro de etilo a presión reducida. El aceite resultante se purificó luego por destilación fraccionada a presión reducida para proporcionar 66 (5.16 g, 23.2 mmol, 72%) como un aceite incoloro.

$R_f = 0.26$ (EtOAc:hexanos 1:1)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.31 (dt, 6H, $J = 3, 7.2$ Hz); 2.54 (m, 2H); 3.02 (ddd, 1H, $J = 9.3, 6.3, 23.4$ Hz); 4.15 (m, 4H); 4.28 (m, 1H); 4.39 (m, 1H)

$^{31}\text{P RMN}$ (CDCl_3): δ 24.90 (s)



5

3-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-propionato de etilo (67a):

Después de un procedimiento modificado de Clegg et al.,²⁸ se añadió hexametildisilazida de litio (LiHMDS, 1 M en THF, 1.5 ml, 1.5 mmol) a un matraz de fondo redondo seco a la llama que contenía THF (20.0 mL) a -78 °C. A continuación, se añadió acetato de etilo (0.15 mL, 1.5 mmol) lentamente a -78 °C y se agitó a -78 °C, durante 30 minutos. Después se disolvió 36 (0.415 g, 1.15 mmol) en THF (10.0 mL) y se añadió a -78 °C, en cuyo punto la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó a temperatura ambiente, durante 4 h. La reacción se controló mediante TLC (CH_2Cl_2) para la desaparición del material de partida menos polar. Se añadieron más LiHMDS (2.0 mL, 2.0 mmol) y EtOAc (0.70 mL, 0.70 mmol) y se controló la reacción para la desaparición del material de partida. Cuando no estaba presente material de partida, 10 horas, entonces la reacción se vertió en agua, se extrajo con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El producto se purificó por cromatografía en columna (CH_2Cl_2 a EtOAc: CH_2Cl_2 1:19) para proporcionar 67a (0.361 g, 0.983 mmol, 86%) como un aceite de color amarillo.

$R_f = 0.43$ (CH_2Cl_2)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.26 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 2.62 (m, 2H); 3.29 (m, 2H); 3.91 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 4.17 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz); 7.51 (m, 2H); 8.02 (m, 1H); 8.07 (m, 1H)

20

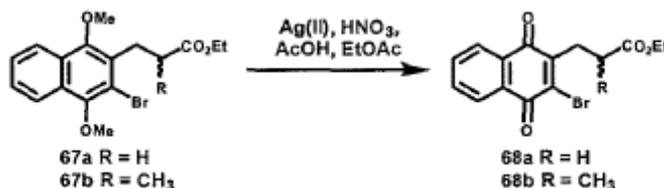
(2R/S)-3-(3-bromo-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropionato de etilo (67b):

El compuesto 67b se preparó a partir de 36 (0.244 g, 0.678 mmol) como se describió anteriormente para 67a para dar 0.258 g (0.678 mmol, 100%) del producto como a EtOAc después de la cromatografía instantánea (CH_2Cl_2 :hexanos 1:1 a 3:1).

$R_f = 0.39$ (CH_2Cl_2 :hexanos 3:1)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.15 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.14 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 2.92 (m, 1H); 3.12 (dd, 1H, $J = 8.7, 13.2$ Hz); 3.32 (dd, 1H, $J = 6.3, 13.2$ Hz); 3.87 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 4.09 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz); 7.51 (m, 2H); 8.02 (m, 1H); 8.07 (m, 1H)

25



(3-bromo-1,4-naftoquinon-2-il)-propionato de etilo (68a):

Siguiendo los procedimientos generales de Shinkawa et al. y Flader et al.,^{16, 22} se disolvió 67a (0.361 g, 0.983 mmol) en EtOAc (10.0 mL) y luego se añadieron AcOH (6 gotas) y HNO_3 (1.0 mL) a temperatura ambiente. Luego se añadió Ag(II)O (0.473 g, 3.82 mmol) en una porción a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente, la reacción se controló mediante TLC (acetona: hexanos 1: 4). Después de 30 minutos, se requirió otra adición de Ag(II)O (0.147 g, 1.19 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente, durante otros 30 minutos. La TLC mostró que la reacción se completó, y el solvente se separó del sólido de plata pasando la reacción a través de una pipeta con un tapón de algodón, el sólido se aclaró con EtOAc (4 x 5.0 mL) y luego la solución se diluyó con EtOAc (50.0 mL). La solución se lavó luego 2 veces con salmuera saturada, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El sólido de color amarillo en bruto se recrystalizó en acetona/hexano para proporcionar 68a (0.135 g, 0.400 mmol, 41%) como un sólido de color amarillo.

35

$R_f = 0.44$ (acetona:hexanos 1:4)

mp = 78-79 °C

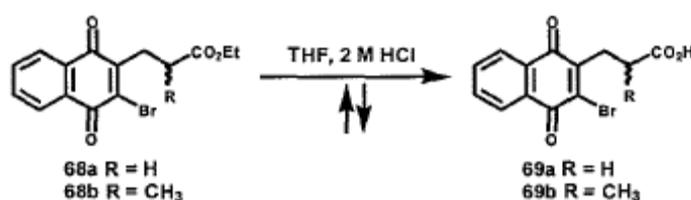
$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.23 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 2.59 (t, 2H, $J = 7.8$ Hz); 3.16 (t, 2H, $J = 7.8$ Hz); 4.12 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz); 7.74 (m, 2H); 8.13 (m, 2H)

5 (2*R/S*)-3-(3-bromo-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropionato de etilo (68b):

El compuesto 68b se preparó a partir de 67b (0.258 g, 0.678 mmol) como se describió anteriormente para 68a para dar 0.064 g (0.18 mmol, 27%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (CH_2Cl_2 :hexano 3:1).

$R_f = 0.26$ (CH_2Cl_2 :hexanos 3:1)

10 $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.12 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.24 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz); 2.94 (m, 2H); 3.23 (dd, 1H, $J = 12.0, 7.5$); 4.05 (m, 2H); 7.74 (m, 2H); 8.10 (m, 1H); 8.15 (m, 1H)



Ácido 3-(3-Bromo-1,4-naftoquinon-2-il)-propiónico (69a):

15 Se disolvió el éster 68a (0.108, 0.320 mmol) en THF (5.0 mL) a temperatura ambiente y luego se añadió HCl 2 M (4.0 mL) a temperatura ambiente. La solución homogénea se agitó luego vigorosamente y se calentó a reflujo, durante 24 h, o hasta que no se observó material de partida por TLC (EtOAc:hexanos 1:4). A continuación, la reacción se enfrió y se diluyó con EtOAc (30.0 mL), luego se lavó 2 veces con salmuera saturada, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. Si todavía estaba presente algún éster de material de partida, el aceite de color amarillo resultante se purificó primero por cromatografía en columna instantánea (acetona:hexanos 1:4 AcOH 0 al 0.5%) seguido de recristalización en Et_2O /hexanos para proporcionar 69a (0.077 g, 0.25 mmol, 78 %) como finas agujas de color amarillo.

$R_f = 0.14$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

mp = 156-157 °C

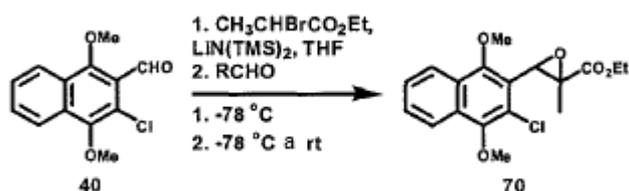
$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 2.65 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz); 3.15 (m, 2H); 7.74 (m, 2H); 8.13 (m, 2H)

Ácido (2*R/S*)-3-(3-bromo-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropionico (69b):

25 El compuesto 69b se preparó a partir de 68b racémico (0.027 g, 0.08 mmol) como se describió anteriormente para 69a para dar 0.016 g (0.05 mmol, 63%) del producto como un sólido de color amarillo después de la cromatografía instantánea (acetona:hexanos 1:4 AcOH 0 al 0.5%) y recristalización en Et_2O /hexanos.

$R_f = 0.10$ (acetona:hexanos 1:4 AcOH al 0.5%)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.26 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz); 3.00 (m, 2H); 3.25 (m, 1H); 7.74 (m, 2H); 8.10 (m, 1H); 8.14 (m, 1H)



30

3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-epoxi-2-metilpropionato de etilo (70):

Siguiendo un procedimiento modificado de Clegg et al.,²⁸ se añadió hexametildisilazida de litio (LiHMDS , 1 M en THF, 3.1 mL, 3.1 mmol) a un matraz de fondo redondo secado a la llama que contenía THF (2.0 mL) a -78 °C. Luego se añadió 2-bromopropionato de etilo (0.28 mL, 2.1 mmol) lentamente a -78 °C y se agitó a -78 °C, durante 30 minutos.

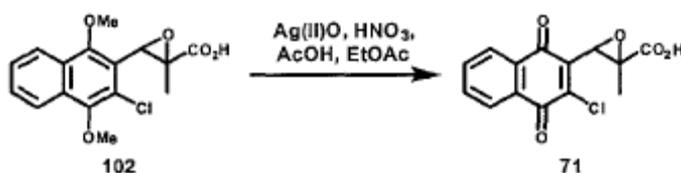
Luego se disolvió 40 (0.518 g, 2.07 mmol) en THF (1.0 mL) y se añadió a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, en cuyo punto la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó a temperatura ambiente, durante 4 h. La reacción se vertió en agua, se extrajo con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El producto se purificó por cromatografía en columna (EtOAc: hexanos 1: 9) para proporcionar una mezcla racémica de 4 diastereómeros de 70 (0.646 g, 1.84 mmol, 89%) como un aceite de color amarillo.

R_f = 0.12 (EtOAc:hexanos 1:9)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ

Par de enantiómeros 1: 1.27 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.83 (s, 3H); 3.94 (s, 3H); 4.04 (s, 3H); 4.14 (s, 1H); 4.19 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 7.56 (m, 2H); 8.11 (m, 2H)

Par de enantiómeros 2: 1.35 (t, 3 H, J = 7.2 Hz); 1.93 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 4.32 (q, 2H, J = 7.2 Hz); 4.43 (s, 1H); 7.56 (m, 2H); 8.11 (m, 2H)



Ácido 3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-epoxi-2-metilpropionico (71):

Siguiendo un procedimiento modificado de Shinkawa et al. y Flader et al.,^{16,22} se disolvió la mezcla 102 de ácido racémico (0.180 g, 0.558 mmol) en acetato de etilo (10.0 mL) a temperatura ambiente, luego se añadieron HNO_3 (1.0 mL) y AcOH (5 gotas) a temperatura ambiente. A continuación, se añadió entonces óxido de plata (II) (0.883 g, 7.13 mmol) y la reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente, durante 1 hora antes de filtrarse a través de una pipeta con algodón, se lavó el sólido con acetato de etilo y luego se lavó la capa orgánica con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El aceite de color amarillo se purificó a continuación mediante cromatografía en columna instantánea (EtOAc: hexanos 1:1 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et_2O /hexanos para proporcionar 71 (0.033 g, 0.11 mmol, 20%) como un sólido de color amarillo.

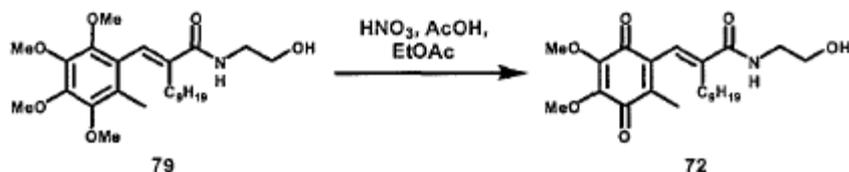
Alternativamente, la reacción se puede realizar como una mezcla de isómeros E y Z en las mismas condiciones. La separación de los isómeros E y Z se puede lograr mediante cromatografía instantánea (Et_2O :hexanos <1:1 AcOH al 0.5%).

R_f = 0.14 (Et_2O :hexanos 1:1 AcOH al 0.5%)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ

Par de enantiómero 1: 2.15 (s, 3H); 4.28 (s, 1H); 7.80 (m, 2H); 8.12 (m, 1H); 8.18 (m, 1H)

Par de enantiómero 2: 1.82 (s, 3H); 3.96 (s, 1H); 7.76 (m, 2H); 8.08 (m, 1H); 8.14 (m, 1H)

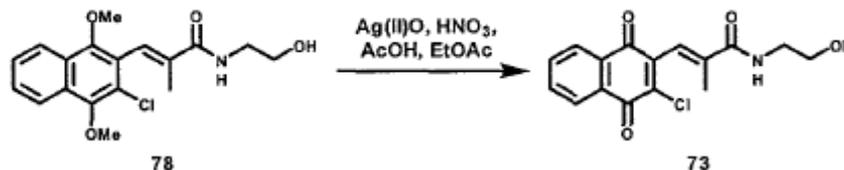


(E)-N-(2-hidroxietil)-3-(3,4-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-nonilpropenamida (72):

Siguiendo un procedimiento modificado de Shinkawa et al.,¹⁶ se añadió la amida 79 (0.088 g, 0.20 mmol) a un matraz de fondo redondo secado a la llama y se disolvió en EtOAc (7.0 mL). Luego se añadieron AcOH (5 gotas) y HNO_3 (0.5 mL) a rt y la reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. El aceite incoloro se disolvió fácilmente en EtOAc y la reacción se volvió de color naranja con la adición de HNO_3 . La reacción se diluyó a continuación con EtOAc (40.0 mL), se lavó 3 veces con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó para proporcionar un aceite de color naranja. A continuación, el aceite se purificó usando cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos 1:2-1:1) y se recristalizó en acetona/hexano para proporcionar 72 (0.037 g, 0.09 mmol, 45%) como un aceite de color rojo.

R_f = 0.24 (EtOAc:hexanos 2:3)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 0.84 (t, 3H, J = 6.6 Hz); 1.17 (m, 12 H); 1.33 (m, 2H); 1.93 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.09 (t, 2H, J = 7.5 Hz); 2.51 (t, 1H, J = 5.1 Hz); 3.52 (q, 2H, J = 4.8 Hz); 3.79 (dd, 2H, J = 4.8 Hz); 3.98 (s, 3H); 4.02 (s, 3H); 6.48 (bs, 1H); 6.53 (s, 1H)



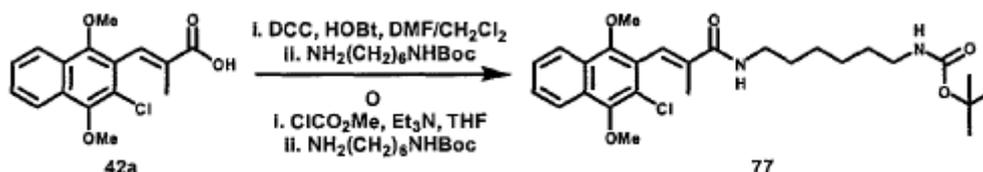
5 (*E*)-*N*-(2-hidroxietil)-3-(3-cloro-1,4-dioxonaftoquinon-2-il)-2-metilpropenamida (73):

Siguiendo un procedimiento modificado de Shinkawa et al. y Flader et al.,^{11,22} se añadió amida 78 (0.050 g, 0.14 mmol) a un matraz de fondo redondo seco a la llama y se disolvió en EtOAc (15.0 mL). Luego se añadieron AcOH (6 gotas) y HNO_3 (1.0 mL) a rt, seguido de Ag(II)O (0.123 g, 0.993 mmol), y la reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. El sólido de color blanco no se disolvió hasta la adición de HNO_3 , y la solución incolora se convirtió inmediatamente en una suspensión de color amarillo/verde después de añadir Ag(II)O . La reacción se controló mediante TLC (EtOAc: hexanos 1: 1), después de 30 minutos la reacción no se completó y se añadió más Ag(II)O (0.145 g, 1.17 mmol) y la reacción se agitó durante 30 minutos adicionales a rt. A continuación, la suspensión se filtró a través de una pipeta Pasteur con un tapón de algodón, y el sólido de plata se aclaró con EtOAc. El filtrado luego se diluyó con EtOAc, se lavó 3 veces con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó para proporcionar un aceite de color amarillo. A continuación, el aceite se purificó usando cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos 2:3) y se recristalizó en acetona/hexano para proporcionar 73 (0.027 g, 0.084 mmol, 60%) como un sólido de color amarillo. Una mezcla de 5.2 mg de material de partida y producto también se coeluyó.

R_f = 0.25 (acetona:hexanos 1:1)

mp = 120 °C d

20 $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 1.87 (s, 3H); 2.51 (bs, 1H, OH); 3.56 (q, 2H, J = 5.1 Hz); 3.81 (m, 2H); 6.46 (bs, 1H, NH); 7.03 (s, 1H); 7.77 (m, 2H); 8.10 (m, 1H); 8.17 (m, 1H)



(*E*)-*N*-(*N'*-tert-butoxicarbonyl-6-aminohexil)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenamida (77):

Método A: se añadió DCC (0.070 g, 0.34 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL seco a la llama en atmósfera de argón, y luego se añadió CH_2Cl_2 (2.0 mL) a rt. En un segundo matraz seco a la llama en atmósfera de argón, se preparó una solución de ácido 42a (0.050 g, 0.16 mmol) y HOBT (0.006 g, 0.04 mmol) usando DMF (3.0 mL) y CH_2Cl_2 (1.0 mL) a rt. La solución de ácido/HOBT se añadió entonces a la solución de DCC a rt y se agitó durante 2 h antes de que la amina (0.060 mL, 0.27 mmol) se añadiera rápidamente a rt. La reacción se agitó durante 12 horas adicionales antes de diluirse con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El sólido de color blanco resultante, una combinación de diciclohexilurea, DCC y producto, se suspendió primero en aproximadamente 5 mL de CH_2Cl_2 . A continuación, la suspensión se filtró a través de una pipeta con un tapón de algodón para eliminar la DCU insoluble, y la pipeta se lavó 2 veces con 2 mL de CH_2Cl_2 . Las fracciones combinadas se purificaron a continuación mediante cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos 2:3) para proporcionar 77 (E: 0.045 g, 0.089 mmol, 55%; Z: 0.020 g, 0.040 mmol, 25%) como un aceite de color amarillo pálido.

Método B: usando un procedimiento de anhídrido mixto modificado por Rajesh et al.,⁴¹ material de partida (42a, 0.020 g, 0.064 mmol) se disolvió en THF (2.0 mL) a rt en un matraz de fondo redondo de 10 mL para producir una solución de color amarillo. Se añadió trietilamina (0.022 mL, 0.16 mmol) a rt y la reacción retuvo el mismo aspecto, luego se añadió cloroformiato de metilo (0.007 mL, 0.09 mmol) rápidamente a rt. La reacción se volvió turbia inmediatamente y procedió a cambiar a una suspensión de color rosa turbia en 15 segundos. Después de agitar durante 2 minutos a temperatura ambiente, se añadió rápidamente *N*-Boc-1,6-diaminohexano (0.030 mL, 0.13 mmol). La reacción perdió inmediatamente el color rosa y se convirtió en una suspensión de color naranja. La TLC (EtOAc: hexanos 2:3) indicó que la reacción se completó en menos de 30 minutos, dando como resultado una formación mínima de productos secundarios. La reacción se diluyó a continuación con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. Se obtuvieron 0.025 g (0.050 mmol, 78%) de *E* 77 puro a partir de cromatografía.

Método C: se añadieron ácido 42a (0.478 g, 0.156 mmol) y PyBOP (0.119 g, 0.229 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama y se purgó con argón. A continuación, se añadió CH₂Cl₂ (4.0 mL) a temperatura ambiente seguido de trietilamina (0.060 mL, 0.43 mmol). La solución transparente/incolora se agitó a temperatura ambiente, durante 1 hora antes de añadir N-Boc-1,6-diaminohexano (0.050 mL, 0.22 mmol) a temperatura ambiente. La solución de color amarillo pálido/transparente se agitó durante 4 horas adicionales a temperatura ambiente antes de diluirse con CH₂Cl₂ (70.0 mL), se lavó 3 veces con NaOH diluido (0.25 M), una vez con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite de color amarillo resultante se purificó después por cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:4) para proporcionar 77 (0.079 g, 0.16 mmol, 100%) como un aceite de color amarillo pálido que comenzó a solidificarse en el congelador.

10 R_f = 0.50 (EtOAc:hexanos 2:3)

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.42 (s/m, 13H); 1.56 (s/m, 3H); 1.84 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 3.11 (q, 2 H, J = 6.0 Hz); 3.39 (q, 2H, J = 6.9 Hz); 3.75 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 4.54 (bs, 1H); 6.06 (bs, 1H); 7.36 (s, 1H); 7.54 (m, 2H); 8.11 (m, 2H)

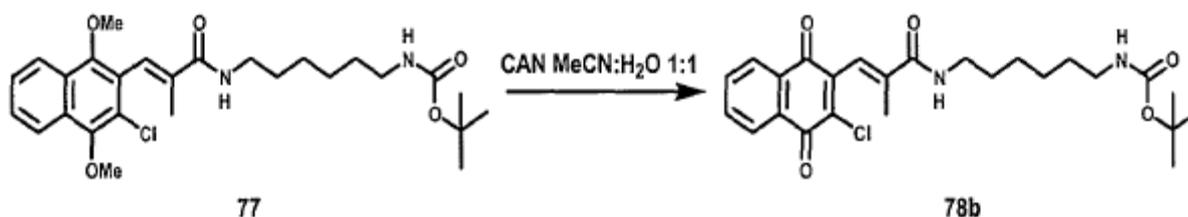
¹³C RMN (CDCl₃): δ 15.1, 26.2, 26.3, 28.4, 29.5, 30.0, 34.0, 39.7, 61.4, 61.8, 85.5, 122.2, 122.9, 123.4, 124.8, 126.7, 127.3, 127.5, 127.7, 128.7, 136.0, 148.6, 150.5, 156.1, 168.3

15 (Z)-N-(N'-tert-butoxicarbonil-6-aminohexil)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenamida (Z-77):

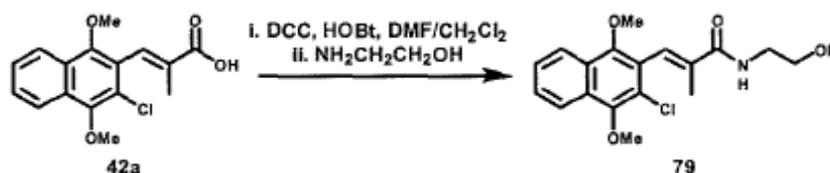
R_f = 0.67 (EtOAc:hexanos 2:3)

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.24 (m, 10H); 1.55 (s/m, 2H); 1.69 (m, 3H); 1.80 (m, 1H); 1.85 (d, 3H, J = 1.5 Hz); 1.98 (m, 3H); 2.40 (q, 2H, J = 10.8 Hz); 3.69 (m, 1H); 3.84 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 4.05 (m, 1H); 6.64 (bs, 1H); 7.55 (m, 2H); 8.12 (m, 2H); 8.29 (d, 1H, J = 6.6 Hz);

20 ¹³C RMN ((CDCl₃): δ 16.5, 24.8, 25.2, 25.6, 26.5, 30.7, 28.5, 49.4, 53.4, 60.0, 61.4, 62.0, 122.1, 122.4, 122.9, 123.3, 123.6, 126.7, 127.4, 127.7, 138.7, 139.0, 148.5, 150.9, 153.9, 175.6



(E)-N-(N'-tert-butoxicarbonil-6-aminohexil)-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenamida (78b)



25 (E)-N-(2-hidroxietil)-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenamida (79):

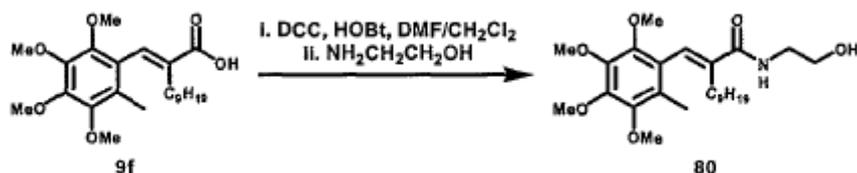
Se añadió DCC (0.135 g, 0.654 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama en atmósfera de argón, y luego se añadió CH₂Cl₂ (2.0 mL) a rt. En un segundo matraz secado a la llama en atmósfera de argón, se preparó una solución de ácido 42a (0.117 g, 0.381 mmol) y HOBT (0.025 g, 0.19 mmol) usando DMF (3.0 mL) y CH₂Cl₂ (1.0 mL) a rt. La solución de ácido/HOBT se añadió entonces a rt y se agitó durante 2 h antes de que se añadiera amina (0.024 mL, 0.40 mmol) rápidamente a rt. La reacción se agitó durante 12 horas adicionales antes de diluirse con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El sólido de color blanco resultante, una combinación de dicitohexilurea, DCC y producto, se suspendió primero en aproximadamente 5 mL de CH₂Cl₂. A continuación, la suspensión se filtró a través de una pipeta con un tapón de algodón para eliminar la DCU insoluble, y la pipeta se lavó 2 veces con 2 mL de CH₂Cl₂. Las fracciones combinadas se purificaron después por cromatografía instantánea (EtOAc: hexanos 2:3) para proporcionar 79 (0.110 g, 0.314 mmol, 83%) como un sólido de color blanco.

R_f = 0.28 (EtOAc:hexanos 1:1)

mp = 165-167 °C

¹H RMN (CDCl₃): δ 1.86 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.68 (bs, 1H, OH); 3.60 (q, 2H, J = 5.4 Hz); 3.75 (s, 3H); 3.84 (t, 2H, J = 4.8 Hz); 3.98 (s, 3H); 6.42 (bs, 1H, NH); 7.43 (s, 1H); 7.55 (m, 2H); 8.10 (m, 2H)

^{13}C RMN (CDCl_3): δ 14.1, 15.0, 29.7, 43.0, 61.4, 61.9, 62.7, 122.2, 122.9, 124.6, 126.7, 127.4, 128.5, 134.3, 135.3, 148.7, 150.5, 169.6



(*E*)-*N*-(2-hidroxietil)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-nonilpropenamida (80):

- 5 Se añadió DCC (0.106 g, 0.514 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama en atmósfera de argón, y luego se añadió CH_2Cl_2 (2.0 mL) a rt. En un segundo matraz secado a la llama en atmósfera de argón, se preparó una solución de ácido 9f (0.167 g, 0.409 mmol) y HOBt (0.008 g, 0.06 mmol) usando DMF (3.0 mL) y CH_2Cl_2 (1.0 mL) a rt. La solución de ácido/HOBt se añadió después a rt y se agitó durante 2 h antes de que se añadiera amina (0.040 mL, 0.66 mmol) rápidamente a rt. La reacción se agitó durante 12 horas adicionales antes de diluirse con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El sólido de color blanco resultante, una combinación de diciclohexilurea, DCC y producto, se suspendió primero en aproximadamente 5 mL de CH_2Cl_2 . A continuación, la suspensión se filtró a través de una pipeta con un tapón de algodón para eliminar la DCU insoluble, y la pipeta se lavó 2 veces con 2 mL de CH_2Cl_2 . Las fracciones combinadas se purificaron después por cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:4) para proporcionar dos compuestos que parecían ser isómeros: (*E*)-80 (0.088 g, 0.20 mmol, 48%, EtOAc: hexanos 2:3 R_f = 0.36) y (*Z*)-80 (0.063 g, 0.14 mmol, 33%, EtOAc: hexanos 2:3 R_f = 0.71, coeluidos con DCC), ambos como aceites incoloros.

R_f = 0.36 (EtOAc:hexanos 2:3)

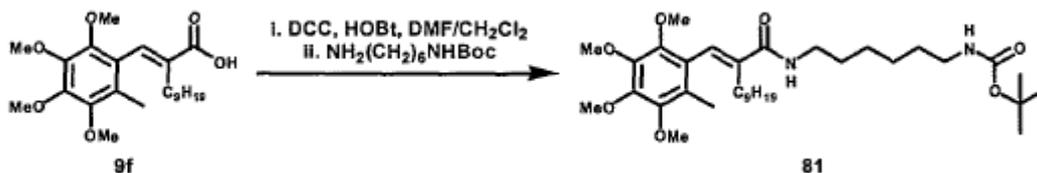
^1H RMN (CDCl_3): δ 0.83 (t, 3H, J = 6.9 Hz); 1.13 (m, 12H); 1.32 (m, 2H); 2.03 (s, 3H); 2.13 (m, 2H); 2.70 (t, 1H, J = 5.1 Hz); 3.55 (m, 2H); 3.69 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.80 (m, 2H); 3.88 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 6.31 (bs, 1H); 6.92 (s, 1H)

- 20 ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 13.0, 14.1, 22.6, 27.8, 28.8, 29.3, 29.5, 29.6, 31.8, 42.8, 60.6, 60.9, 61.1, 61.2, 62.8, 124.9, 125.0, 128.0, 140.3, 144.6, 146.3, 146.8, 147.8, 170.4

(*Z*)-*N*-(2--hidroxietil)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-nonilpropenamida (*Z*-80):

R_f = 0.71 (EtOAc:hexanos 2:3)

- 25 ^1H RMN (CDCl_3): δ REGION INFERIOR ENMASCARADA POR DCC 3.19 (s, 3H); 2.14 (m, 2H); 2.42 (m, 2H); 3.68 (m, 1H); 3.75 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 4.07 (m, 1H); 6.64 (s, 1H); 8.53 (d, 1H, J = 7.2 Hz)



(*E*)-*N*-(*N'*-*tert*-butoxicarbonil-6-aminohexil)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metilpropenamida (81):

- 30 Se preparó 81 a partir de 9f (0.439 g, 1.07 mmol) siguiendo el método A para 88. Los isómeros *E* y *Z* se separaron usando cromatografía instantánea (acetona: hexanos 1: 4). Isómero *E* (0.360 g, 0.059 mmol, 55%); Isómero *Z* (0.379 g, contaminado con DCC).

R_f = 0.61 (EtOAc:hexanos 2:3)

^1H RMN (CDCl_3): δ 0.82 (t, 3H, J = 6.6 Hz); 1.12 (m, 12H); 1.22 (m, 3H); 1.35 (m, 7H); 1.41 (s, 9H); 1.46 (m, 2H); 1.56 (m, 3H); 2.02 (s, 3H); 2.11 (m, 2H); 3.08 (q, 2H, J = 6.0 Hz); 3.33 (q, 2H, J = 6.6 Hz); 3.68 (s, 3H); 3.76 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 4.54 (bs, 1H); 5.92 (bs, 1H); 6.83 (s, 1H)

- 35 ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 13.0; 13.5; 22.6; 26.2; 26.4; 27.8; 28.4; 28.9; 29.3; 29.5; 29.6; 30.0; 31.8; 39.4; 40.3; 53.4; 60.6; 60.8; 61.1; 61.2; 125.1; 126.9; 141.1; 144.6; 146.2; 146.9; 147.8; 156.0; 169.2

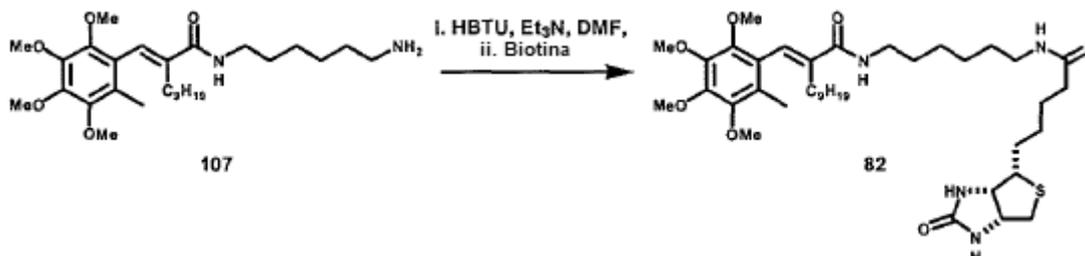
(*Z*)-*N*-(*N'*-*tert*-butoxicarbonil-6-aminohexil)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metilpropenamida (*Z*-81):

R_f = 0.75 (EtOAc:hexanos 2:3)

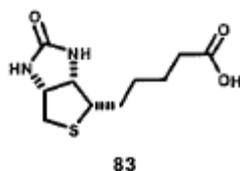
^1H RMN (CDCl_3): δ 0.84 (t, 3H, $J = 6.9$ Hz); 1.38-1.17 (m, 28H); 1.42 (m, 1H); 1.57 (m, 2H); 1.72 (m, 7H); 1.93 (m, 3H); 2.08 (s, 3H); 2.14 (m, 2H); 2.42 (q, 2H, $J = 11.7$ Hz); 3.68 (m, 1H); 3.75 (s, 3H); 3.79 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 4.07 (m, 1H); 6.37 (s, 1H); 8.54 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz);

^{13}C RMN (CDCl_3): δ 13.0; 14.1; 22.6; 24.8; 25.2; 25.7; 26.5; 27.3; 29.3; 29.4; 29.7; 30.4; 30.8; 31.8; 32.9; 49.4; 60.7; 60.9; 61.1; 61.2; 65.0; 123.6; 124.1; 125.2; 142.1; 144.6; 146.4; 147.2; 147.7; 154.1; 176.0

5



(*E*)-*N*-[5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3-oxo-7-tia-2,4-diazabicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanoilamino]hexil-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metilpropenamida (82):

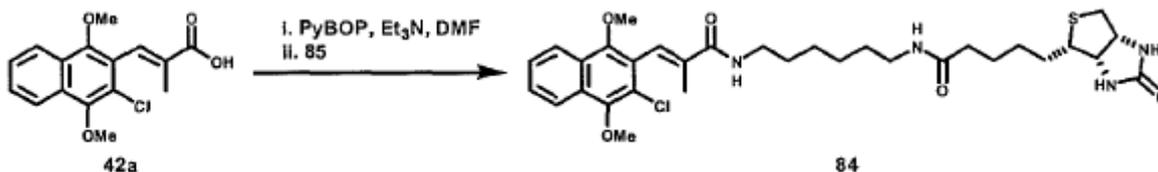


83

10 Ácido 5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3-oxo-7-tia-2,4-diazabicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanoico D-(+)-Biotina (83, Aldrich):

^1H RMN (DMSO): δ 1.32 (m, 2H); 1.49 (m, 2H); 1.60 (m, 2H); 2.19 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz); 2.56 (d, 1H, $J = 12.6$ Hz); 2.81 (dd, 1H, $J = 12.6, 5.1$ Hz); 3.09 (m, 1H); 4.12 (ddd, 1H; $J = 7.5, 4.2, 1.5$ Hz); 4.29 (dd, 1H, $J = 7.5, 5.1$ Hz); 6.35 (s, 1H); 6.42 (s, 1H); 11.93 (bs, 1H)

^{13}C RMN (DMSO): δ 24.5, 28.0, 28.1, 33.48, 40.3, 55.4, 59.2, 61.0, 162.7, 174.4



15

(*E*)-*N*-[5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3-oxo-7-tia-2,4-bicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanoilamino]hexil-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenamida (84):

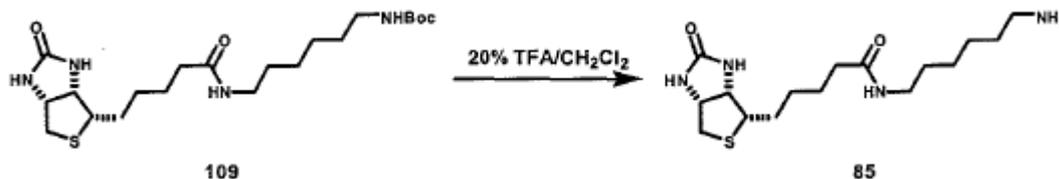
A un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama se le añadieron 42a (0.015 g, 0.049 mmol) y PyBOP (0.031 g, 0.060 mmol), y luego se añadió DMF (2.0 mL) para producir una solución de color amarillo. Se añadió Et_3N (0.020 mL, 0.14 mmol) a temperatura ambiente y la solución permaneció de color amarillo/transparente. Después de agitar a temperatura ambiente, durante 45 minutos, se añadió amina 85 (0.1 M en DMF, 0.60 mL, 0.060 mmol) y la solución adquirió un color dorado más oscuro, pero permaneció transparente. Después de 20 minutos, la TLC ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1: 9) indicó que el material de partida ya no estaba presente y apareció una nueva mancha (R_f 0.29). La reacción se agitó durante 12 horas más antes de que el solvente se eliminara a presión reducida. El aceite de color oro resultante se sometió a cromatografía inmediatamente ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1: 9) para proporcionar dos bandas de color amarillo correspondientes a dos manchas en TLC (R_f 0.39 y 0.29). La RMN de la mancha superior indicó que era potencialmente el éster HOBt del material de partida. La mancha inferior se confirmó por RMN como el producto acoplado, 84. El producto se recolectó como un aceite de color amarillo que se solidificó en el congelador (0.031 g, 0.048 mmol, 99%).

$R_f = 0.29$ ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:9)

30 ^1H RMN (CDCl_3): δ 1.05 (m, 2H); 1.33 (enmascarado por MeOH); 1.49 (m, 3H); 1.61 (m, 6H); 1.82 (s, 6H); 2.20 (m, 2H); 2.72 (bd, 1H, $J = 13.2$ Hz); 2.86 (bd, 1H, $J = 9.3$ Hz); 3.36 (m, 2H); 3.73 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 4.33 (bs, 1H); 4.51 (bs, 1H); 5.28 (m, 0.5H); 5.72 (bs, 0.5H); 6.33 (m, 0.5H); 6.41 (bs, 0.5 H); 7.35 (s, 1H); 7.53 (m, 2H); 8.08 (m, 2H); 8.70 (bs, 0.5H)

^1H RMN ($\text{CD}_3\text{CN}:\text{D}_2\text{O}$ 1:1): δ 1.70 (s, 3H); 2.10 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 2.62 (d, 2 H, $J = 11.1$ Hz); 3.23 (t, 3 H, $J = 7.8$ Hz); 3.69 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 4.42 (m, 3H); 7.20 (s, 1H); 7.59 (m, 2H); 8.07 (m, 2H)

^{13}C RMN (CDCl_3): δ 8.7, 15.0, 25.7, 26.0, 26.2, 27.7, 27.9, 29.1, 29.3, 35.7, 39.1, 39.7, 40.4, 55.4, 60.4, 61.4, 61.9, 62.0, 62.3, 122.1, 122.9, 123.2, 124.7, 126.7, 127.3, 127.6, 127.8, 128.7, 135.8, 148.5, 150.6, 168.6, 173.7, 192.8



5

N-(6-aminohexil)-5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3-oxo-7-tia-2,4-diazabicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanamida (85):

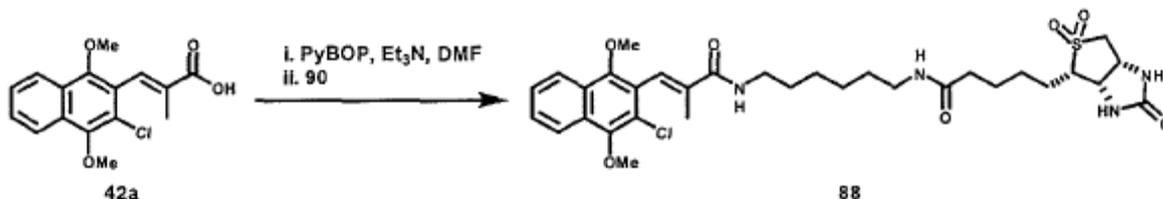
Se disolvió la amina 109 protegida con Boc (0.034 g, 0.08 mmol) en CH_2Cl_2 (2.0 mL) y se añadió TFA (0.4 mL, 5.2 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 20 minutos y luego se controló mediante TLC ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1: 9). Cuando el material de partida ya no se observó por TLC, el $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ se eliminó a presión reducida y el vial se colocó a alto vacío durante 2 horas. El residuo marrón claro se recogió en DMF y se usó sin purificación. 85 se obtuvo cuantitativamente.

10

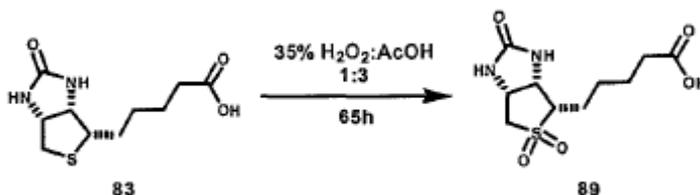
$R_f = 0.00$ ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:9)

^1H RMN (DMSO): δ 1.18-1.65 (m, 14H); 2.03 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz); 2.56 (d, 1H, $J = 12.3$ Hz); 2.76 (m, 2H); 2.81 (dd, 1H, $J = 5.1, 12.6$ Hz); 3.00 (q, 2H, $J = 6.3$ Hz); 3.08 (m, 1H); 4.11 (dd, 1H, $J = 4.5, 7.5$ Hz); 4.30 (dd, 1H, $J = 4.8, 7.5$ Hz); 6.42 (bs, 2H); 7.67 (bs, 1H); 7.75 (t, 1H, $J = 5.1$ Hz)

15



(*E*)-*N*'-[5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3,7,7-trioxo-7-tia-2,4-bicyclo[3.3.0]oct-6-il)propanovlamino]hexil-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenamida (88):



20 Ácido 5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3,7,7-trioxo-7-tia-2,4-diazabicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanoico (89):

Seguendo el procedimiento de Sachon et al., se suspendió 42 D-biotina (83, 0.304 g, 1.24 mmol) en AcOH (3.0 mL) y luego se añadió H_2O_2 (35% en H_2O , 1.0 mL) a temperatura ambiente. La suspensión se convirtió en una solución incolora y transparente después de 10 minutos a temperatura ambiente, y el sulfóxido de biotina comenzó a precipitar después de 5 horas. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 65 horas, luego se filtró. La torta de filtro de color blanco se lavó luego con 20 mL de éter y se secó a presión reducida para proporcionar 89 como un sólido de color blanco (0.298 g, 1.08 mmol, 87%).

25

Insoluble en CH_2Cl_2 , acetona, MeOH, agua.

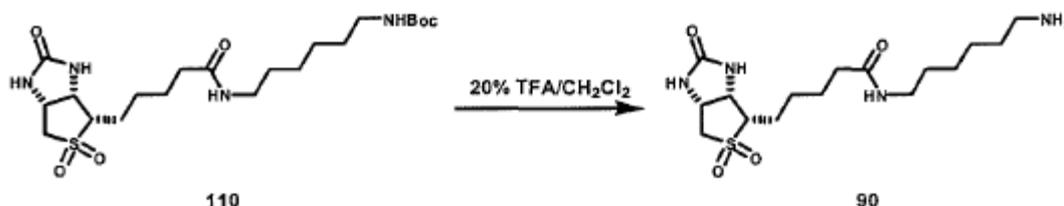
Soluble en DMSO y NaOH ac.

$R_f =$

30 $M_p = 255$ °C d (Lit. >260 °C)⁴²

^1H RMN (DMSO): δ 1.41 (m, 2H); 1.53 (m, 2H); 1.63 (m, 2H); 2.20 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz); 3.01 (d, 1H, $J = 13.8$ Hz); 3.16 (q, 1H, $J = 6.3$ Hz); 3.30 (m, 3H); 4.38 (m, 2H); 6.59 (s, 1H); 6.69 (s, 1H)

^{13}C RMN (DMSO): δ 21.1, 24.4, 25.5, 33.4, 49.0, 53.5, 54.2, 60.2, 161.6, 174.4

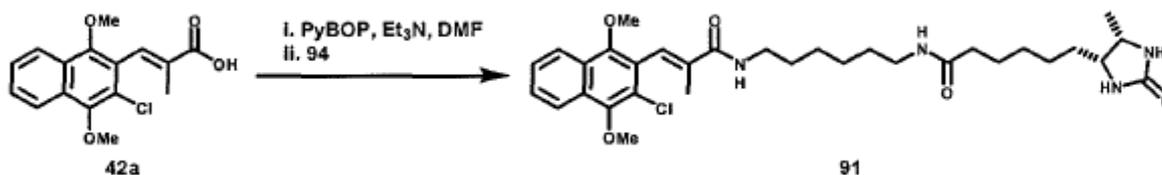


N-(6-aminohexil)-5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3,7,7-trioxo-7-tia-2,4-diazabicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanamida (90):

5 Se añadió sulfonbiotina 110 protegida con N-Boc (0.014 g, 0.03 mmol) a un matraz de fondo redondo de 5 mL secado a la llama y se purgó con argón. El sólido de color blanco se suspendió en CH_2Cl_2 (1.0 mL) y se agitó a temperatura ambiente. Se añadió TFA (0.2 mL) a temperatura ambiente y el sólido de color blanco se disolvió inmediatamente para producir una solución transparente de color melocotón. La solución se agitó a temperatura ambiente, durante 45 minutos adicionales antes de que los solventes se eliminaran a presión reducida para proporcionar el producto como un residuo de color marrón claro. El residuo era insoluble en CH_2Cl_2 , pero soluble en DMF. LA amina 90 se sintetizó cuantitativamente.

R_f = 0.00 (MeOH: CH_2Cl_2 1:9)

^1H RMN (DMSO): δ 1.26 (m, 4H); 1.37 (m, 6H); 1.50 (m, 2H); 1.63 (m, 2H); 2.05 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 2.75 (m, 2H); 2.99 (m, 1H); 3.03 (m, 1H); 3.15 (m, 1H); 3.30 (dd, 1H, J = 6.3, 13.8 Hz); 4.38 (m, 2H); 6.60 (s, 1H); 6.68 (s, 1H); 7.66 (bs, 2H); 7.76 (t, 1H, J = 5.4 Hz)



15

(*E*)-*N*-(*N'*-[6-((4*R*,5*S*)-5-metil-imidazolidin-2-on-6-il)hexanoilamino]hexil-3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-metilpropenamida (91):

20 Se añadieron ácido insaturado 42a (0.033 g, 0.11 mmol) y PyBOP (0.690 g, 0.133 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama y se purgó con argón. A continuación, se añadió CH_2Cl_2 (2.0 mL) dando como resultado una solución de color amarillo, y después se añadió trietilamina (0.040 mL, 0.29 mmol) a temperatura ambiente y la solución de color amarillo se agitó a temperatura ambiente, durante 40 minutos. La amina 94 (0.133 M en DMF/ CH_2Cl_2 1: 5, 1.1 mL, 0.147 mmol) se añadió rápidamente a temperatura ambiente y la reacción se volvió de color naranja. La reacción se agitó durante 17 h adicionales antes de eliminar los solventes a presión reducida dando como resultado un aceite de color rojo que se purificó por cromatografía instantánea (MeOH: CH_2Cl_2 7:93) para proporcionar un aceite de color amarillo que estaba contaminado con hexafluorofosfato de trietilamonio. Para eliminar la sal contaminante, el aceite se disolvió en $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ y se lavó 4 veces con NaOH diluido, luego una vez con salmuera, y se secó sobre Na_2SO_4 . La espuma de color blanco resultante 91 (0.044 g, 0.073 mmol, 68%) estaba libre de sales de amonio.

30 Alternativamente, al finalizar, la reacción se diluye con Et_2O y se lava 3 veces con NaOH diluido (0.1 M), una vez con salmuera saturada, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se condensa a presión reducida. El aceite de color oro resultante se purificó después por cromatografía instantánea (MeOH: CH_2Cl_2 7:93).

R_f = 0.35 (MeOH: CH_2Cl_2 1:9)

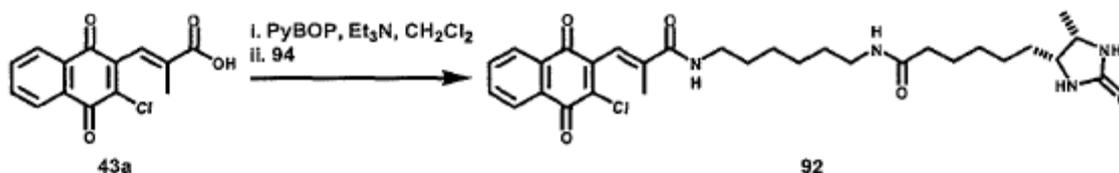
HRMS (ESI) calc. 623.2976 M+Na encontrado 623.2978 M+Na

HPLC (econosphere C8, MeCN:H₂O 40:60) t_r = 28.2 min

Análisis elemental: calculado C(63.93%), H(7.54%), N(9.32%); encontrado C(63.55%), H(7.32%), N(9.06%)

35 ^1H RMN (CDCl_3): δ 1.09 (d, 3H, J = 6.6 Hz); 1.23 (m, 2H); 1.38 (m, 9H); 1.50 (m, 3H); 1.63 (m, 4H); 1.73 (m, 2H); 1.83 (d, 3H, J = 1.2 Hz); 2.16 (t, 2H, J = 7.5 Hz); 3.23 (q, 2H, J = 6.6 Hz); 3.39 (m, 2H); 3.67 (m, 1H); 3.75 (s, 3H); 3.80 (m, 1H); 3.97 (s, 3H); 4.50 (s, 1H); 5.12 (s, 1H); 5.93 (t, 1H, J = 5.4 Hz); 6.21 (t, 1H, J = 5.4 Hz); 7.36 (d, 1H, J = 1.2 Hz); 7.54 (m, 2H); 8.09 (m, 2H)

^{13}C RMN (CDCl_3): δ 15.0, 15.8, 25.4, 26.0, 28.8, 29.5, 30.9, 36.23, 38.9, 39.5, 51.4, 55.9, 61.4, 61.8, 122.2, 122.8, 123.3, 124.7, 126.7, 127.3, 127.5, 127.6, 128.7, 136.0, 148.6, 150.5, 163.3, 168.5, 172.9



5 (*E*)-*N*-(*N'*-[6-((4*R*,5*S*)-5-metil-imidazolidin-2-on-6-il)hexanoilamino]hexil-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenamida (92):

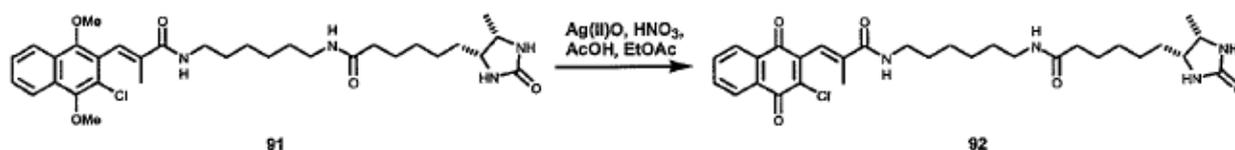
Método A: Se añadieron quinona 43a (0.032 g, 0.11 mmol) y PyBOP (0.084 g, 0.16 mmol) a un matraz de fondo redondo secado a la llama de 10 mL y se purgó con argón. Se añadió CH_2Cl_2 (1.5 mL) a temperatura ambiente dando como resultado una suspensión de color amarillo. La suspensión se clarificó a una solución de color amarillo (a veces una solución de color verde oscuro) tras la adición de Et_3N (0.035 mL, 0.25 mmol) a temperatura ambiente. Se dejó que el ácido se activara durante 10 minutos a temperatura ambiente antes de que se añadiera la amina 94 (0.24 M en DMF, 0.50 mL, 0.12 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente, durante 30 minutos antes de añadirse a una columna y se purificó (CH_2Cl_2 a $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1: 9). 92 (0.052 g, 0.091 mmol, 80%) se recogió como un aceite de color oro oscuro y se determinó puro por RMN.

Método B: a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama se le añadió quinona 43a (9.921 mg, 0.0359 mmol), PyBOP (22.299 mg, 0.0428 mmol) y NaH (4.092 mg, 0.1750 mmol) y el matraz se purgó con argón, durante 10 minutos. Los reactivos sólidos se suspendieron en CH_2Cl_2 (2.0 mL) y luego se añadió DMF lentamente hasta que la suspensión de color amarillo se volvió completamente transparente (0.4 mL). La reacción cambió de dorado/transparente a rojo claro/ transparente en 1 minuto a temperatura ambiente, y después de 10 minutos se añadió una solución de 94 (0.05 M en DMF, 0.68 mL, 0.034 mmol) a la reacción cambiando inmediatamente la reacción a solución de color amarillo/transparente. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente, durante 20 minutos antes de despojar la solución de color amarillo transparente de CH_2Cl_2 a presión reducida y luego se añadió directamente a una columna para purificación (CH_2Cl_2 a $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 3:40)

$R_f = 0.34$ ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:9)

HRMS (MALDI) $\text{C}_{30}\text{H}_{39}^{37}\text{ClN}_4\text{O}_5$ Calc. 573.2657 Encontrado 573.2684

25 HPLC (econosphere C8, $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ 40:60) $r_t = 12.9$ min



(*E*)-*N*-(*N'*-[6-((4*R*,5*S*)-5-metil-imidazolidin-2-on-6-il)hexanoilamino]hexil-3-(3-cloro-1,4-naftoquinon-2-il)-2-metilpropenamida (92):

30 Se combinó dimetoxinaftaleno 91 (0.104 g, 0.172 mmol) con Ag(II)O (1.58 g, 1.28 mmol) en un vial de 4 mL y se suspendió en dioxano (2.0 mL). La suspensión se sonicó hasta que el material de partida se dispersó por completo (2 minutos). Se añadió ácido nítrico (6.0 M, 0.50 mL, 3.0 mmol) a la suspensión de color negro gota a gota a temperatura ambiente y la suspensión se cambió a un solvente de color amarillo con precipitado de color amarillo en menos de un minuto. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 10 minutos antes de añadirse a una columna y se purificó ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 0 a 1:9). Las fracciones que contenían el producto y el intermedio no hidrolizado se combinaron en un embudo de decantación y se lavaron una vez con salmuera. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El producto se recogió como un residuo de color amarillo (0.073 g, 0.13 mmol, 74%).

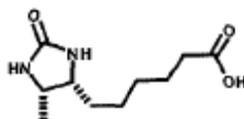
$R_f = 0.34$ ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:9)

HRMS (MALDI) $\text{C}_{30}\text{H}_{39}^{37}\text{ClN}_4\text{O}_5$, Calc. 573.2657 Encontrado 573.2684

HPLC (econosphere C8, $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ 40:60) $r_t = 12.9$ min

40 ^1H RMN (CDCl_3): δ 1.11 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz); 1.24 (m, 4 H); 1.37 (m, 9H); 1.48 (m, 5H); 1.61 (m, 11H); 1.86 (d, 3H, $J = 1.2$ Hz); 2.16 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz); 3.24 (m, 2H); 3.35 (m, 2H); 3.68 (m, 1H); 3.83 (m, 1H); 4.45 (bs, 1H); 4.87 (bs, 1H); 5.74 (bs, 1H); 6.29 (bs, 1H); 6.99 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz); 7.78 (m, 2H); 8.11 (m, 1H); 8.18 (m, 1H)

^{13}C RMN (CDCl_3): δ 16.4, 25.4, 24.8, 26.0, 28.8, 29.3, 36.3, 39.0, 39.6, 51.4, 55.9, 57.8, 124.0, 127.2, 127.4, 131.3, 131.7, 134.3, 134.5, 140.0, 141.9, 142.6, 143.5, 146.3, 163.3, 167.1, 172.9, 177.5, 181.6, 185.4



93

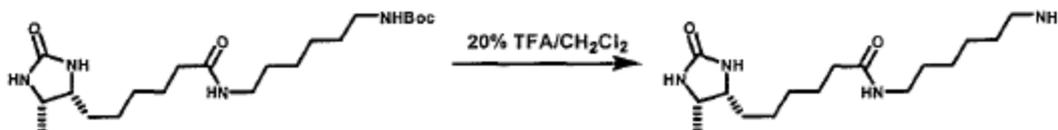
Ácido 6-[(4R,5S)-5-metil-imidazolidin-2-on-4-il]hexanoico (93, Aldrich):

5 Insoluble: CH_2Cl_2 , H_2O , acetona

Soluble: NaOH ac.

^1H RMN (DMSO): δ 0.94 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz); 1.26 (m, 6H); 1.47 (m, 2H); 2.18 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz); 3.47 (m, 1H); 3.59 (m, 1H); 6.10 (s, 1H); 6.30 (s, 1H)

^{13}C RMN (DMSO): δ 15.5, 24.4, 25.5, 28.6, 29.5, 33.6, 50.2, 54.9, 162.8, 174.5



111

94

10

N-(6-aminohexil)-6-[(4R,5S)-5-metil-imidazolidin-2-on-4-il]hexanamida (94):

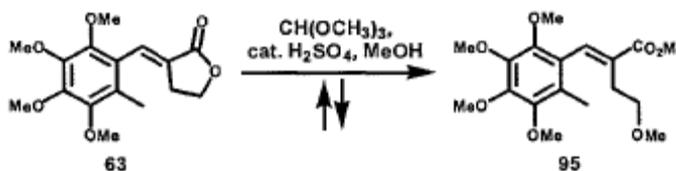
Se añadió reactivo de destiobiotinilación N-Boc protegido 111 (0.082 g, 0.20 mmol) a un vial cónico de 5 mL secado a la llama y se purgó con argón antes de añadir CH_2Cl_2 (1.0 mL). El material de partida se disolvió en aproximadamente 2 minutos a temperatura ambiente para proporcionar una solución incolora y transparente. Se añadió TFA (0.2 mL) a temperatura ambiente y la reacción se volvió opaca, de color amarillo pálido. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 45 minutos adicionales antes de eliminar el solvente a presión reducida para proporcionar el producto como un aceite de color marrón claro. El producto se usó sin purificación adicional. 94 fue sintetizado cuantitativamente. Se añadió 1.0 mL de CH_2Cl_2 al aceite dando como resultado dos capas, y luego se añadieron 0.2 mL de DMF y el aceite se disolvió para formar una solución de color marrón claro pálido.

15

20

^1H RMN (CDCl_3): δ 0.94 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.29 (m, 12 H); 1.48 (m, 5H); 2.02 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz); 2.53 (t, 1H, $J = 5.4$ Hz); 2.74 (m, 2H); 3.00 (m, 2H); 3.46 (m, 1H); 3.60 (m, 1H); 7.76 (m, 4H)

^{13}C RMN (CDCl_3): δ 15.5, 25.3, 25.5, 25.9, 27.0, 28.7, 29.0, 29.5, 34.3, 35.4, 38.3, 50.3, 55.1, 158.2, 158.67, 163.0, 172.0



63

95

25 Metil (*E*)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metoxietilpropenoato (95):

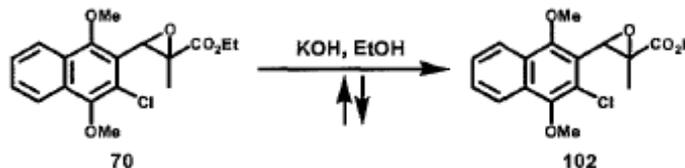
De acuerdo con un procedimiento modificado por King et al.,²⁷ se añadió 63 (0.084 g, 0.27 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama en atmósfera de argón y se unió un condensador de reflujo con camisa de agua. Después se añadió MeOH anhidro (2.0 mL), seguido de H_2SO_4 (4 gotas) y ortoformiato de trimetilo (0.31 mL, 4.0 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó luego a reflujo durante 12 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera saturada, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna instantánea (EtOAc: hexanos 1: 3) para proporcionar 95 (0.073 g, 0.20 mmol, 76%) como un sólido de color amarillo pálido.

30

$R_f = 0.25$ (EtOAc:hexanos 1:3)

mp = 35-37 °C

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 2.02 (s, 3H); 2.47 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz); 3.17 (s, 3H); 3.37 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz); 3.69 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 3.81 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 7.49 (s, 1H)



5 Ácido 3-(3-cloro-1,4-dimetoxinaftalen-2-il)-2-epoxi-2-metilpropionico (102):

Se disolvieron los ésteres de Darzens 70 (0.193 g, 0.550 mmol) en EtOH (10.0 mL) y luego se añadió KOH (0.200 g, 3.56 mmol) a la reacción. La reacción se calentó a ebullición y se agitó a esta temperatura durante 30 minutos. A continuación, la reacción se enfrió, se acidificó y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El ácido resultante se usó después en bruto, o se puede purificar por cromatografía instantánea (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%) o la recristalización en Et_2O /hexanos para proporcionar 102 (0.179 g, 0.555 mmol, 101%) como un aceite de color amarillo compuesto por 4 diastereómeros.

10

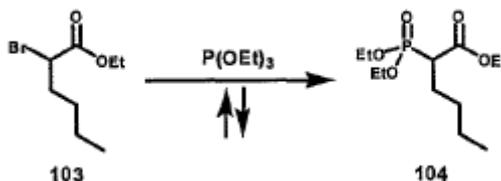
$R_f = 0.07$ (EtOAc:hexanos 1:3 AcOH al 0.5%)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ

Par de enantiómeros 1: 1.87 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 4.47 (s, 1H); 7.57 (m, 2H); 8.11 (m, 2H)

15

Par de enantiómeros 2: 2.03 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 4.04 (s, 3H); 4.35 (s, 1H); 7.57 (m, 2H); 8.11 (m, 2H)



Trietil 2-fosfonohexanoato (104):

Método A: Siguiendo un procedimiento modificado de Kirschleger et al.,⁴³ se añadió NaH (0.762 g, 19.0 mmol) a un matraz de fondo redondo de 250 mL secado a la llama en atmósfera de argón y un tubo de secado. A continuación, se añadió THF (75.0 mL) a temperatura ambiente, seguido de fosonoacetato de trietilo (4.20 mL, 21.0 mmol), añadido gota a gota a temperatura ambiente. Después de 30 minutos a temperatura ambiente, se añadió yodobutano (2.10 mL, 18.4 mmol) rápidamente y la reacción se agitó durante 7 días a temperatura ambiente. La reacción se lavó a continuación con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó a continuación por ya sea cromatografía en columna instantánea (acetona: hexanos 1:3) o por destilación fraccionada a presión reducida para proporcionar 104 (4.29 g, 15.3 mmol, 83%) como un aceite incoloro.

20

25

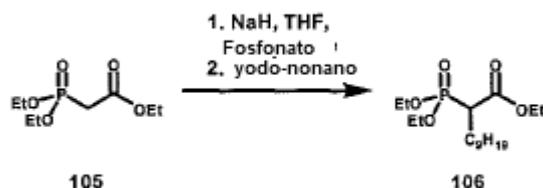
Método B: siguiendo un procedimiento modificado por Murphy et al.,²⁶ se añadió α -bromohexanoato (103, 1 eq) a un matraz de fondo redondo secado a la llama seguido de trietilfosfito (1 eq). La mezcla se sometió a reflujo durante 4 horas y luego se eliminó el bromuro de etilo a presión reducida. El aceite resultante se purificó luego por destilación fraccionada a presión reducida para proporcionar 104 como un aceite incoloro.

30

$R_f = 0.34$ (EtOAc:hexanos 1:3)

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 0.86 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.23 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.28 (m, 12H); 2.89 (dddd, 1H, $J = 33.6, 22.5, 11.1, 3.9$ Hz); 4.09 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz); 4.14 (m, 4H)

$^{31}\text{P RMN}$ (CDCl_3): δ 26.98 (s)



Trietil 2-fosfonoundecanoato (106):

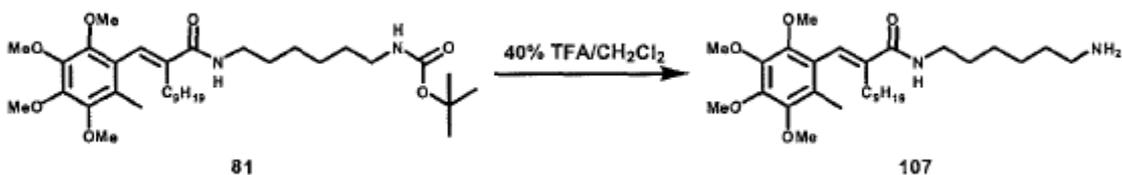
5 Siguiendo un procedimiento ligeramente modificado de Kirschleger et al.⁴³, se añadió NaH (1.00 g, 25.1 mmol) a un matraz de fondo redondo de 250 mL secado a la llama en atmósfera de argón y un tubo de secado. A continuación se añadió THF (100.0 mL) a temperatura ambiente seguido de fosfonoacetato de trietilo (4.0 mL, 20.0 mmol) añadido gota a gota a temperatura ambiente. Después de 30 minutos a temperatura ambiente, se añadió yodonano (4.25 mL, 20.5 mmol) rápidamente y la reacción se agitó durante 7 días a temperatura ambiente. La reacción se lavó a continuación con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite resultante se purificó a continuación por cromatografía en columna instantánea (acetona: hexanos 1: 3) o por destilación fraccionada a presión reducida para proporcionar 106 (4.73 g, 13.5 mmol, 67%) como un aceite incoloro.

10

R_f = 0.30 (1:3 acetona:hexanos)

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.85 (t, 3H, J = 6.6 Hz); 1.26 (m, 23H); 1.81 (bs, 1H); 1.94 (bs, 1H); 2.90 (dddd, 1H, J = 33.6, 22.5, 11.1, 3.3 Hz); 4.15 (m, 6H)

³¹P RMN (CDCl₃): δ 26.87 (s)



15

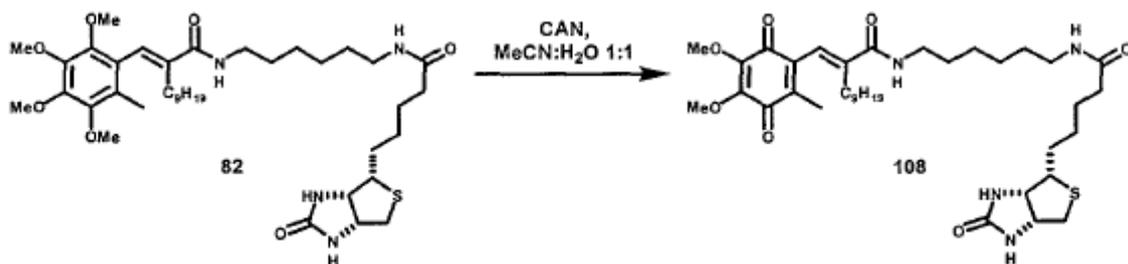
(*E*)-*N*-(6-aminohexil)-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metilpropenamida (107):

Se disolvió la amina 81 protegida con Boc (0.097 g, 0.16 mmol) en CH₂Cl₂ (1.0 mL) y se añadió TFA (0.43 mL, 5.5 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 1 hora y luego se eliminó el TFA/CH₂Cl₂ a presión reducida. El residuo se recogió luego en DMF y se usó sin purificación. 107 fue sintetizado cuantitativamente.

20

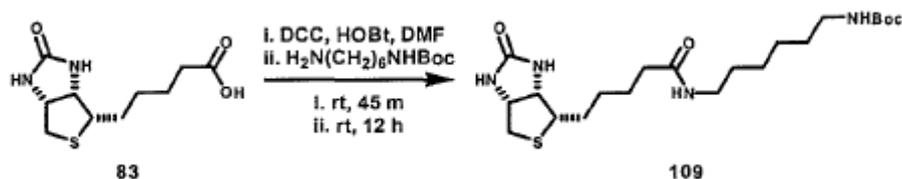
R_f = 0.00 (MeOH:CH₂Cl₂ 1:9)

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.82 (t, 3H, J = 6.9 Hz); 1.11 (m, 12H); 1.23 (m, 3H); 1.39 (m, 4H); 1.56 (m, 2H); 1.68 (m, 3H); 2.01 (s, 3H); 2.09 (m, 2H); 2.96 (m, 2H); 3.30 (q, 2H, J = 6.9 Hz); 3.67 (s, 3H); 3.77 (s, 3H); 3.87 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 6.04 (bs, 1H); 6.84 (s, 1H); 8.11 (bs, 2H)



25

(*E*)-*N*-[5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3-oxo-7-tia-2,4-diazabicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanoilamino]hexil-3-(3,4-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-metilpropenamida (108):



N-(*N*-*tert*-butoxycarbonil-6-aminohehexil)-5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3-oxo-7-tia-2,4-diazabicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanamida (109):

5 Siguiendo un procedimiento significativamente modificado por Sabatino et al.,⁴⁴ se añadieron Biotina (83, 0.527 g, 2.16 mmol) y PyBOP (1.24 g, 2.39 mmol) a un matraz de fondo redondo de 50 mL secado a la llama, al que se le añadió DMF (10.0 mL) a rt. A la suspensión de color blanco se le añadió Et₃N (0.70 mL, 5.0 mmol) a temperatura ambiente y la suspensión se eliminó hasta una solución transparente de color amarillo claro. La reacción se agitó a rt durante 45 minutos antes de añadir la amina (0.55 mL, 2.5 mmol) a rt. La reacción transparente de color amarillo se agitó a rt durante 10 horas y luego el solvente se eliminó a presión reducida. El aceite de color amarillo resultante se suspendió luego en agua (30.0 mL) y se sonicó durante 10 minutos. La suspensión de color blanco se filtró luego para producir una
10 torta de filtro de color marrón claro. La torta del filtro se recogió en acetona hirviendo (200.0 mL) y se recristalizó usando acetona. El polvo de color blanco resultante se recogió por filtración, la RMN mostró 109 puro (0.655 g, 1.48 mmol, 69%).

R_f = 0.24 (MeOH:CH₂Cl₂ 1: 9, tinción de Hanessian)

MP = 163-164 °C (Literatura 174-176 °C)⁴⁴

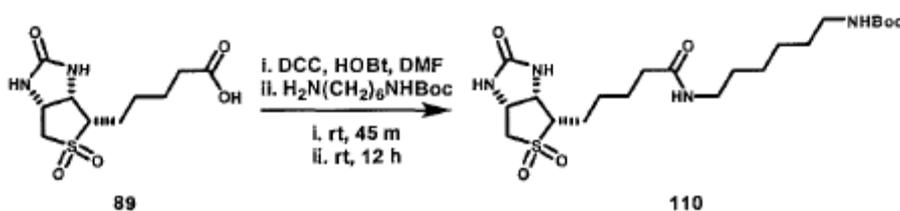
15 ¹H RMN (DMSO): δ 1.10-1.40 (m, 19H); 1.47 (m, 2H); 1.58 (m, 2H); 2.03 (t, 2H, J = 7.5 Hz); 2.79 (d, 1H, J = 5.4 Hz); 2.86 (m, 2H); 2.99 (q, 2H, J = 6.3 Hz); 3.08 (m, 1H); 4.11 (m, 1H); 4.29 (m, 1H); 6.35 (s, 1H); 6.41 (s, 1H); 6.76 (t, 1H, J = 5.1 Hz); 7.71 (t, 1H, J = 5.4 Hz)

20 ¹H RMN (CDCl₃/CD₃OD): δ 1.14 (m, 4H); 1.25 (s, 9H); 1.28 (m, 5H); 1.47 (m, 4H); 2.00 (dt, 2H, J = 7.5 y 1.5 Hz); 2.55 (d, 1H, J = 12.9 Hz); 2.74 (dd, 1H, J = 5.1 y 12.9 Hz); 2.88 (q, 2H, J = 6.6 Hz); 2.99 (q, 3H, J = 5.7 Hz); 4.12 (dd, 1H, J = 8.1, 4.5 Hz); 4.32 (dd, 1H, J = 7.8, 4.8 Hz); 5.20 (bs, 1H); 6.99 (bs, 1H) (2 intercambio de protones)

¹H RMN (CD₃CN:D₂O 1:1): δ 1.21 (m, 4H); 1.26-1.43 (m, 15 H); 1.53 (m, 4H); 2.09 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 2.64 (d, 1H, J = 12.9 Hz); 2.85 (dd, 1H, J = 4.8, 12.9 Hz); 2.92 (m, 2H); 3.04 (t, 2 H, 6.6 Hz); 3.14 (m, 1H); 4.34 (d, 1 H, J = 19.6 ppm); 4.44 (dd, 1H, J = 5.1, 6.6 Hz); 5.90 (bs, 1H); 7.382 (bs, 1H)

25 ¹³C RMN (CDCl₃/CD₃OD): δ 25.3, 25.9, 26.0, 27.8, 28.0, 28.1, 28.8, 29.4, 35.5, 38.9, 40.0, 55.3, 59.9, 61.7, 79.0, 156.6, 163.9, 173.9

¹³C RMN (DMSO): δ 25.3, 26.0, 26.1, 28.0, 28.3, 29.2, 29.5, 30.7, 35.2, 38.3, 55.4, 59.2, 61.0, 77.3, 155.6, 162.7, 171.78



N-(*N*-*tert*-butoxycarbonil-6-aminohehexil)-5-((1*R*,5*S*,6*S*)-3,7,7-trioxo-7-tia-2,4-diazabicyclo[3.3.0]oct-6-il)pentanamida (110):

30 Se añadió biotinsulfona (89, 0.165 g, 0.597 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama seguido de PyBOP (0.395 g, 0.759 mmol). El matraz se purgó con argón y luego se añadió DMF (2.5 mL) dando como resultado una suspensión de color blanco. Luego se añadió trietilamina (0.200 mL, 1.42 mmol) a temperatura ambiente y la solución se volvió transparente e incolora. La reacción se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente antes de que comenzara a formarse un precipitado de color blanco. Se añadió NBoc-1,6-diaminohexano (0.78 M en DMF, 0.90 mL, 0.70 mmol) rápidamente a temperatura ambiente dando como resultado una suspensión de color blanco opaca. La
35 reacción se agitó durante 4 horas adicionales a temperatura ambiente antes de que la suspensión se diluyera con agua (80.0 mL) y se agitara durante 10 minutos antes de que el precipitado de color blanco se recogiera por filtración. El precipitado de color blanco se lavó con NaOH diluido para eliminar la biotinsulfona y luego se lavó con CH₂Cl₂ para eliminar PyBOP, HOBT y Et₃NHCl. El compuesto 110 (0.236 g, 0.497 mmol, 83%) se recogió como un sólido de color blanco y se determinó que era puro por RMN.

40 Insoluble: CH₂Cl₂, acetona, NaOH ac.

Levemente soluble: MeOH, EtOH

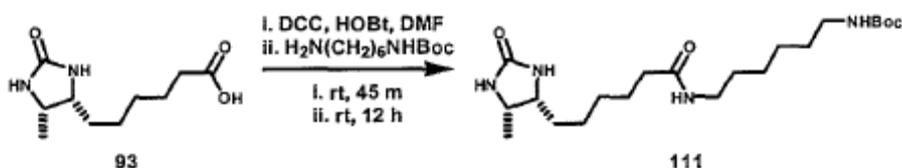
Soluble: DMSO

 $R_f = 0.15$ (MeOH:CH₂Cl₂ 1:9)

MP = 213-215 °C

5 ¹H RMN (DMSO): δ 1.21 (m, 4 H); 1.36 (s, 15H); 1.51 (m, 2H); 1.63 (m, 2H); 2.05 (t, 2H, J = 7.5 Hz); 2.73 (m, 2H); 2.99 (m, 3H); 3.15 (m, 1H); 3.30 (m, 1H); 4.38 (m, 2H); 6.59 (s, 1H); 6.68 (s, 1H); 6.75 (t, 1H, J = 5.4 Hz); 7.73 (t, 1H, J = 5.4 Hz)

¹³C RMN (DMSO): δ 21.1, 25.2, 25.6, 26.0, 26.1, 28.3, 29.1, 29.4, 35.0, 38.3, 48.9, 53.4, 54.2, 60.3, 77.3, 85.1, 155.6, 161.6, 171.7



10 *N*-(*N*-*tert*-butoxicarbonil-6-aminohehexil)-6-[(4*R*,5*S*)-5-metil-imidazolidin-2-on-4-il]hexanamida (111):

Se añadieron destobiotina (93, 0.288 g, 1.34 mmol) y PyBOP (0.792 g, 1.52 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama y se purgaron con argón. A continuación, se añadió DMF (2.5 mL) a temperatura ambiente, produciendo una solución incolora transparente, a la que se añadió trietilamina (0.420 mL, 2.99 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 15 minutos antes de que se añadiera *N*-Boc-1,6-diaminohexano (0.78 M en DMF, 2.0 mL, 1.6 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se convirtió en una solución de color amarillo transparente y se agitó a temperatura ambiente, durante 14 horas antes de eliminar los solventes a presión reducida. El aceite de color amarillo resultante se recogió en CH₂Cl₂ y se lavó con salmuera 4 veces, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite de color amarillo se purificó después ya sea por cromatografía instantánea (MeOH:CH₂Cl₂ 7:93) para producir 111 (0.405 g, 0.982 mmol, 73%) en forma de un sólido de color blanco/espuma. La recristalización se realizó en acetona/hexano para purificar adicionalmente el producto.

15

20

Insoluble: EtOAc, Et₂O, H₂O, NaOH ac.Soluble: acetona, CH₂Cl₂ $R_f = 0.29$ (MeOH:CH₂Cl₂ 1:9)

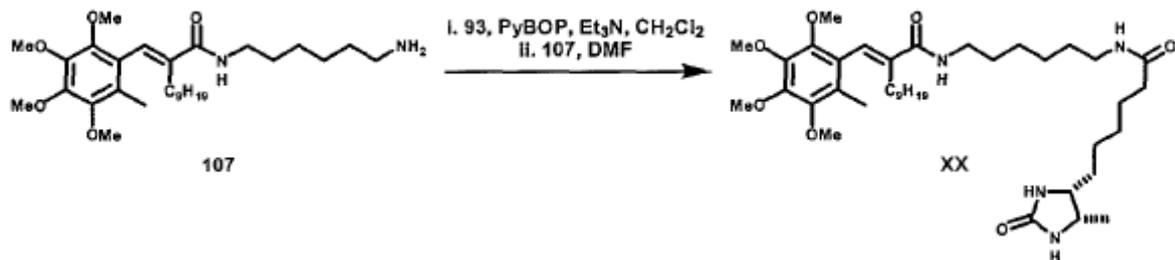
MP = 85-87 °C

25 ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.11 (d, 3H, J = 6.6 Hz); 1.31 (m, 8H); 1.42 (s, 9H); 1.46 (m, 6H); 1.63 (m, 2H); 2.15 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 3.09 (m, 2H); 3.21 (m, 2H); 3.68 (m, 1H); 3.83 (m, 1H); 4.31 (bs, 1H); 4.55 (bs, 1H); 4.65 (bs, 1H); 5.65 (bs, 1H)

¹H RMN (DMSO): δ 0.94 (d, 3H, J = 6.3 Hz); 1.20 (m, 8H); 1.32 (m, 6H); 1.36 (s, 9H); 1.46 (m, 2H); 2.02 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 2.87 (m, 2H); 2.99 (m, 2H); 3.46 (m, 1H); 3.59 (m, 1H); 6.10 (s, 1H); 6.28 (s, 1H); 6.75 (bs, 1H); 7.69 (bs, 1H)

¹³C RMN (CDCl₃): δ 15.8, 25.4, 26.1, 28.4, 28.9, 29.5, 30.0, 36.4, 39.1, 40.2, 51.4, 53.4, 56.0, 79.1, 156.1, 163.2, 172.8

30 ¹³C RMN (DMSO): δ 15.5, 25.2, 25.5, 26.0, 26.1, 28.3, 28.7, 29.1, 29.4, 29.5, 35.2, 38.3, 45.7, 50.2, 54.9, 77.3, 155.6, 162.7, 171.8

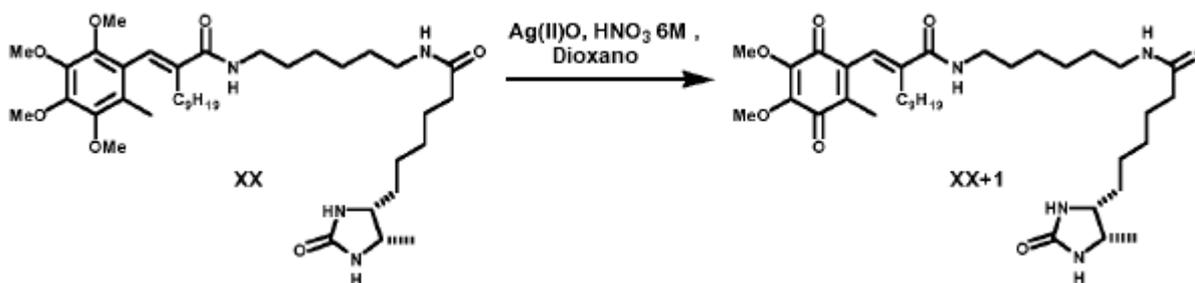


(*E*)-*N*'-[6-((4*R*,5*S*)-5-metil-imidazolidin-2-on-6-il)hexanoilamino]hexil-3-(6-metil-2,3,4,5-tetrametoxifenil)-2-metilpropenamida (XX):

Se añadió destiobiotina (93, 0.066 g, 0.306 mmol) a un matraz de fondo redondo de 10 mL secado a la llama seguido de PyBOP (0.164 g, 0.314 mmol) y se purgó el matraz con argón. Se añadió CH₂Cl₂ (3.0 mL) al matraz formando una suspensión de color blanco, y después se añadió trietilamina (0.10 mL, 0.71 mmol) y la suspensión se aclaró rápidamente a una solución transparente incolora. Después de agitar durante 25 minutos a temperatura ambiente, se añadió una solución de 107 (0.47 M en DMF:CH₂Cl₂ 1:1, 0.60 mL, 0.28 mmol) a temperatura ambiente, el matraz que contenía 107 se aclaró con CH₂Cl₂ (0.5 mL) y se añadió a la reacción. La reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 3 horas antes de diluirse con CH₂Cl₂ (20 mL), se lavó dos veces con NaOH diluido, se lavó una vez con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se condensó. El aceite incoloro se purificó entonces por cromatografía instantánea (CH₂Cl₂ a MeOH:CH₂Cl₂ 3:40) para proporcionar XX (0.115 g, 0.16 mmol, 58%) como un aceite incoloro.

10 R_f = 0.43 (MeOH:CH₂Cl₂ 1:9)

¹H RMN (CDCl₃): δ 0.82 (t, 3H, J = 6.9 Hz); 1.09 (d, 3H, J = 6.3 Hz); 1.12 (m, 12 H); 1.20 (m, 2H); 1.34 (m, 10H); 1.46 (m, 2H); 1.55 (m, 2H); 1.65 (m, 2H); 2.01 (s, 3H); 2.10 (m, 2H); 2.16 (t, 2H, J = 7.2 Hz); 3.20 (m, 2H); 3.33 (m, 2H); 3.65 (m, 1H); 3.68 (s, 3H); 3.76 (s, 3H); 3.81 (m, 1H); 3.86 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 4.81 (s, 1H); 5.49 (s, 1H); 6.14 (bs, 2H); 6.83 (s, 1H)



15

(*E*)-*N*-(*N*'-[6-((4*R*,5*S*)-5-metil-imidazolidin-2-on-6-il)hexanoilamino]hexil-3-(3,4-dimetoxi-2-metil-3,6-dioxociclohexa-1,4-dienil)-2-metilpropenamida (XX+1):

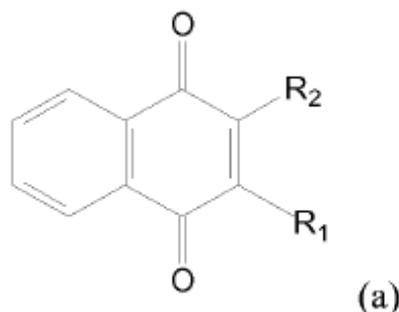
Se disolvió tetrametoxibenceno XX (0.018 g, 0.026 mmol) en dioxano (0.5 mL) en un vial de 4 mL a temperatura ambiente, y luego se añadió Ag(II)O (0.021 g, 0.16 mmol) para formar una suspensión de color negro. A temperatura ambiente, se añadieron lentamente 6 M (0.12 mL, 0.72 mmol) hasta que la reacción se convirtió en una solución de color naranja transparente. La reacción se agitó durante diez minutos a temperatura ambiente, y luego se añadió agua (1.0 mL) para hidrolizar el intermedio formado. Después de agitar durante 5 minutos a temperatura ambiente, la reacción se extrajo tres veces con CH₂Cl₂ (0.4 mL cada vez) y las capas orgánicas de color naranja resultantes se añadieron a una columna y se purificaron (CH₂Cl₂ a MeOH:CH₂Cl₂ 3:40). XX se recogió como un aceite de color oro y se determinó puro por RMN (0.007 g, 0.010 mmol, 37%).

20 R_f = 0.43 (MeOH:CH₂Cl₂ 1:9)

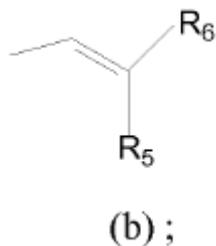
¹H RMN (CDCl₃): δ 0.84 (t, 3H, J = 7.2 Hz); 1.16 (m, 15H); 1.34 (m, 12H); 1.48 (m, 2H); 1.55 (m, 4H); 1.92 (s, 3H); 2.08 (m, 2H); 2.15 (m, 2H); 3.21 (m, 2H); 3.30 (m, 2H); 3.72 (m, 1H); 3.841 (m, 1H); 3.97 (s, 3H); 4.01 (s, 3H); 4.66 (bs, 1H); 5.75 (bs, 1H); 6.25 (bs, 2H); 6.48 (s, 1H)

30 ¹³C RMN (CDCl₃): δ 13.7; 14.1; 22.6; 25.5; 26.1; 27.7; 29.3; 29.4; 31.8; 36.3; 39.0; 39.5; 52.8; 54.0; 56.0; 61.2; 122.5; 137.5; 140.3; 144.2; 144.8; 168.7; 172.9; 183.3; 184.0 XX

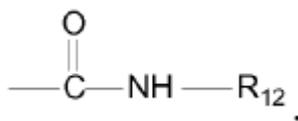
La presente invención se dirige hacia un compuesto de fórmula (a)



en la que R¹ es alquilo C₁-C₆, halo, alcoxi C₁-C₆, o tio(alquilo C₁-C₆); y R₂ es



donde R_5 es hidrógeno o alquilo C_1 - C_9 opcionalmente sustituido; R_6 es $-COOR_{11}$ o



donde R_{11} es hidrógeno o alquilo C_1 - C_6 , y R_{12} es alquilo C_1 - C_6 opcionalmente sustituido, en la que el sustituyente opcional es alcoxi; y sales de los mismos.

El término alquilo C_1 - C_9 se refiere a cadenas hidrocarburo alifáticas lineales y ramificadas sustituidas o no sustituidas, que contienen de 1 a 9 átomos de carbono, que incluyen 1 a 6 átomos de carbono. Por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, i-butilo y t-butilo están englobados por el término alquilo. Específicamente incluidos dentro de la definición de alquilo están aquellas cadenas hidrocarburo alifáticas que están opcionalmente sustituidas. Los sustituyentes opcionales representativos incluyen hidroxilo, aciloxi, alcoxi, amino, amino sustituido con uno o dos grupos alquilo de

1 a 6 átomos de carbono, aminoacilo, acilamino, tioalcoxi desde 1 a 6 átomos de carbono, tioalcoxi sustituido desde 1 a 6 carbonos átomos y trihalometilo. El término alcoxi como se usa en este documento, se refiere al grupo $-OR$ en el que R es un grupo alquilo como se definió anteriormente. Halo se define para incluir flúor, cloro y bromo.

La presente invención también se refiere a los compuestos descritos en este documento para uso en un método de tratamiento de un trastorno en el que el trastorno es un trastorno fisiológico asociado con angiogénesis o cáncer alterados. Como se describe en este documento, los derivados de quinona descritos en este documento son para la administración a un sujeto que lo necesita de una cantidad eficaz.

La presente invención también se dirige a los compuestos descritos en este documento para su uso en un método de tratamiento de un trastorno en el que el trastorno se selecciona de cáncer, enfermedad cardiovascular, enfermedad inflamatoria crónica, artritis reumatoide, retinopatía diabética, maculopatía degenerativa, fibroplasia retrolental, fibrosis pulmonar idiopática, síndrome de dificultad respiratoria aguda en adultos, asma, endometriosis, psoriasis, queloides y esclerosis sistémica.

La inhibición selectiva incluye inhibición específica, o, en otras palabras, donde no hay o ningún efecto apreciable sobre la función BER de APE1/Ref-1, así como donde el efecto predominante está en la función redox, vis-à-vis la función BER. La invención también abarca los derivados de quinona de la invención en combinación con agentes quimioterapéuticos/terapéuticos adicionales para usar en un método de tratamiento de un trastorno. Los otros agentes pueden trabajar en un tema de una manera diferente a la de los derivados de quinona. Tales otros agentes terapéuticos incluyen, bevacizumab, melfalán, gemcitabina, cisplatino, metoxiamina, talidomida y sus derivados, y ácido retinoico, así como otras terapias que incluyen radiación.

Los trastornos fisiológicos asociados con la angiogénesis alterada abarcan aquellos trastornos asociados con la angiogénesis inapropiada, que son directa o indirectamente deletéreos para el sujeto. La angiogénesis alterada contribuye a afecciones patológicas relacionadas, entre otras, con el cáncer (incluidos crecimiento, supervivencia, migración, metástasis y efectos del microambiente), enfermedad cardiovascular, enfermedad inflamatoria crónica, artritis reumatoide, retinopatía diabética, maculopatía degenerativa, fibroplasia retrolental, fibrosis pulmonar idiopática, síndrome agudo de dificultad respiratoria en adultos, asma, endometriosis, psoriasis, queloides y esclerosis sistémica.

La presente invención también se dirige a los compuestos descritos en este documento para usar en un método de tratamiento de un trastorno en el que el trastorno es cáncer seleccionado de tumores de mama, próstata, páncreas, colon, cuello uterino, células germinales, gliomas adultos y pediátricos, osteosarcomas, rabdomiosarcomas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, leucemias y mieloma múltiple.

El término sujeto incluye animales vertebrados, y preferiblemente es un sujeto humano. El término inhibir, y sus derivados, incluye su significado generalmente aceptado, que incluye prohibir, prevenir, restringir y desacelerar, detener o revertir la progresión o la gravedad. De este modo, la presente divulgación incluye tanto la administración terapéutica

- médica como la profiláctica, según sea apropiado. Como tal, un sujeto que lo necesite, en lo que se refiere a los usos terapéuticos en este documento, se identifica para requerir o desear una intervención médica. Una cantidad eficaz es la cantidad de un agente necesaria para inhibir las enfermedades y trastornos patológicos descritos en este documento. Cuando al menos un agente terapéutico adicional es para la administración a un sujeto, tales agentes se pueden administrar de forma secuencial, concurrente o simultánea para obtener los beneficios de los agentes.
- También se describe en este documento, es la capacidad de la invención para proteger células "normales", al mismo tiempo que proporciona un valor terapéutico. Al usar los compuestos de la invención en métodos para tratar trastornos, es posible administrar cantidades más bajas de otros agentes terapéuticos al sujeto, al mismo tiempo que se conservan los mismos resultados. También, al potenciar la apoptosis de las células cancerosas sin una apoptosis concomitante en las células normales, se puede tomar un enfoque terapéutico más específico.
- Los compuestos para uso en los métodos de esta invención pueden formar sales de adición de ácido y base farmacéuticamente aceptables con una amplia variedad de ácidos y bases orgánicos e inorgánicos e incluyen las sales fisiológicamente aceptables que se usan a menudo en química farmacéutica. Tales sales también son parte de esta invención.
- La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los ácidos inorgánicos típicos utilizados para formar tales sales incluyen clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, sulfúrico, fosfórico e hipofosfórico. También se pueden usar sales derivadas de ácidos orgánicos, tales como ácidos alifáticos mono y dicarboxílicos, ácidos alcanólicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxialcanólicos e hidroxialcanoidílicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos. Tales sales farmacéuticamente aceptables incluyen de este modo acetato, fenilacetato, trifluoroacetato, acrilato, ascorbato, benzoato, clorobenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, metilbenzoato, o-acetoxibenzoato, naftaleno-2-benzoato, bromuro, isobutirato, fenilbutirato, B-hidroxibutirato, butino-1,4 dioato, hexino-1,4-dioato, caprato, caprilato, cloruro, cinamato, citrato, formiato, fumarato, glicolato, heptanoato, hipurato, lactato, malato, maleato, hidroximaleato, malonato, mandelato, mesilato, nicotinato, isonicotinato, nitrato, oxalato, ftalato, teraftalato, fosfato, fosfato monohidrógeno, fosfato dihidrógeno, metafosfato, pirofosfato, propiolato, propionato, fenilpropionato, salicilato, sebacato, succinato, suberato, sulfato, bisulfato, piro-sulfato, sulfito, bisulfito, sulfonato, benceno-sulfonato, p-bromofenilsulfonato, clorobencenosulfonato, etanosulfonato, 2-hidroxietanosulfonato, metanosulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, p-toluenosulfonato, xilenosulfonato, y tartrato.
- Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se forman por lo general haciendo reaccionar un compuesto de fórmula I con una cantidad equimolar o en exceso de ácido. Los reactivos se combinan generalmente en un solvente mutuo tal como éter dietílico o benceno. La sal normalmente precipita de la solución en aproximadamente una hora a 10 días y puede aislarse por filtración o el solvente puede eliminarse por medios convencionales.
- Las bases comúnmente usadas para la formación de sales incluyen hidróxido de amonio e hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos de metales alcalinos y alcalinotérreos, así como aminas alifáticas y primarias, secundarias y terciarias, diaminas alifáticas e hidroxilalquilaminas. Las bases especialmente útiles en la preparación de sales de adición incluyen hidróxido de amonio, carbonato de potasio, bicarbonato de sodio, hidróxido de calcio, metilamina, dietilamina, etilendiamina, ciclohexilamina y etanolamina.
- Las sales farmacéuticamente aceptables generalmente tienen características de solubilidad mejoradas en comparación con el compuesto del que se derivan, y de este modo son a menudo más susceptibles de formulación como líquidos o emulsiones.
- Cuando se contemplan las aplicaciones en cuestión, particularmente el uso clínico humano, será necesario preparar composiciones farmacéuticas en una forma apropiada para la aplicación prevista. En general, esto implicará preparar composiciones que están esencialmente libres de impurezas que podrían ser perjudiciales para un sujeto.
- Los agentes pueden ser para administración oral, intravenosa, intramuscular, intrapleural o intraperitoneal en dosis basadas en el peso corporal y el grado de progresión de la enfermedad del sujeto, y se pueden administrar en una, dos o incluso cuatro administraciones diarias.
- Por ejemplo, los compuestos se pueden formular con excipientes, diluyentes o portadores comunes, y formarse en comprimidos, cápsulas, suspensiones y polvos. Los ejemplos de excipientes, diluyentes y portadores que son apropiados para tales formulaciones incluyen los siguientes: cargas y extendedores tales como almidón, azúcares, manitol y derivados silícicos; agentes aglutinantes tales como carboximetilcelulosa y otros derivados de celulosa, alginatos, gelatina y polivinilpirrolidona; agentes humectantes tales como glicerol; agentes disgregantes tales como carbonato de calcio y bicarbonato de sodio; agentes para retardar la disolución tal como parafina; aceleradores de resorción tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes con actividad de superficie tales como alcohol cetílico, monoestearato de glicerol; portadores adsorbentes tales como caolín y bentonita; y lubricantes tales como talco, calcio y estearato de magnesio, y polietil glicoles sólidos.

- En general, se deseará emplear sales y soluciones reguladoras apropiadas para hacer que los agentes sean estables y permitir la absorción por las células diana. Las composiciones acuosas pueden comprender una cantidad eficaz del agente, disuelto o disperso en un portador o medio acuoso farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones también se denominan inocuas. La frase farmacéutica o farmacológicamente aceptable se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen reacciones adversas, alérgicas u otras reacciones adversas cuando se administran a un sujeto. Como se usa en este documento, el portador farmacéuticamente aceptable incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardantes de la absorción e isotónicos. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Los ingredientes activos suplementarios también se pueden incorporar en las composiciones.
- Las composiciones para uso en los métodos para tratar un trastorno de la presente invención pueden incluir preparaciones farmacéuticas clásicas. La administración de estas composiciones de acuerdo con la presente invención será a través de cualquier ruta común siempre que el tejido objetivo esté disponible a través de esa ruta. Esto incluye oral, nasal, bucal, rectal, vaginal o tópica. Alternativamente, la administración puede ser mediante inyección ortotópica, intradérmica, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa. Tales composiciones serían normalmente para administración como composiciones farmacéuticamente aceptables, descritas anteriormente.
- Los compuestos activos también pueden ser para administración por vía parenteral o intraperitoneal. Las soluciones de los compuestos activos como base libre o sales farmacológicamente aceptables se pueden preparar en agua adecuadamente mezclada con un surfactante, tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.
- Las formas farmacéuticas apropiadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista facilidad de inyección. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos, como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas apropiadas de los mismos y aceites vegetales. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de surfactantes. La prevención de la acción de microorganismos puede ser provocada por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y timerosal. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede conseguirse mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.
- Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando los compuestos activos en la cantidad requerida en el solvente apropiado con diversos de los otros ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son técnicas de secado por congelación y secado al vacío que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente esterilizada filtrada de la misma.
- Para administración oral, los compuestos de la presente invención se pueden incorporar con excipientes y usarse en forma de colutorios y dentífricos no ingeribles. Se puede preparar un enjuague bucal que incorpore el ingrediente activo en la cantidad requerida en un solvente apropiado, tal como una solución de borato de sodio (Solución de Dobell). Alternativamente, el ingrediente activo se puede incorporar a un lavado antiséptico que contiene borato de sodio, glicerina y bicarbonato de potasio. El ingrediente activo también se puede dispersar en dentífricos, incluidos geles, pastas, polvos y lechadas. El ingrediente activo se puede añadir en una cantidad terapéuticamente eficaz a un dentífrico de pasta que puede incluir agua, aglutinantes, abrasivos, agentes aromatizantes, agentes espumantes y humectantes.
- Las composiciones para uso en métodos para tratar un trastorno de la presente invención se pueden formular en una forma neutra o de sal, como se describió anteriormente.
- Tras la formulación, las soluciones son para administración de una manera compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad tal que sea terapéuticamente eficaz. Las formulaciones son para administración en una variedad de formas de dosificación tales como soluciones inyectables y cápsulas de liberación de fármacos. Para la administración parenteral en una solución acuosa, por ejemplo, la solución se debe regular adecuadamente si es necesario y el diluyente líquido primero se vuelve isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente apropiadas para la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. En este sentido, los expertos en el arte conocerán medios acuosos estériles que se pueden emplear a la luz de la presente divulgación. Por ejemplo, una dosis se podría disolverse en 1 ml de solución de NaCl isotónica y agregarse a 1000 mL de fluido de hipodermoclasia o inyectarse en el sitio de infusión propuesto (ver, por ejemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15ª Edición, páginas 1035-1038 y 1570-1580). Alguna variación en la

dosificación necesariamente ocurrirá dependiendo de la condición del sujeto que se está tratando. La persona responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la dosis apropiada para el sujeto individual. Además, para la administración humana, las preparaciones deben cumplir con los estándares de esterilidad, seguridad general y pureza según lo exijan la FDA y las agencias de contrapartes extranjeras.

5 Ensayos enzimáticos Redox

10 Siguiendo un procedimiento modificado de Gius et al., se realizaron ensayos EMSA en todos los compuestos para determinar los valores de IC₅₀ redox³⁴. En resumen, la proteína Ape1 purificada (10 mg/mL) se redujo con DTT (1.0 mM) a 37 °C, durante 10 minutos y luego se diluyó con solución reguladora PBS a las concentraciones finales de Ape1 y DTT de 2 mg/mL y 0.2 mM, respectivamente. Se preparó un volumen final de 18 mL de solución reguladora EMSA (Tris 10 mM [pH 7.5], NaCl 50 mM, MgCl₂ 1 mM, EDTA 1 mM, glicerol al 5% [vol/vol]) al que se añadieron dos mL de proteína Ape1 reducida y 6 mg de extractos nucleares oxidados (células Hey-C2, tratadas con diamida 0.01 mM durante 10 min); y la reacción se incubó a temperatura ambiente, durante 30 minutos.

15 Se añadió un mL de poly(dI-dC) · poly(dI-dC) (1 mg/μL, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) durante 5 min seguido de un mL del oligonucleótido bicatenario marcado con 5' hexacloro-fluoresceína fosforamida (HEX), ADN (0.1 pmol, The Midland Certified Reagent Company, Midland, TX) que contiene la secuencia de consenso AP-1 (5'CGCTTGATGACTCAGCCGAA-3'), y la mezcla se incubó adicionalmente durante 30 min. a temperatura ambiente. La concentración final de DTT en las reacciones redox fue de 0.02 mM.

20 Las muestras se cargaron en un gel de poliacrilamida no desnaturante al 5% y se sometieron a electroforesis en solución reguladora TBE 0.5X (200 V durante 1 h a 4 °C) y se detectaron usando el sistema de obtención de imágenes de fluorescencia Hitachi FMBio II (Hitachi Genetic Systems, South San Francisco, CA). El fluoróforo HEX es excitado por un láser de estado sólido a 532 nm (Perkin-Elmer) y emite una señal de luz fluorescente a 560 nm, que luego se mide usando un filtro de 585 nm.

25 Si el compuesto no afecta la función redox de Ape1, AP1 oxidada se reducirá por Ape1 y se unirá al ADN, lo que retardará la migración de ADN. (Figura 10, carril 3) Si el medicamento bloquea la capacidad de Ape1 para reducir AP1, entonces AP1 permanecerá oxidado, no se producirá unión entre AP1 y ADN, y la migración de ADN no se retardará. (Figura 10, carril 1) Un experimento posterior utilizó Ape1 y AP1 oxidada y purificado en lugar de un lisado celular para confirmar una proporción directa entre los inhibidores y la interacción entre Ape1 y AP1.

Ensayos de inhibición del crecimiento

30 También se recogieron datos inhibidores del crecimiento para todos los compuestos probados en el ensayo redox. Siguiendo el procedimiento de Fishel et al., las células se dividieron en alícuotas en placas de 96 pocillos a una concentración de 2-4,000 células/pocillo por triplicado y se dejaron adherir durante la noche. A continuación, las células se trataron con compuesto durante ya sea 24 o 72 h. Se añadió sal de 3-(4-5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio (MTS) a las células después del tratamiento del compuesto y las células se incubaron durante 4 horas adicionales a 37 °C. Después de la incubación con MTS, se midió la absorbancia de las placas a 490 nm. Los valores se estandarizaron para pocillos que contenían solo medio.

40 Los resultados de la serie de benzoquinonas se encuentran en la tabla 1. La serie de benzoquinonas incluía derivados que variaban ya sea en la cadena lateral de olefina adyacente al carbonilo o el sustituyente en 2 del anillo. Las variantes de cadena lateral que incluyen metilo (10b), butilo (10e) y nonilo (1) mostraron valores de IC₅₀ redox en el intervalo de 3-15 μM, teniendo el derivado de metilo la IC₅₀ más baja. Los valores de GI₅₀ para los mismos tres compuestos mostraron una relación inversa con los valores de IC₅₀. El intervalo para GI₅₀ fue de 35-130 μM, donde el derivado de nonilo tuvo la mayor actividad. Una razón fundamental para la relación inversa entre la redox y los datos de inhibición del crecimiento descansa en el transporte de las moléculas de fármaco a través de la célula y las membranas nucleares para interactuar con Ape1. La cadena alifática más larga puede mediar en el transporte a través de las membranas lipófilas, lo que da como resultado una mayor actividad en los ensayos basados en células.

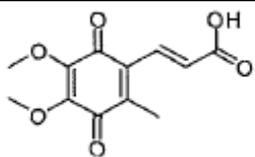
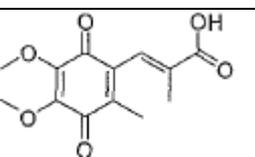
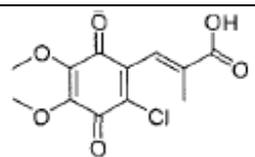
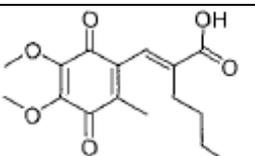
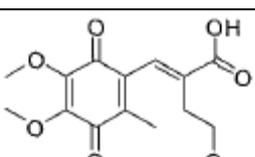
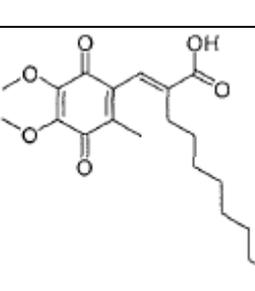
45 La cadena lateral de hidrocarburo también se estudió reemplazando la cadena lateral de butilo con un grupo metoxietilo (67). En ensayos redox, los compuestos mostraron actividad similar, 15 μM para el hidrocarburo y 10 μM para el éter 67. Los datos de inhibición del crecimiento basados en células volvieron a estar en oposición al ensayo redox enzimático, donde el derivado 67 del éter tiene una GI₅₀ de 200 μM y el derivado de butilo 10e tiene un GI₅₀ de 85 μM. Se emprendió una exploración adicional de la cadena lateral usando el derivado 10a no sustituido, donde la cadena lateral se eliminó por completo. Las actividades de inhibición del crecimiento tanto redox como basadas en células disminuyeron con la eliminación de la cadena lateral. La IC₅₀ redox para el derivado no sustituido era 40 μM en comparación con 3 μM para el derivado de metilo sustituido 10b. La inhibición del crecimiento se vio afectada de forma similar, donde la GI₅₀ para la cadena lateral de metilo era 130 μM, el derivado no sustituido tenía una GI₅₀ de 250 μM. El derivado no sustituido muestra la importancia de la cadena lateral para la actividad de retención en la serie de benzoquinonas. Los datos representativos de EMSA se muestran en la figura 10 y la figura 11. En la figura 10, el derivado de nonilo 1 (E3330) se compara con el derivado no sustituido 10a y el derivado de metoxietilo 67. La figura 11 expone dos muestras diferentes de E3330 (1) en comparación con el derivado n-butilo 10e.

5

Se exploró el grupo metilo de la posición 2 del anillo de benzoquinona en E3330 mediante la síntesis del derivado 2-cloro 23. El derivado de cloro con una cadena lateral de metilo tuvo actividad igual que el derivado de 2-metilo 10b en ensayos redox enzimáticos (2.5 y 3.0 μM respectivamente). En ensayos basados en células, el derivado 2-cloro fue superior al derivado de metilo en un factor de 3, donde el 10b sustituido con alquilo tiene una GI_{50} de 130 μM y el derivado halogenado 23 tenía una GI_{50} de 45 μM .

Un avance significativo de la serie de benzoquinonas fue la constatación de que truncar la cadena lateral n-nonilo a un sustituyente metilo no afectaba la inhibición redox, pero la eliminación completa de la cadena lateral tenía efectos negativos. (Tabla 1).

Tabla 1: Derivados de benzoquinona: Variación de cadena lateral y sustitución en la posición 3

Estructura	Nombre	Sustituyente en 3	Cadena lateral	Redox/ μM	Muerte celular/ μM
	10a	Metilo	No sustituida	40	250
	10b	Metilo	Metilo	3	130
	23	Cloro	Metilo	2.5	45
	10e	Metilo	n-Butilo	15	85
	64	Metilo	Metoxietilo	10	200
	1	Metilo	n-Nonilo	10	35

10

Figura 10: datos EMSA para E3330 (1) y derivados 10a (enlace doble no sustituido) y 64 (enlace doble sustituido con metoxietilo). Carriles: 1) Ape1 oxidada, AP1 oxidada, sonda de ADN; 2) DTT 0.02 mM, AP1 oxidada, sonda de ADN; 3-15) Inhibidor (μM), Ape1 reducida, AP1 oxidada, sonda de ADN.

Figura 11: datos de EMSA para E3330 (1) y derivado 10e (olefina sustituida con n-butilo). Carriles: 1) Ape1 oxidada, AP1 oxidada, sonda de ADN; 2) DTT 0.02 mM, AP1 oxidada, sonda de ADN; 3-18) Inhibidor (μM), Ape1 reducida, AP1 oxidada, sonda de ADN.

- 5 Los derivados de naftoquinona mostraron poca variación en la actividad cuando el sustituyente en el enlace doble se cambió de un metilo a un n-butilo o incluso un sustituyente metoxietilo. Los cambios de actividad más significativos provienen de la modificación del sustituyente de la posición 3. Los derivados de 3-metilo, que son estructuralmente más similares a E3330, mostraron la peor inhibición redox de los derivados de naftoquinona a 10-25 μM (Tablas 2 y 3). El derivado 3-no sustituido poseía el potencial de tener un mecanismo de acción alternativo a partir de los derivados sustituidos, donde se puede imaginar la adición a la quinona.
- 10 Los otros derivados de la posición 3 todos tenían valores de IC_{50} redox por debajo de 5 μM , y era difícil discernir entre ellos basándose en la estructura. Una conclusión de los datos es que tener un sustituyente electronegativo en la posición 3 aumenta en gran medida la inhibición redox del compuesto. Los derivados de cloro, bromo, metoxi y metilitio inhibieron la función redox entre 7.5 y 30 veces más que el derivado 3-metilo (Tabla 2). El derivado 3-fluoro todavía inhibía la función redox a 4 μM ; sin embargo, con dicho átomo electronegativo se esperaba que mejorara significativamente los efectos observados en los otros derivados 3-halo. El tamaño del sustituyente en la posición 3 tampoco pareció tener un efecto, cuando los derivados de cloro pequeño y metoxi voluminoso y metilitio eran de actividad casi idéntica.
- 15

Tabla 2: Derivados de naftoquinona: sustitución en la posición 3

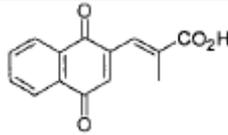
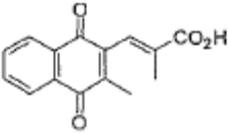
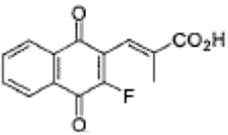
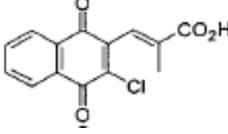
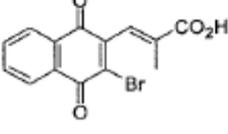
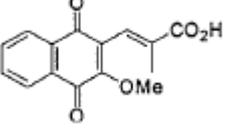
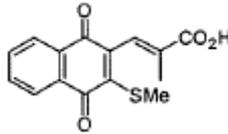
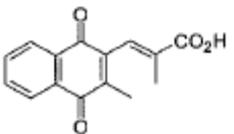
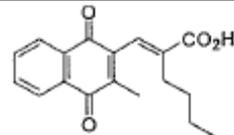
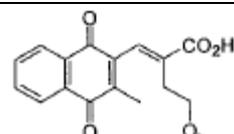
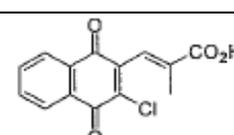
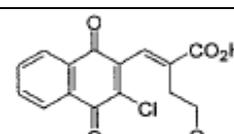
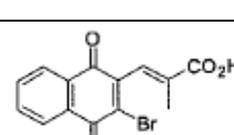
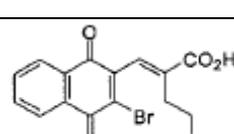
Estructura	Nombre	Sustituyente en 3	Redox/ μM	Muerte celular/ μM
	30a	No sustituido	2.5	20
	35a	Metilo	15	45
	52	Fluoro	4	50
	43a	Cloro	1.0	15
	39a	Bromo	2.0	12.5
	55	Metoxi	0.5	40
	58	Tiometilo	1.0	30

Tabla 3: Derivados de naftoquinona: variación de cadena lateral

Estructura	Nombre	Posición 3	Cadena lateral	Redox/ μM	Muerte celular/ μM
	35a	Metilo	Metilo	15	45
	35b	Metilo	n-Butilo	25	40
	62a	Metilo	Metoxi etilo	10	30
	43a	Cloro	Metilo	1.0	15
	62c	Cloro	Metoxi etilo	3.0	30
	39a	Bromo	Metilo	2.0	12.5
	62b	Bromo	Metoxi etilo	0.5	25

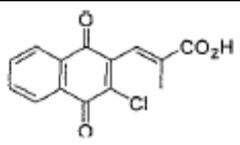
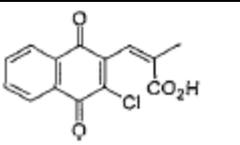
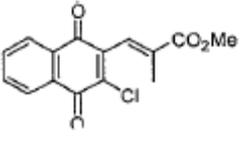
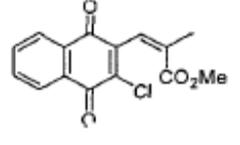
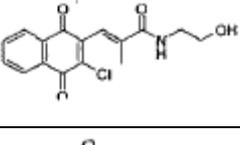
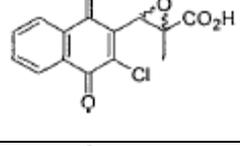
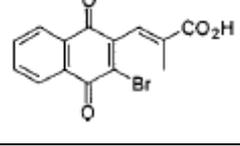
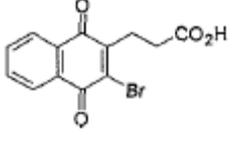
5 Derivados adicionales considerados todos tienen un grado de modificación de la unidad estructural de ácido insaturado (Tabla 4). El enlace doble se modificó primero saturando la olefina para modificar la orientación tridimensional del ácido y el sustituyente alfa. Se probaron dos derivados saturados de 3-bromo 39a, con ya sea no sustitución (69a) o sustitución (69b) de metilo alfa en el carbonilo. Los derivados sustituidos con metilo 69b (R/S) se ensayaron como una mezcla racémica y tuvieron una actividad igual al derivado no sustituido. Con una IC_{50} de $5 \mu\text{M}$ y una GI_{50} de $15 \mu\text{M}$, los derivados saturados no fueron muy diferentes en actividad que el derivado insaturado original 39a ($IC_{50} = 2.0 \mu\text{M}$, $GI_{50} = 12.5 \mu\text{M}$). La olefina también fue epoxidada para mantener una estructura rígida que poseía un nuevo contacto polar y una forma tridimensional diferente. Se analizó una mezcla de cuatro diastereómeros (71a, b) en ensayos enzimáticos y basados en células. La mezcla tenía una IC_{50} de $4.0 \mu\text{M}$ en el ensayo redox y una GI_{50} de $10 \mu\text{M}$ en el ensayo basado en células. El derivado insaturado relacionado 43a tiene una IC_{50} de $1.0 \mu\text{M}$ y una GI_{50} de $15 \mu\text{M}$.

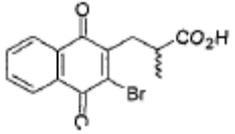
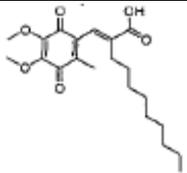
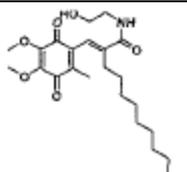
15 Debido a que las mezclas de derivados saturados sustituidos con metilo (69b R/S) eran tan similares en actividad al compuesto individual no sustituido (69a) y al derivado insaturado relacionado (39a), se formuló la hipótesis que no había necesidad de probar los enantiómeros por separado. La mezcla de epóxido (71a/b) tampoco se separó porque la actividad de la mezcla de cuatro componentes era equivalente a la del derivado insaturado 43a.

5

Se sintetizaron derivados de inhibidores con modificaciones de la unidad estructural carboxilo que incluyen ésteres y amidas. El ácido 3-cloro 43a mostró actividad igual al éster metílico (E-44a, $IC_{50} = \mu M$, $GI_{50} = \mu M$) y la hidroxietilamida (76b, $IC_{50} = \mu M$, $GI_{50} = \mu M$). Los derivados de éster posiblemente se podrían hidrolizar en experimentos celulares; sin embargo, las amidas estables proporcionaron evidencia adicional de que el grupo funcional ácido carboxílico puede no jugar un papel en la unión. La derivada más espectacular examinada fue el isómero Z, Z-43a, donde la geometría del enlace doble se invierte. Los experimentos enzimáticos y de inhibición del crecimiento mostraron poca diferencia en la actividad entre los isómeros E ($IC_{50} = 1.0 \mu M$, $GI_{50} = 15 \mu M$) y Z ($IC_{50} = 1.5 \mu M$, $GI_{50} = 30 \mu M$) (Tabla 4).

Tabla 4: Derivados de naftoquinona: Modificaciones diversas

Estructura	Nombre	Sustituyente en 3	Doble enlace	Carbonilo	Redox/ μM	Muerte celular/ μM
	E-43a	Cloro	E	Ácido	1.0	15
	Z-43a	Cloro	Z	Ácido	1.5	30
	E-44a	Cloro	E	Éster metílico	1.0	17.5
	Z-44a	Cloro	Z	Éster metílico	2.0	20
	73	Cloro	E	Amida	1.0	7.5
	71	Cloro	Epóxido	Ácido	4.0	10
	39a	Bromo	E	Ácido	2.0	12.5
	69a	Bromo	Saturado	Ácido	5	15

	69b	Bromo	Saturado	Ácido	5	15
	1	Metilo	Insaturado	Ácido	10	35
	72	Metilo	Insaturado	Amida	10	35

Los análisis biológicos de los derivados de benzoquinona y naftoquinona proporcionan una idea de las preferencias del sitio activo redox en Ape1. Primero, los derivados de naftoquinona muestran un aumento en la actividad de un orden de magnitud sobre los derivados de benzoquinona. En segundo lugar, la cadena lateral de nonilo de E3330 se puede reducir a un sustituyente metilo sin una pérdida significativa de actividad. En la serie de benzoquinonas, un requisito preferido para la retención de actividad era al menos un sustituyente metilo en el enlace doble. En tercer lugar, tanto en la serie de benzoquinona como en la de naftoquinona, un sustituyente electronegativo en el anillo orto al enlace doble mostró una actividad incrementada en comparación con los derivados de metilo. En cuarto lugar, la saturación, la epoxidación y la inversión geométrica del enlace doble en la serie de naftoquinonas no mostraron una disminución en la actividad. Finalmente, la amidación del carboxilato tanto en las series de benzoquinona como de naftoquinona mostró retención de actividad.

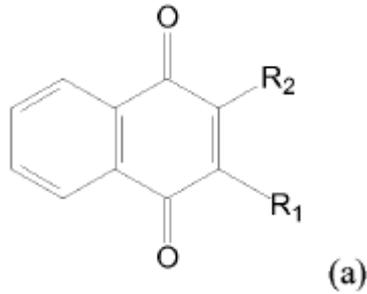
Lista de las referencias referidas en las páginas anteriores

- 1 Tupler, R.; Perini, G.; Green, M. R. *Nature* 2001, 409(6822), 832-3.
- 2 Evans, A. R.; Limp-Foster, M.; Kelley, M. R. *Mutat Res* 2000, 461(2), 83-108.
- 3 Wilson, D. M. *3rd J Mol Biol* 2003, 330(5), 1027-37.
- 4 Xanthoudakis, S.; Curran, T. *EMBO J* 1992, 11(2), 653-65.
- 5 Walker, L. J.; Robson, C. N.; Black, E.; Gillespie, D.; Hickson, I. D. *Mol Cell Biol* 1993, 13(9), 5370-6.
- 6 Kelley, M. R.; Luo, M.
- 7 Ordway, J. M.; Eberhart, D.; Curran, T. *Mol Cell Biol* 2003, 23(12), 4257-66.
- 8 Izumi, T.; Brown, D. B.; Naidu, C. V.; Bhakat, K. K.; Macinnes, M. A.; Saito, H.; Chen, D. J.; Mitra, S. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102(16), 5739-43.
- 9 Mol, C. D.; Izumi, T.; Mitra, S.; Tainer, J. A. *Nature* 2000, 403(6768), 451-6.
- 10 Luo, M.; Kelley, M. R. *Anticancer Res* 2004, 24(4), 2127-34.
- 11 Fishel, M. L.; He, Y.; Smith, M. L.; Kelley, M. R. *Clin Cancer Res* 2007, 13(1), 260-267.
- 12 Shimizu, N.; Sugimoto, K.; Tang, J.; Nishi, T.; Sato, I.; Hiramoto, M.; Aizawa, S.; Hatakeyama, M.; Ohba, R.; Hatori, H.; Yoshikawa, T.; Suzuki, F.; Oomori, A.; Tanaka, H.; Kawaguchi, H.; Watanabe, H.; Handa, H. *Nat Biotechnol* 2000, 18(8), 877-81.
- 13 Shinkawa, N.; Ichino, T.; Tsuruki, T.; Kuroda, H. *Japan Patent JP 05148183*, June 15, 1993.
- 14 Keinan, E.; Doron, E. *J. Org. Chem.* 1987, 52(17), 3872-3875.
- 15 Ohkawa, S.; Terao, S.; Terashita, Z.; Shibouta, Y.; Nishikawa, K. *J. Med. Chem.* 1991, 34, 267-276.

- 16 Shinkawa, N.; Ichino, T.; Tsuruki, T.; Kuroda, H. Japan Patent 05-148183, June 15, 1993.
- 17 Tremblay, M. S.; Sames, D. *Org. Lett.* 2005, 7, 2417-20.
- 18 Matsumoto, M.; Kobayashi, H.; Hotta, Y. *J. Org. Chem.* 1984, 49, 4740-4741.
- 19 Syper, L.; Kloc, K.; Mlochowski, J. *Tetrahedron* 1980, 36, 123-129.
- 5 20 Benington, F.; Morin, R. D.; Clark JR, L. C. *J. Org. Chem.* 1955, 20, 102-108.
- 21 Matsubara, H.; Yasuda, S.; Sugiyama, H.; Ryu, I.; Fujii, Y.; Kita, K. *Tetrahedron* 2002, 58, 4071-4076.
- 22 Flader, C.; Liu, J.; Borch, R. F. *J. Med. Chem.* 2000, 43(16), 3157-67.
- 23 Evans, P. A.; Brandt, T. A. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 5321-5326.
- 24 Ito, T.; Ikemoto, T.; Yamano, T.; Mizuno, Y.; Tomimatsu, K. *Tetrahedron: Asymmetry* 2003, 14, 3525-3531.
- 10 25 Smith, J. G.; Dibble, P. W.; Sandborn, R. E. *J. Org. Chem.* 1986, 51, 3762-3768.
- 26 Murphy, J. A.; Rasheed, F.; Roome, S. J.; Scott, K. A.; Lewis, N. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1998, 2331-2339.
- 27 King, S. A. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 2253-2256.
- 28 Clegg, N. J.; Paruthiyil, S.; Leitman, D. C.; Scanlan, T. S. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 5989-6003.
- 29 Nakamura, M.; Kakuda, T.; Oba, Y.; Ojika, M.; Nakamura, H. *Bioorg Med Chem* 2003, 11(14), 3077-82.
- 15 30 Zempleni, J.; McCormick, D. B.; Stratton, S. L.; Mock, D. M. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 1996, 7(9), 518-523.
- 31 Gregory, K. J.; Bachas, L. G. *Anal Biochem* 2001, 289(1), 82-8.
- 32 Yoon, H. C.; Hong, M.-Y.; Kim, H.-S. *Langmuir* 2001, 17(4), 1234-1239.
- 33 Snyder, C. D.; Rapoport, H. *J. Am. Chem. Soc.* 1972, 94(1), 227-231.
- 20 34 Gius, D.; Cao, X. M.; Rauscher, F. J. 3rd; Cohen, D. R.; Curran, T.; Sukhatme, V. P. *Mol Cell Biol* 1990, 10(8), 4243-55.
- 35 Fischer, A. H. G. *N. Can. J. Chem.* 1983, 61(6), 1045-1052.
- 36 Brimble, M. A.; McEwan, J. F.; Turner, P. *Tetrahedron: Asymmetry* 1998, 9, 1239-1255.
- 37 Yang, J.; Weng, L.; Zheng, H. *Synth. Commun.* 2006, 36(16), 2401-2405.
- 25 38 Syper, L.; Mlochowski, J.; Kloc, K. *Tetrahedron* 1983, 39(5), 781-792.
- 39 Lopez-Alvarado, P.; Avendano, C.; Menendez, J. C. *Synth. Commun.* 2002, 32, 3233-3239.
- 40 Bauer, H.; Fritz-Wolf, K.; Winzer, A.; Kuhner, S.; Little, S.; Yardley, V.; Vezin, H.; Palfey, B.; Schirmer, R. H.; Davioud-Charvet, E. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128(33), 10784-10794.
- 41 Rajesh, S.; Banerji, B.; Iqbal, J. *J. Org. Chem.* 2002, 67(22), 7852-7857.
- 30 42 Sachon, E.; Tasseau, O.; Lavielle, S.; Sagan, S.; Bolbach, G. *Anal Chem* 2003, 75(23), 6536-43.
- 43 Kirschleger, B. *Q. R. Synthesis* 1986, 926.
- 44 Sabatino, G.; Chinol, M.; Paganelli, G.; Papi, S.; Chelli, M.; Leone, G.; Papini, A. M.; DeLuca, A.; Ginanneschi, M. *J. Med. Chem.* 2003, 46(14), 3170-3173.

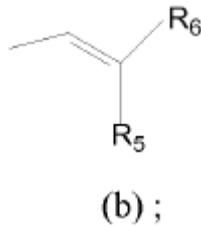
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (a)

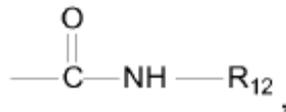


en la que R₁ es alquilo C₁-C₆, halo, alcoxi C₁-C₆, o tio(alquilo C₁-C₆); y

5 R₂ es



donde R₅ es hidrógeno o alquilo C₁-C₉ opcionalmente sustituido; R₆ es -COOR₁₁ o

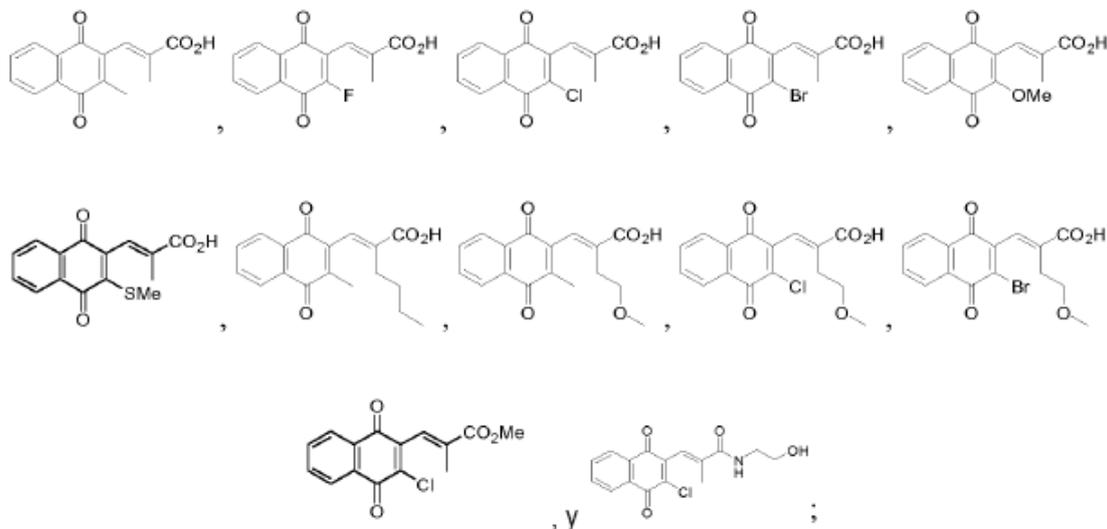


10 donde R₁₁ es hidrógeno o alquilo C₁-C₆, y R₁₂ es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, en el que el sustituyente opcional es alcoxi; y sales de los mismos.

2. El compuesto de la reivindicación 1 en el que R₆ es -COOR₁₁.

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2 en el que R₁ es halo o tio(alquilo C₁-C₆).

4. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
6. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición de la reivindicación 5 para uso en un método de tratamiento de un trastorno en el que el trastorno es un trastorno fisiológico asociado con la angiogénesis alterada.
7. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición de la reivindicación 5 para uso en un método de tratamiento de un trastorno en el que el trastorno se selecciona de cáncer, enfermedad cardiovascular, enfermedad inflamatoria crónica, artritis reumatoide, retinopatía diabética, maculopatía degenerativa, fibroplasia retrolental, fibrosis pulmonar idiopática, síndrome de dificultad respiratoria aguda en adultos, asma, endometriosis, psoriasis, queloides y esclerosis sistémica.
8. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición de la reivindicación 5 para uso en un método de tratamiento de un trastorno, en el que el trastorno es cáncer.
9. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición de la reivindicación 5 para uso en un método de tratamiento de un trastorno, en el que el trastorno es cáncer seleccionado de tumores de mama, próstata, páncreas, colon, cuello uterino, células germinales, gliomas adultos y pediátricos, osteosarcomas, rabdomiosarcomas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, leucemias y mieloma múltiple.
10. Un compuesto o composición para uso en un método de tratamiento de un trastorno, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en el que al menos un agente quimioterapéutico/terapéutico adicional se administra en el método de tratamiento de un trastorno, en el que dicho agente terapéutico adicional es bevacizumab, o en el que el agente terapéutico adicional se selecciona de melfalán, gemcitabina, cisplatino, talidomida y sus derivados, y ácido retinoico.

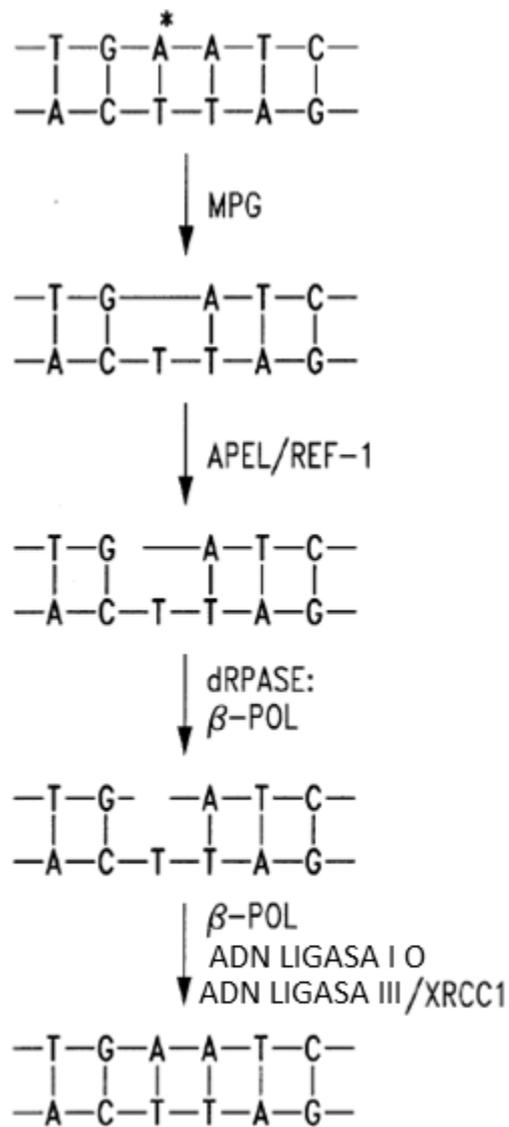


Fig. 1A

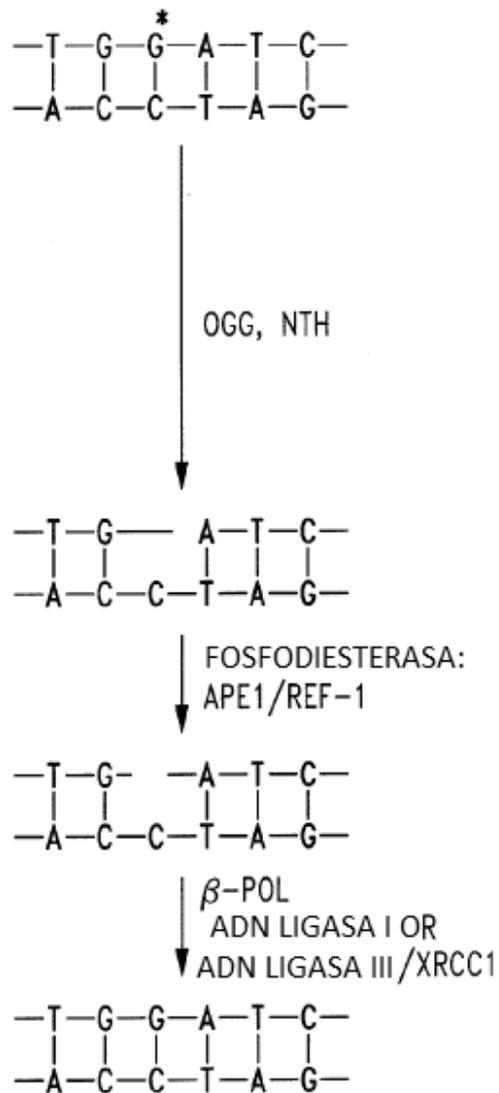


Fig. 1B

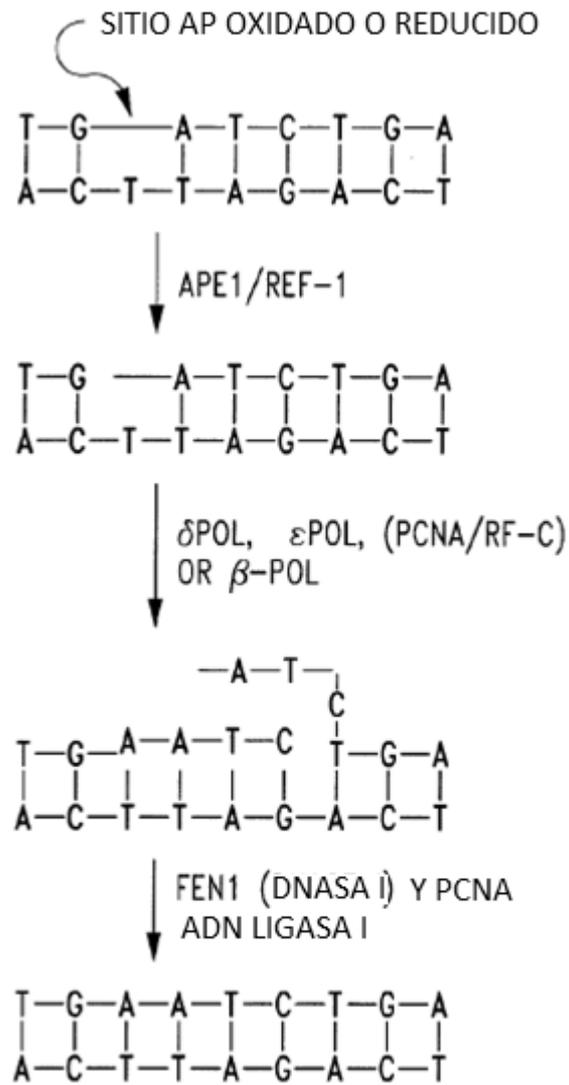


Fig. 1C

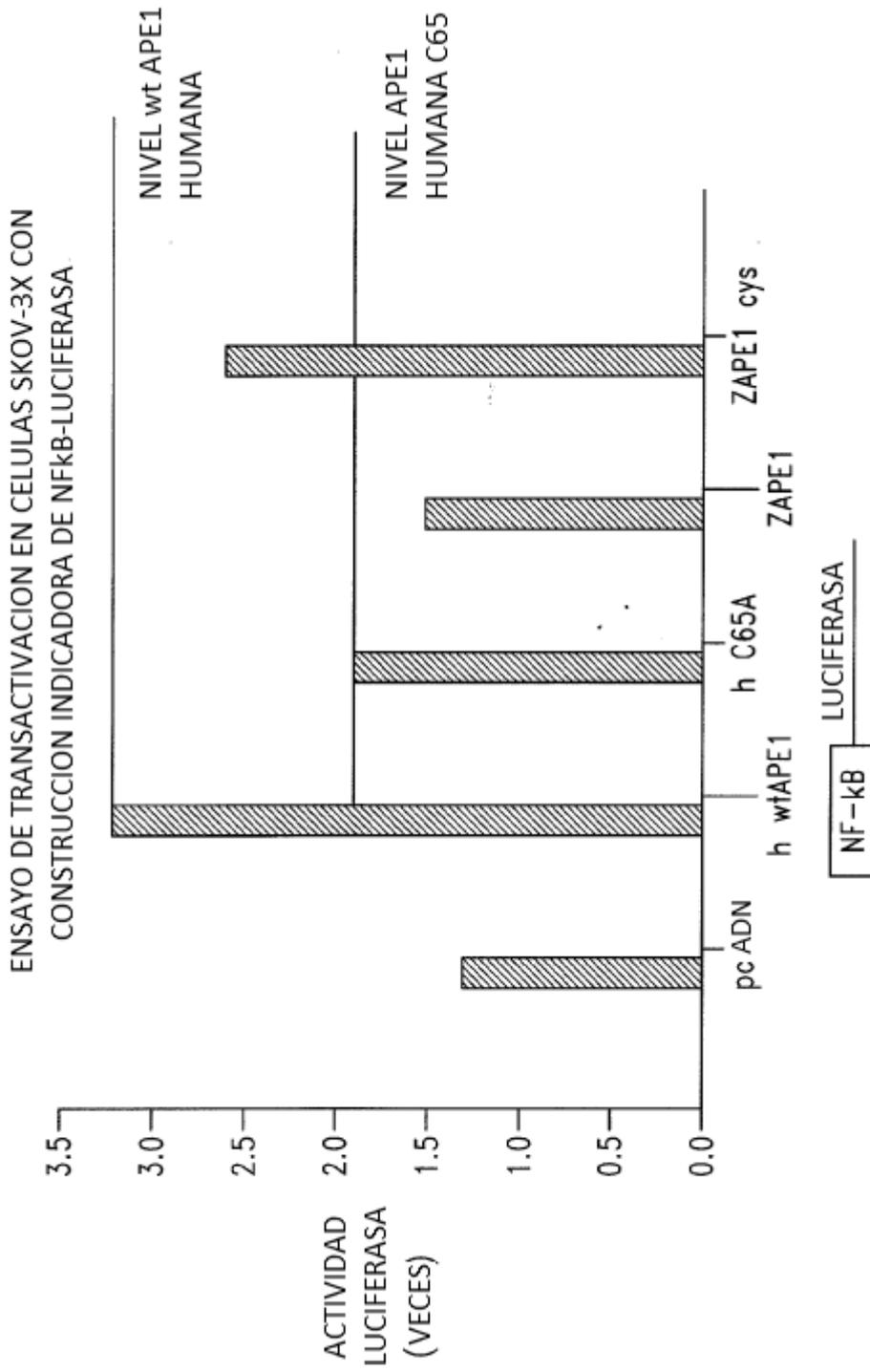


Fig. 2

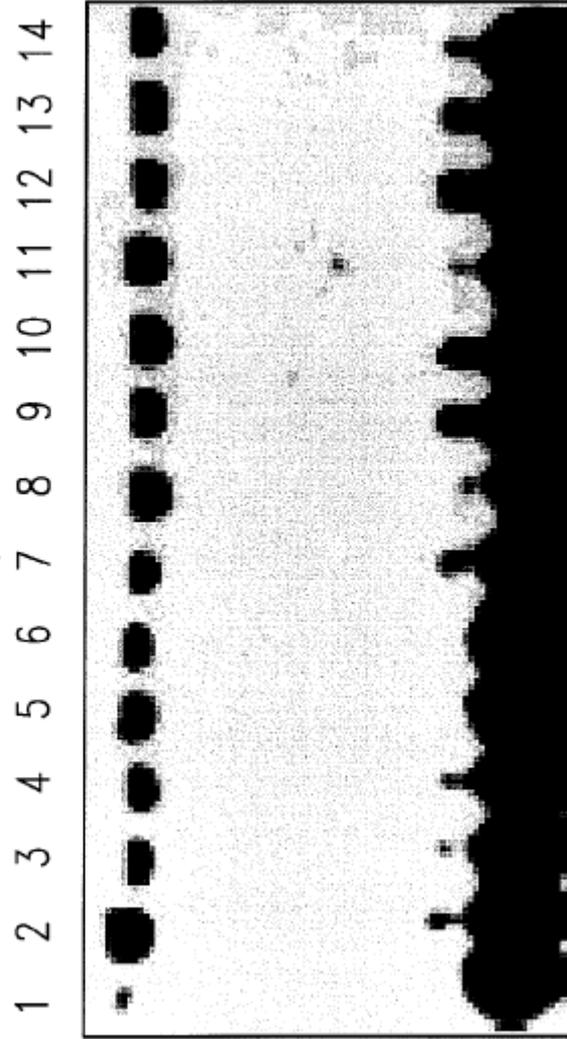


Fig. 3

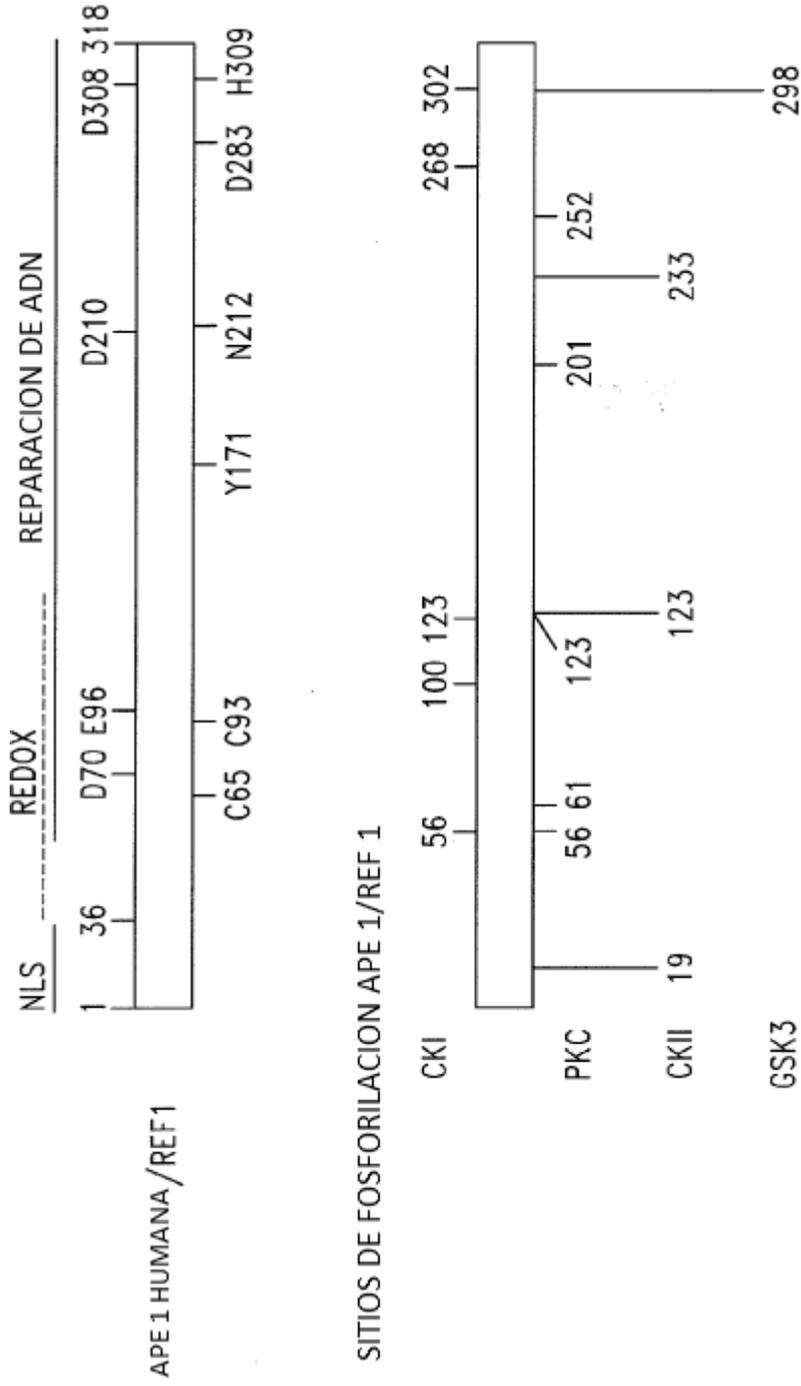


Fig. 4

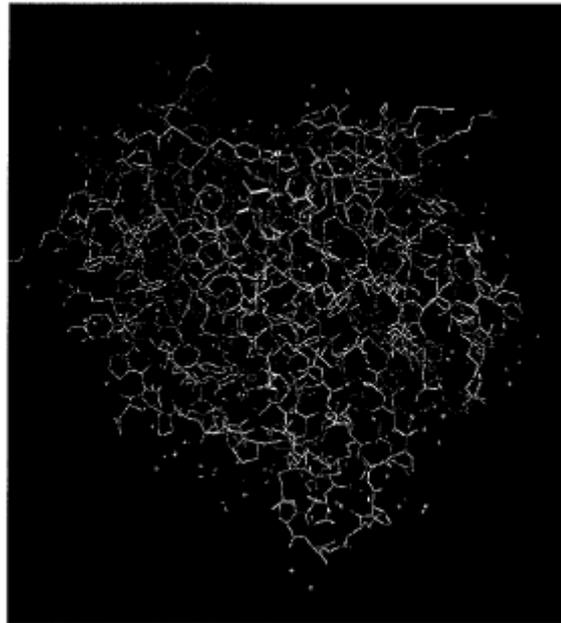


Fig. 5A

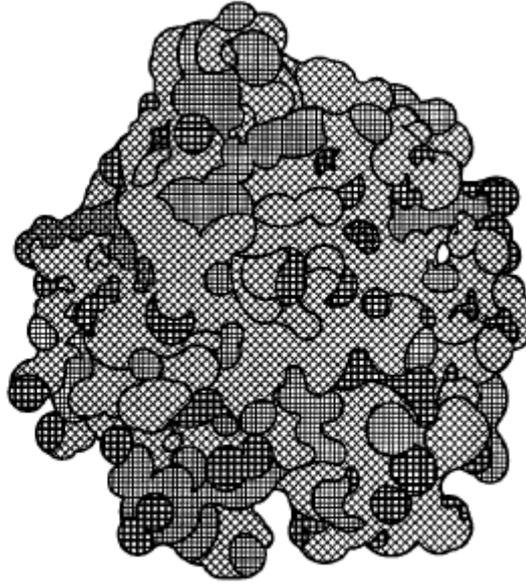
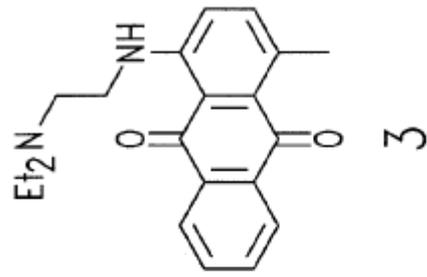


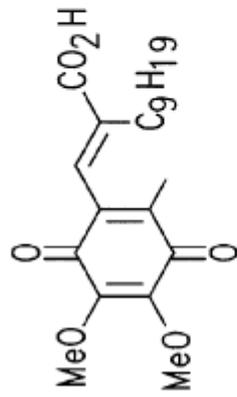
Fig. 5B



3

NH_2OMe

2



1

Fig. 6

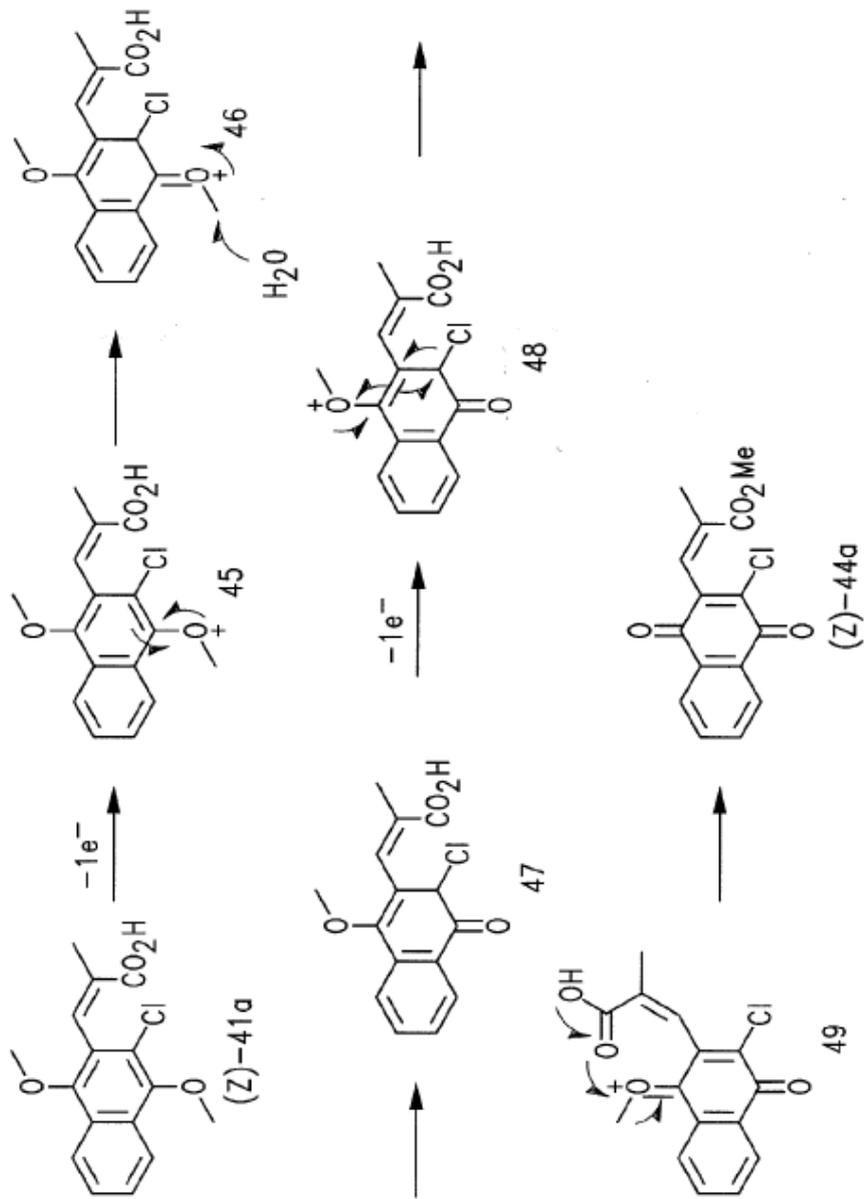
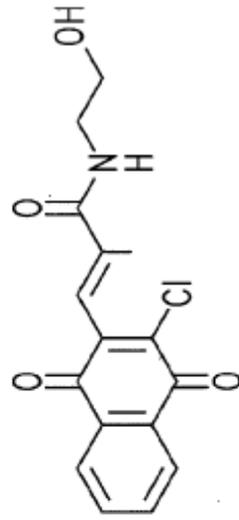
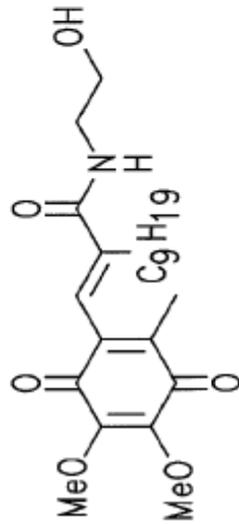


Fig. 7



73



72

Fig. 8

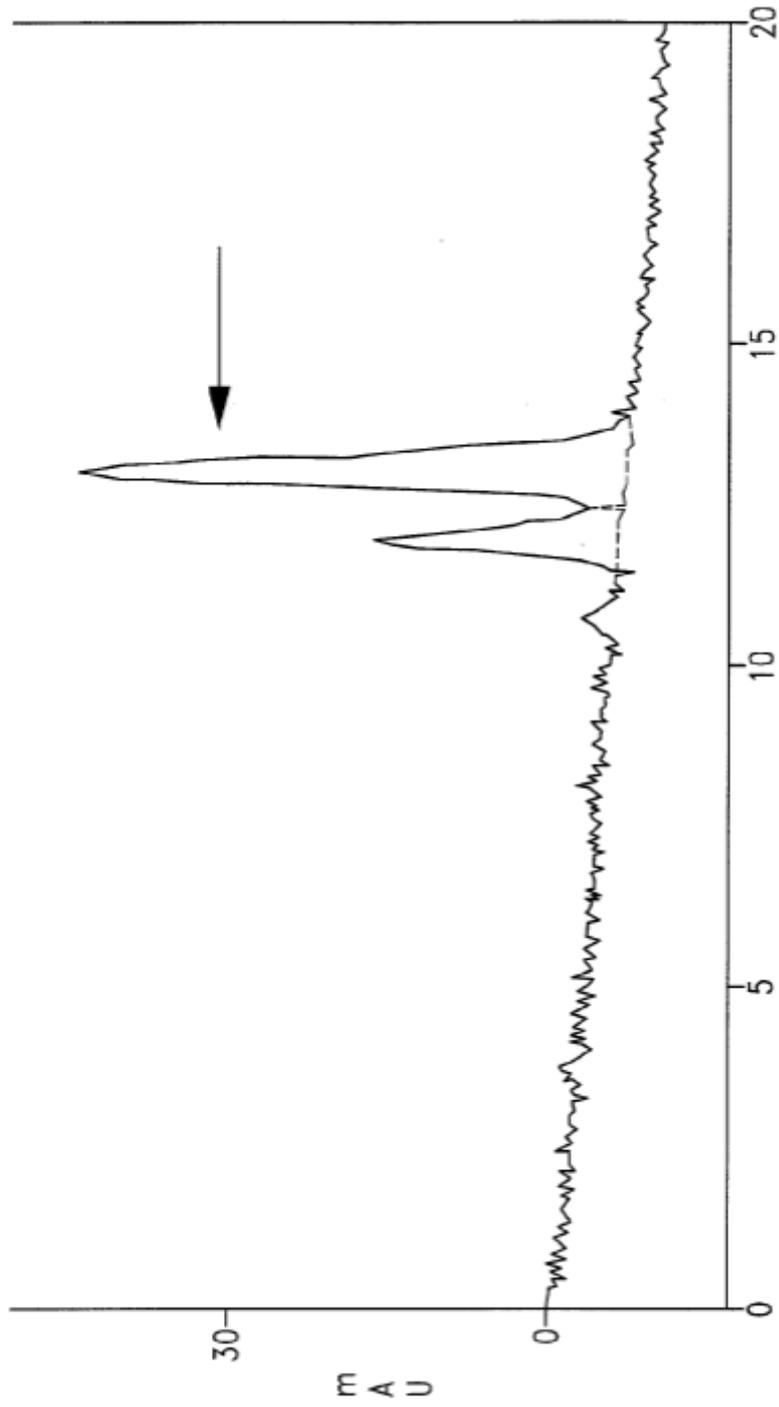
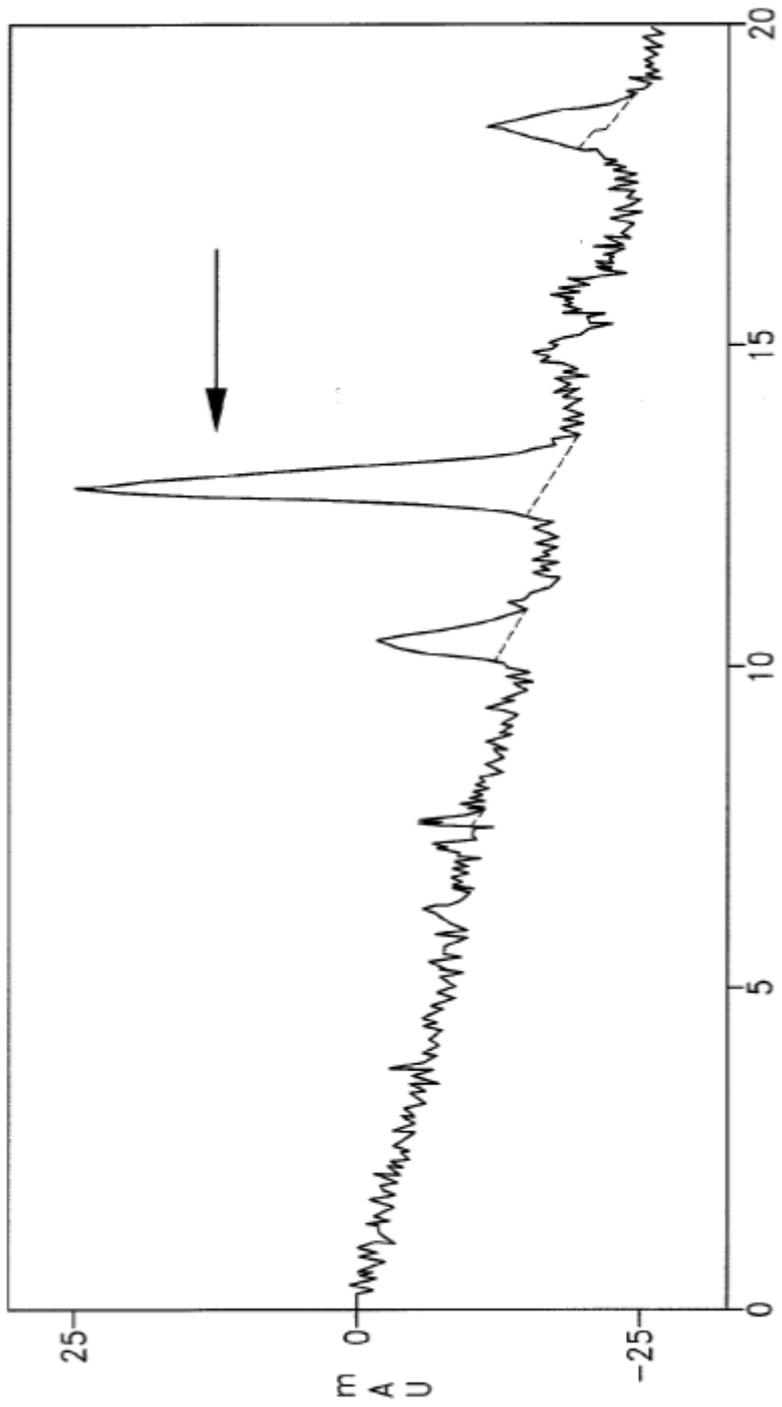


Fig. 9A



MINUTOS - 300nm BANDA = 4nm

Fig. 9B

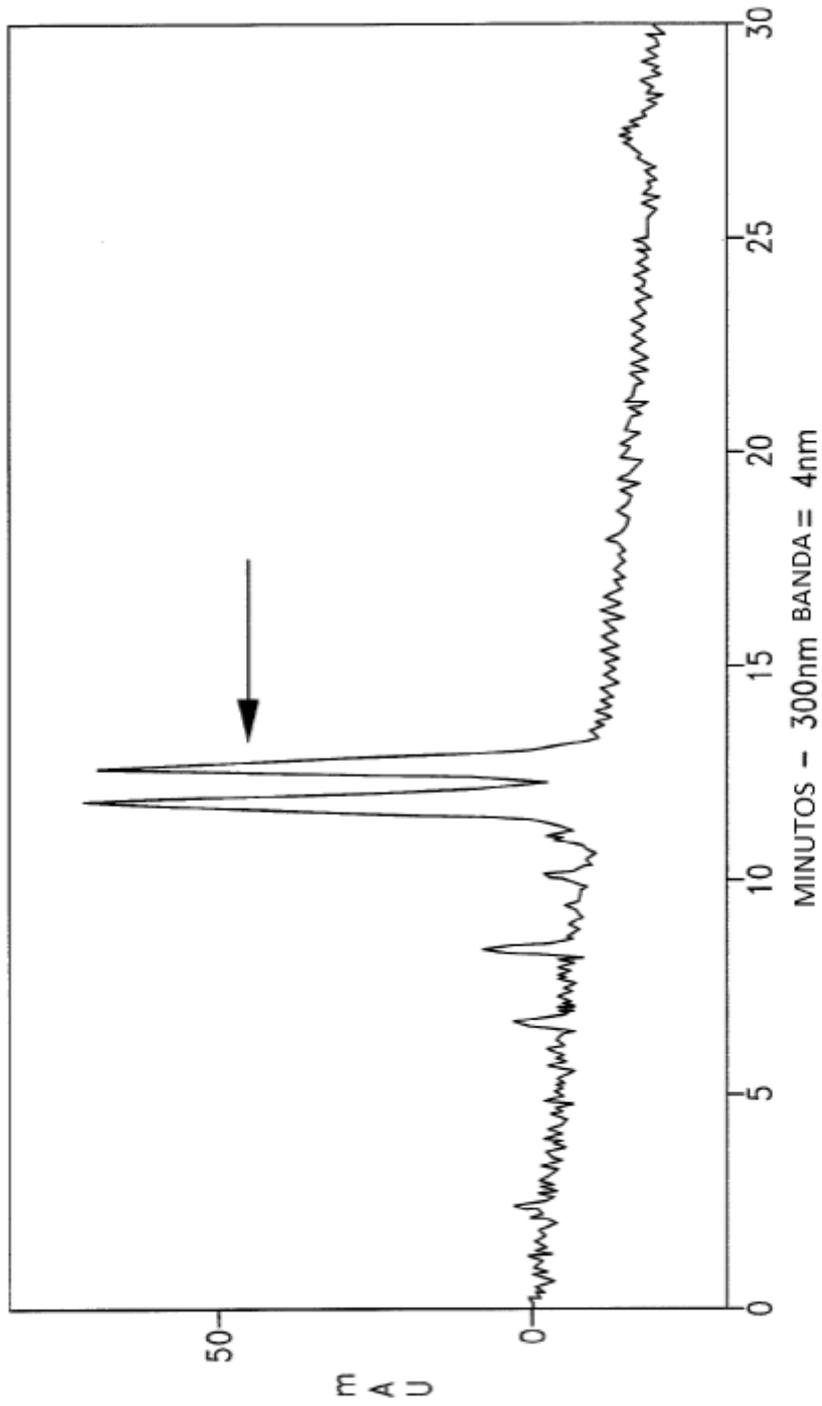


Fig. 9C

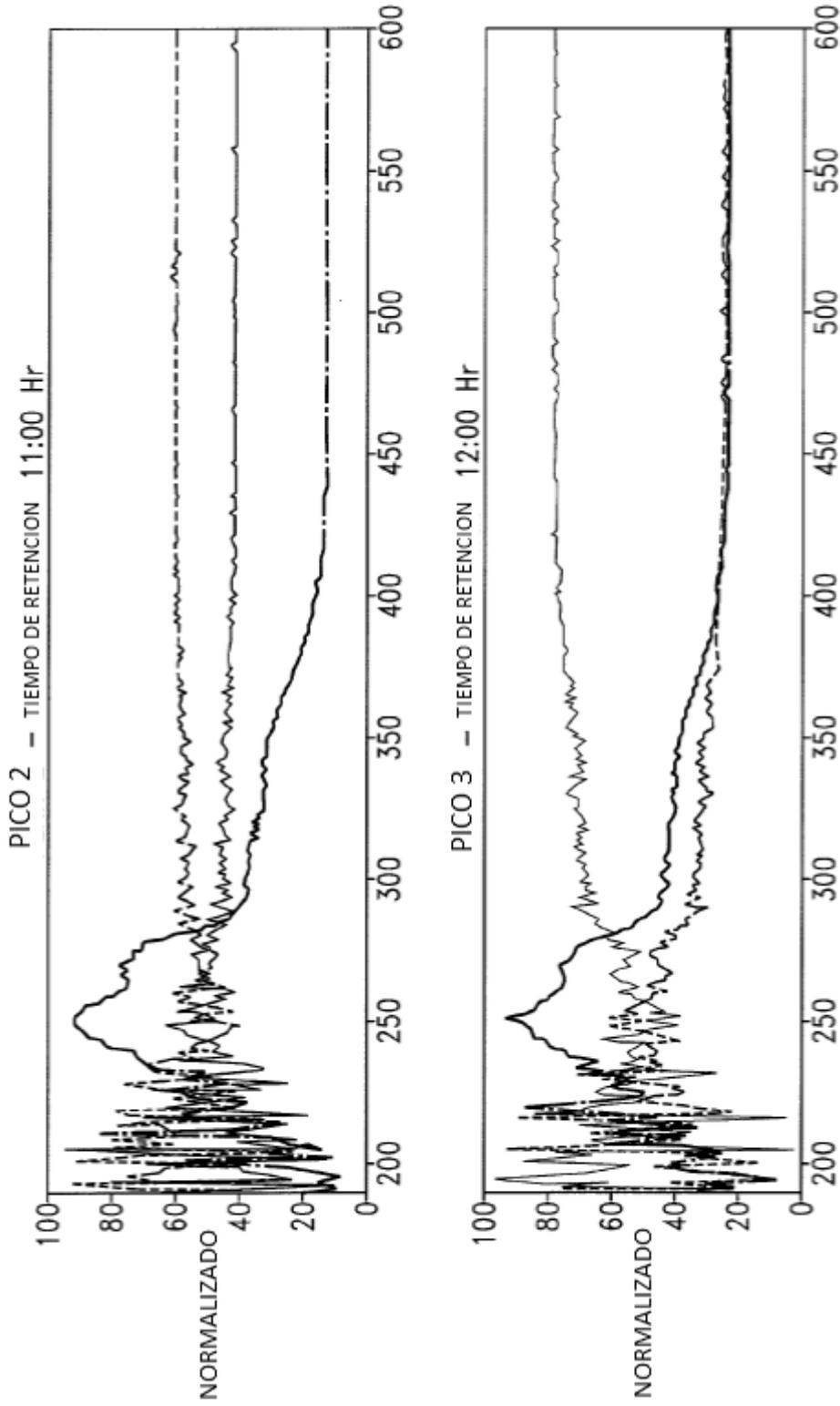


Fig. 9D

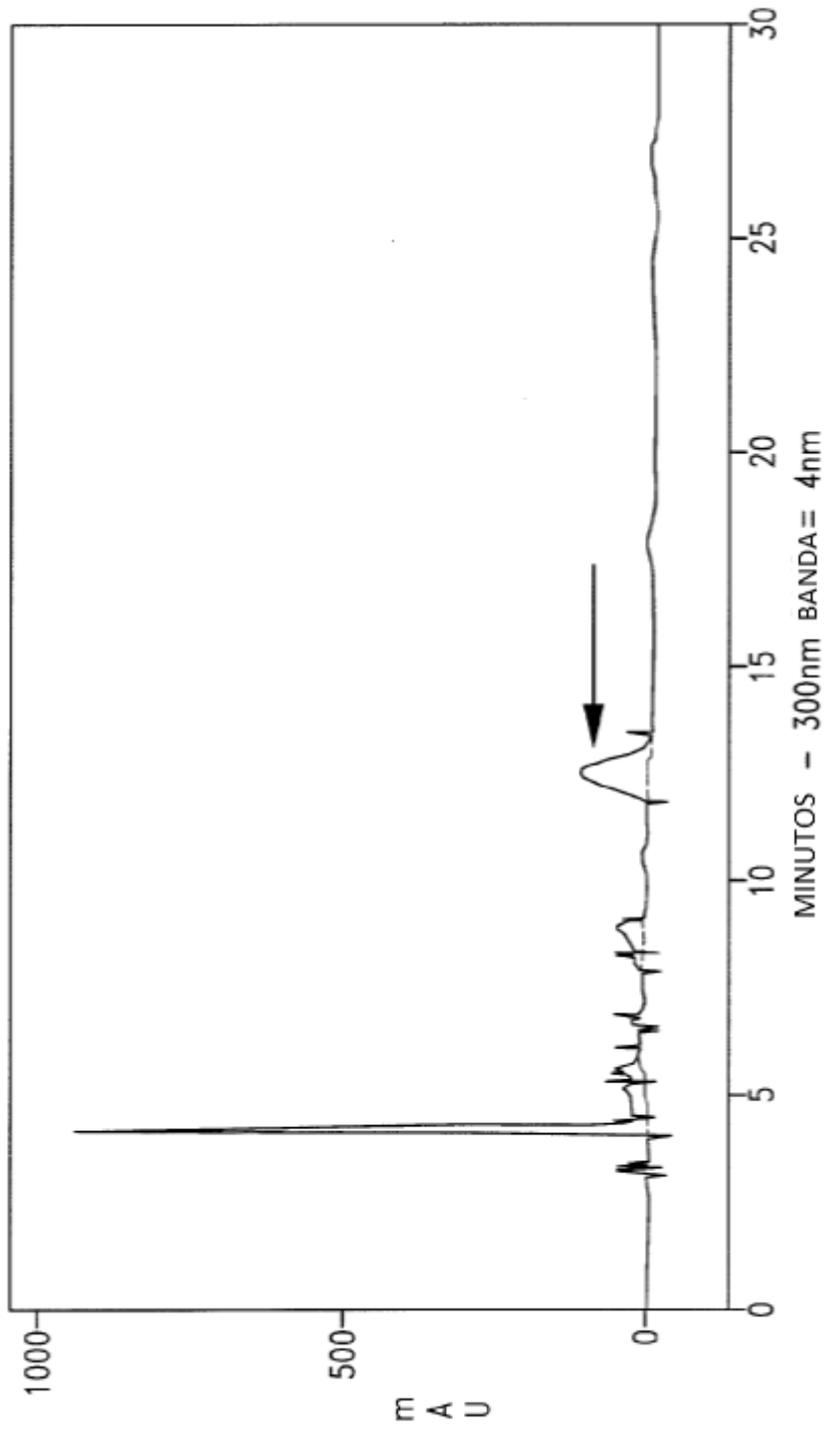


Fig. 9E

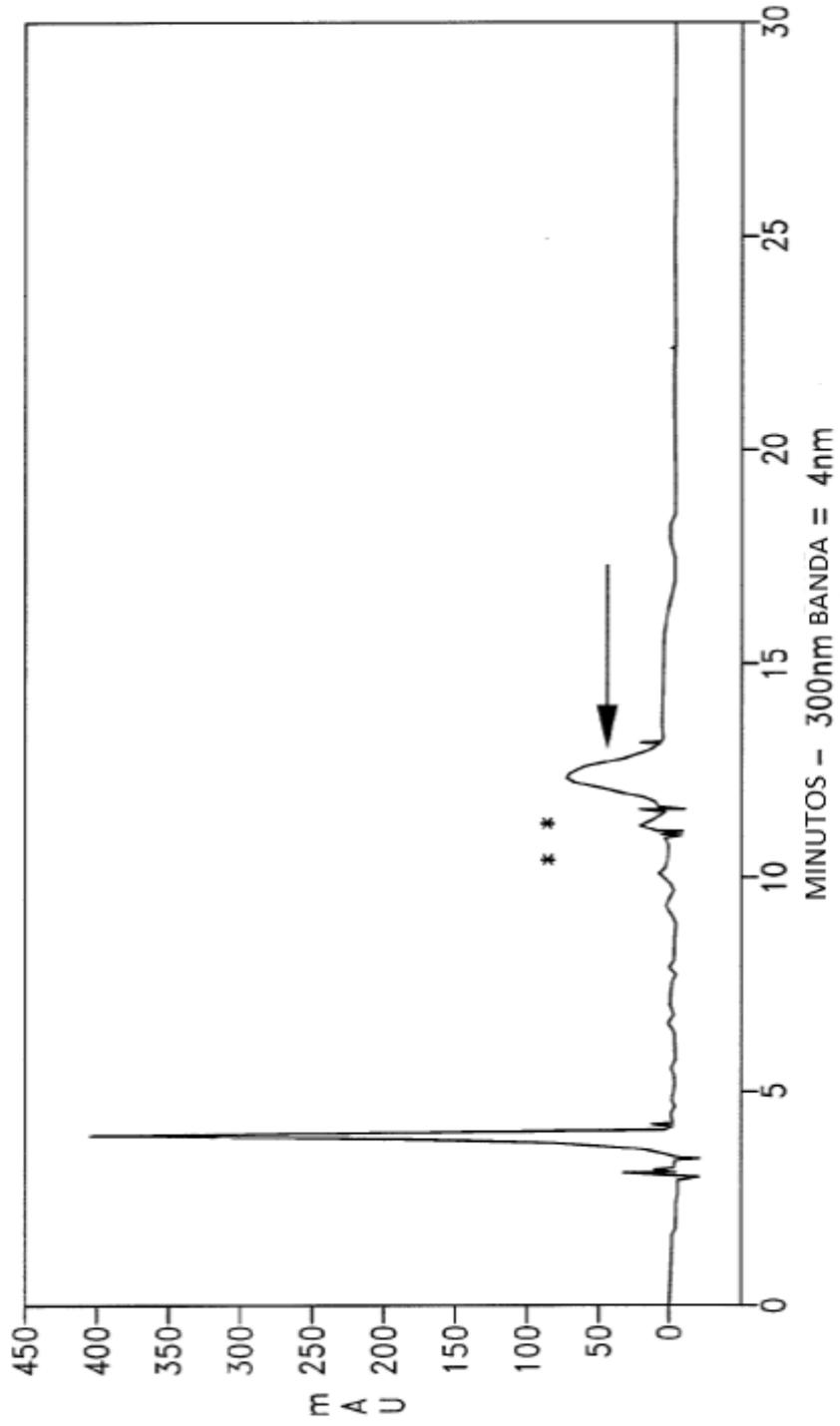
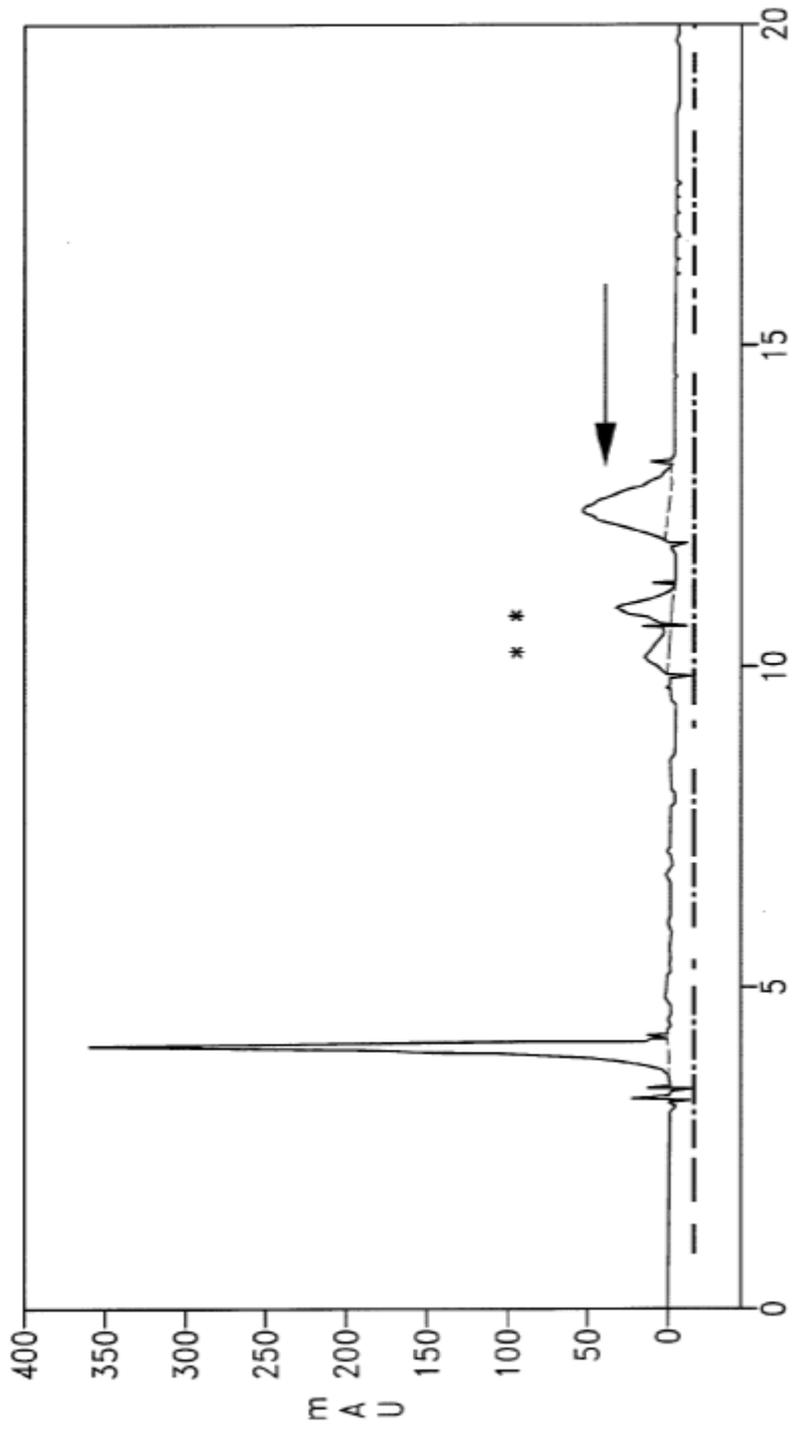


Fig. 9F



MINUTOS - 300nm BANDA = 4nm

Fig. 9G

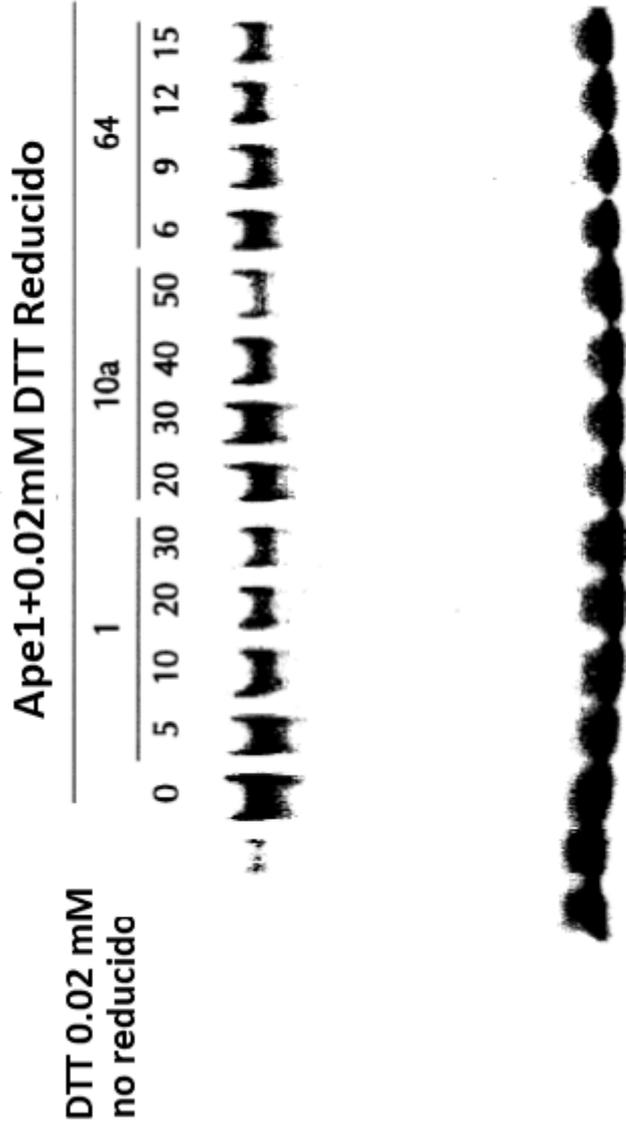


Figura 10: datos EMSA para E3330 (1) y derivados 10a (enlace doble no sustituidos) y 64 (enlace doble sustituido con metoxi etilo).

Fig. 10

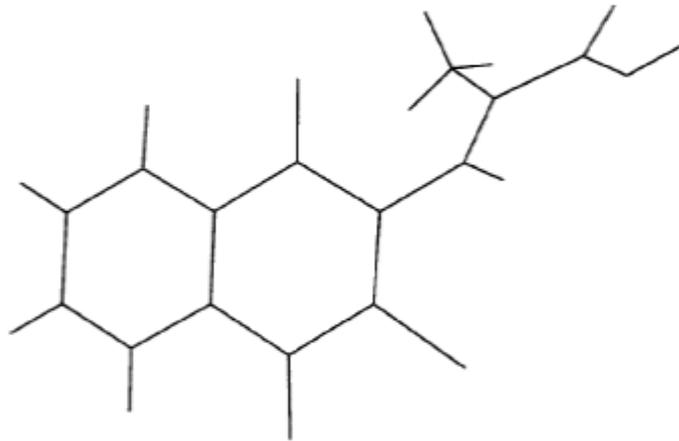
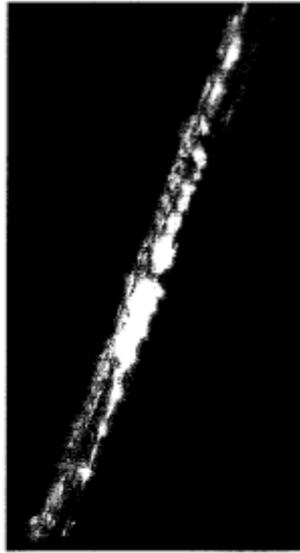


Figura 12: A. Cristal de inhibidor 43a usado para el estudio de difracción de rayos X. B. Estructura generada a partir de los datos recolectados de los estudios de difracción de rayos x en 43a.

Fig. 12

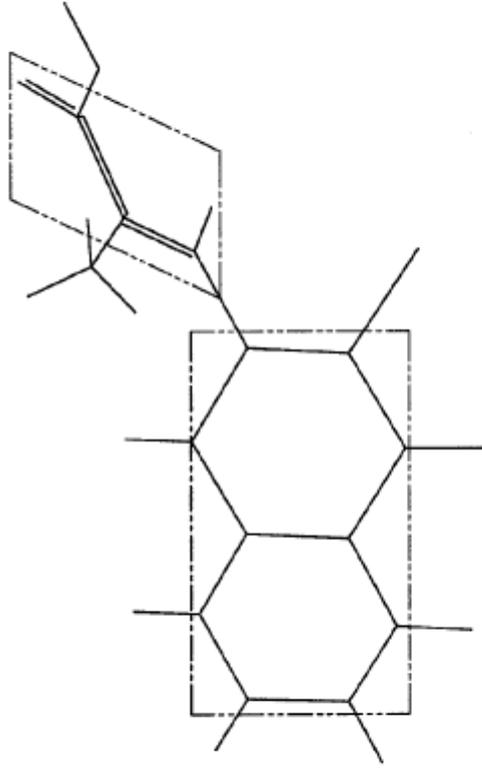


Figura 13: Estructura derivada de estudio de difracción de rayos X muestra tanto la relación entre la quinona y planos de ácido saturado como conformación de ácido insaturado similar a tran-dieno.

Fig. 13

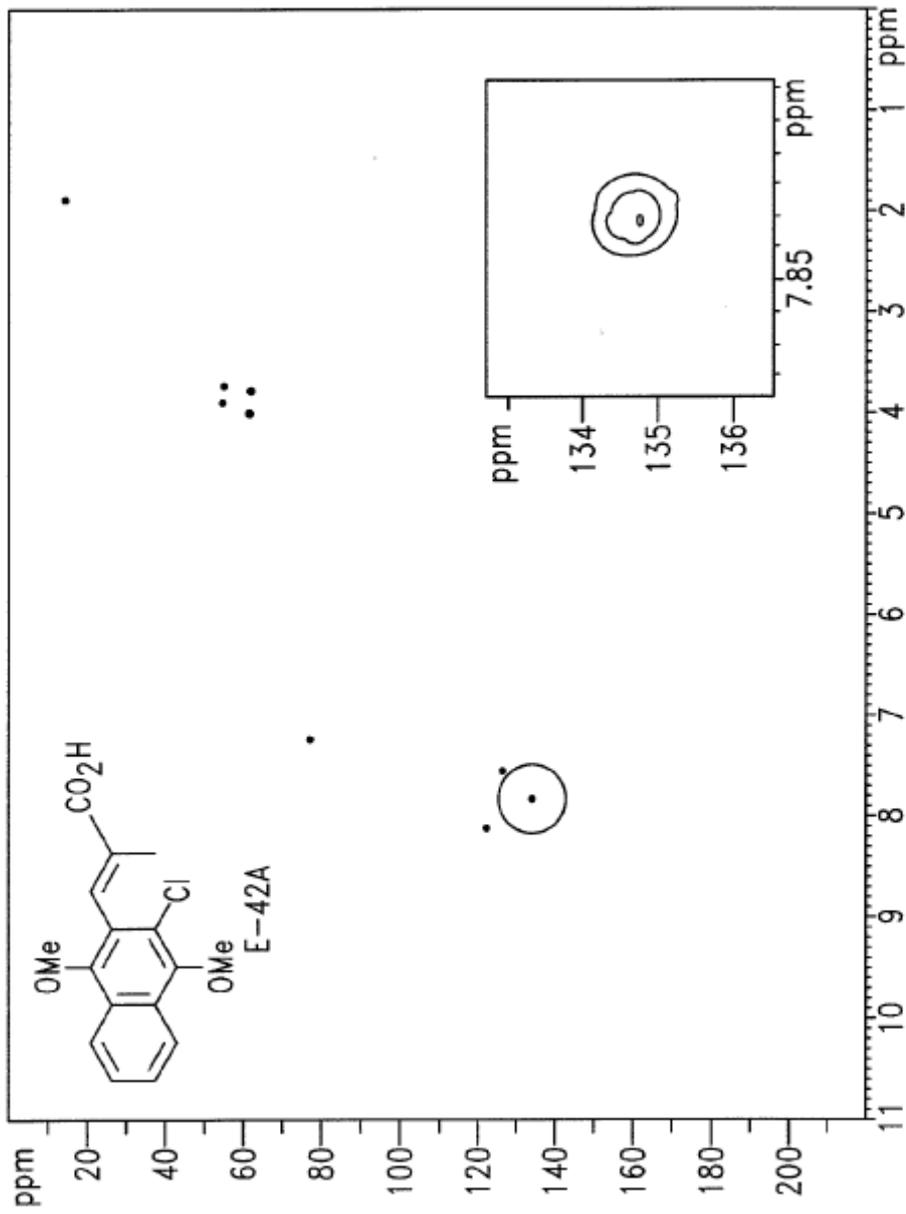


Fig. 14A

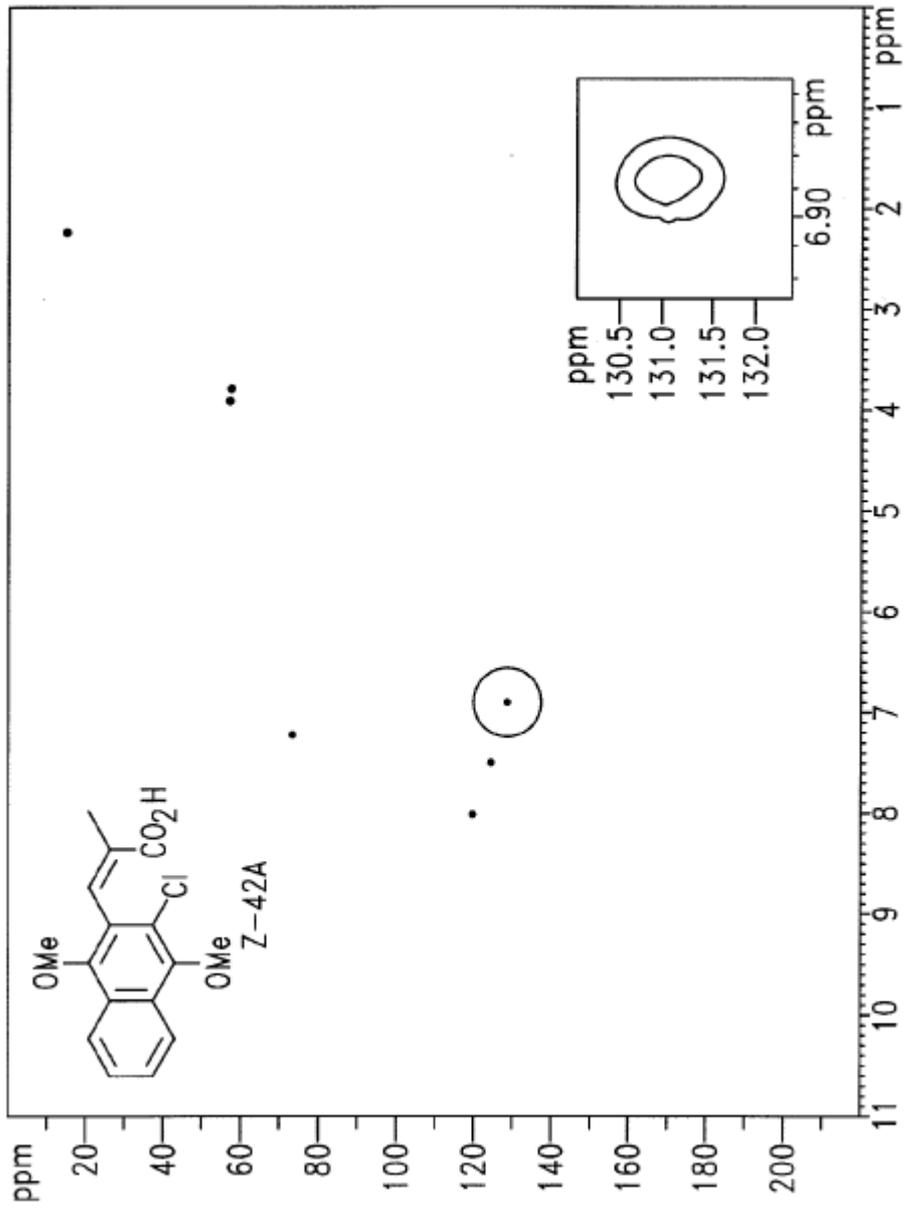


Fig. 14B

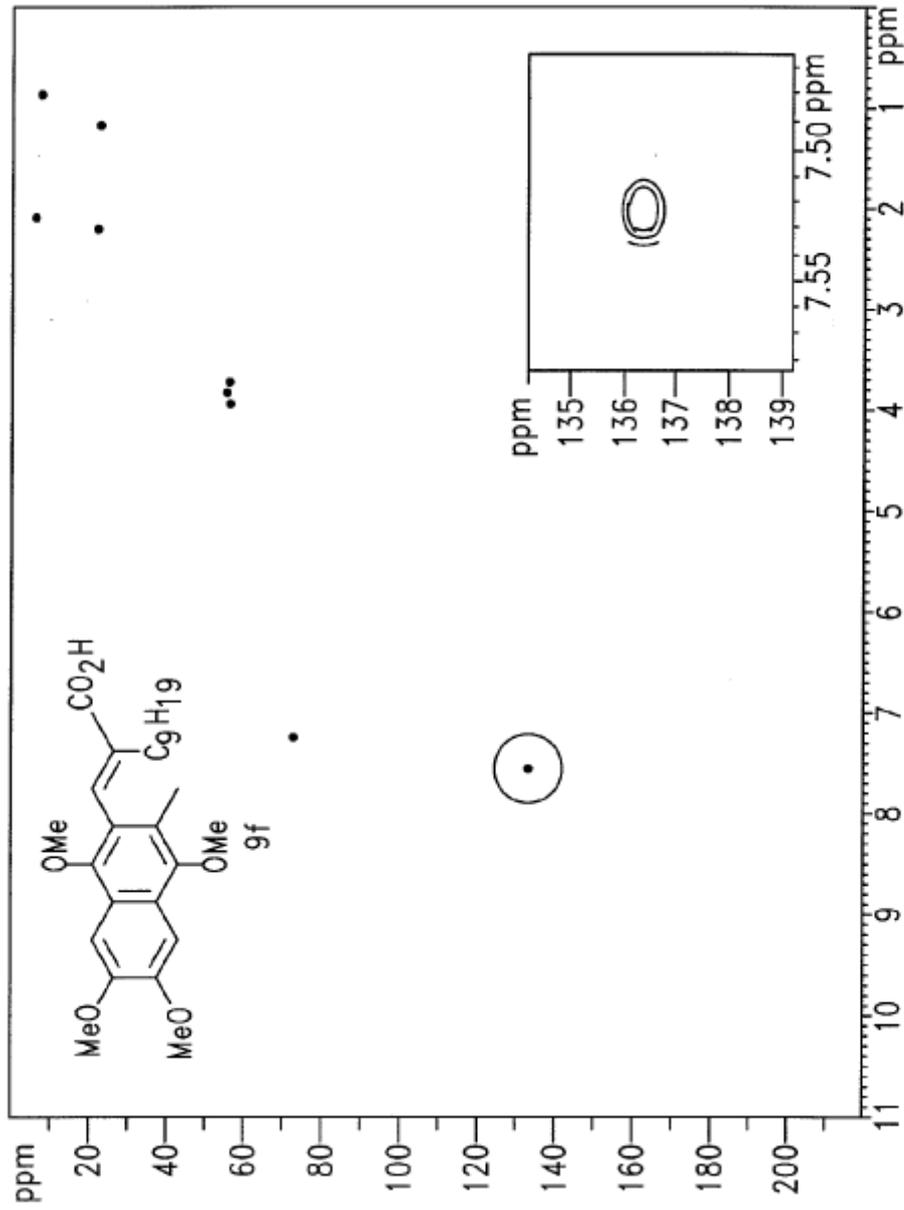


Fig. 14C

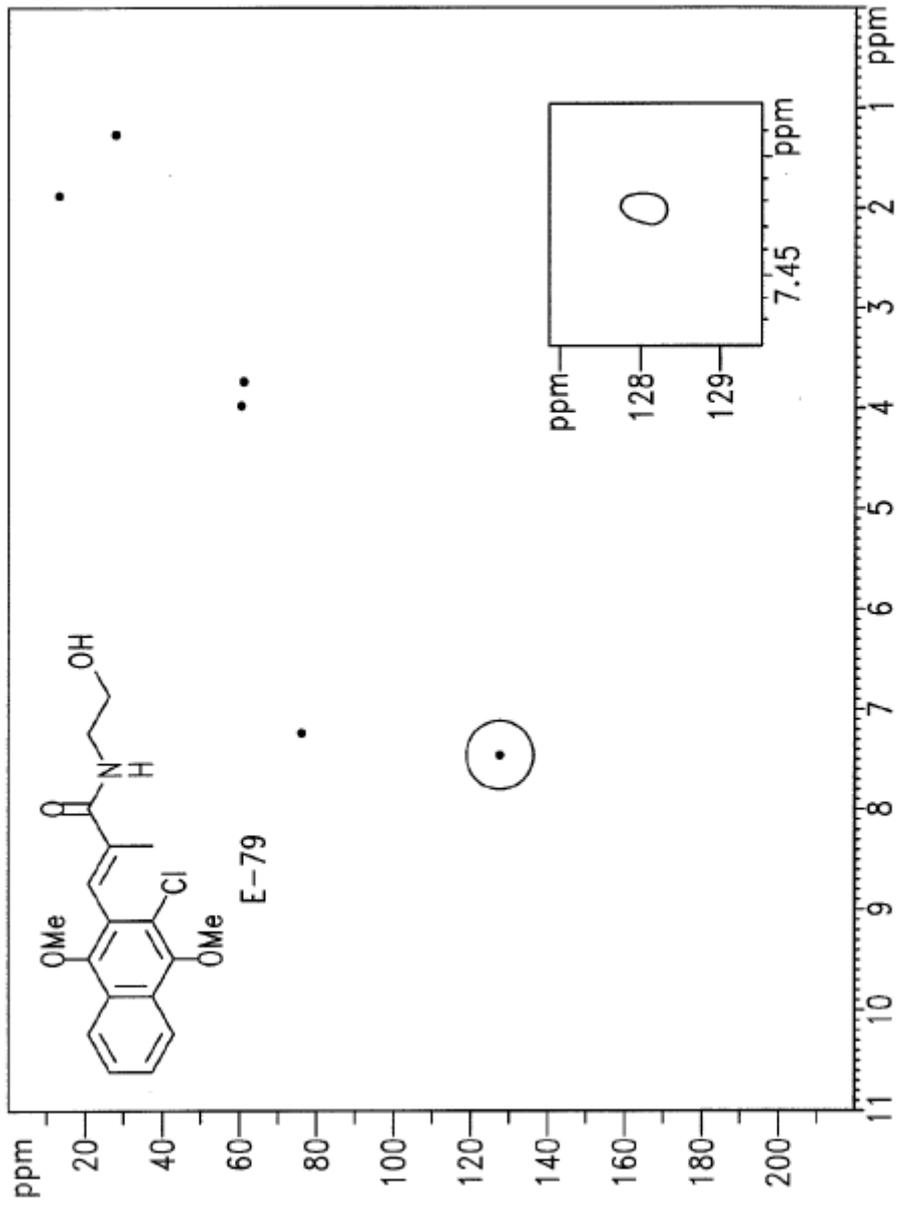


Fig. 14D

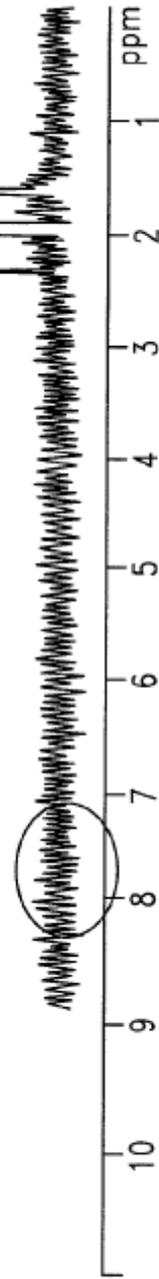
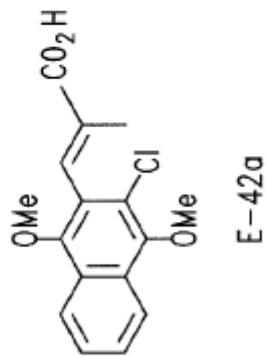


Fig. 15A

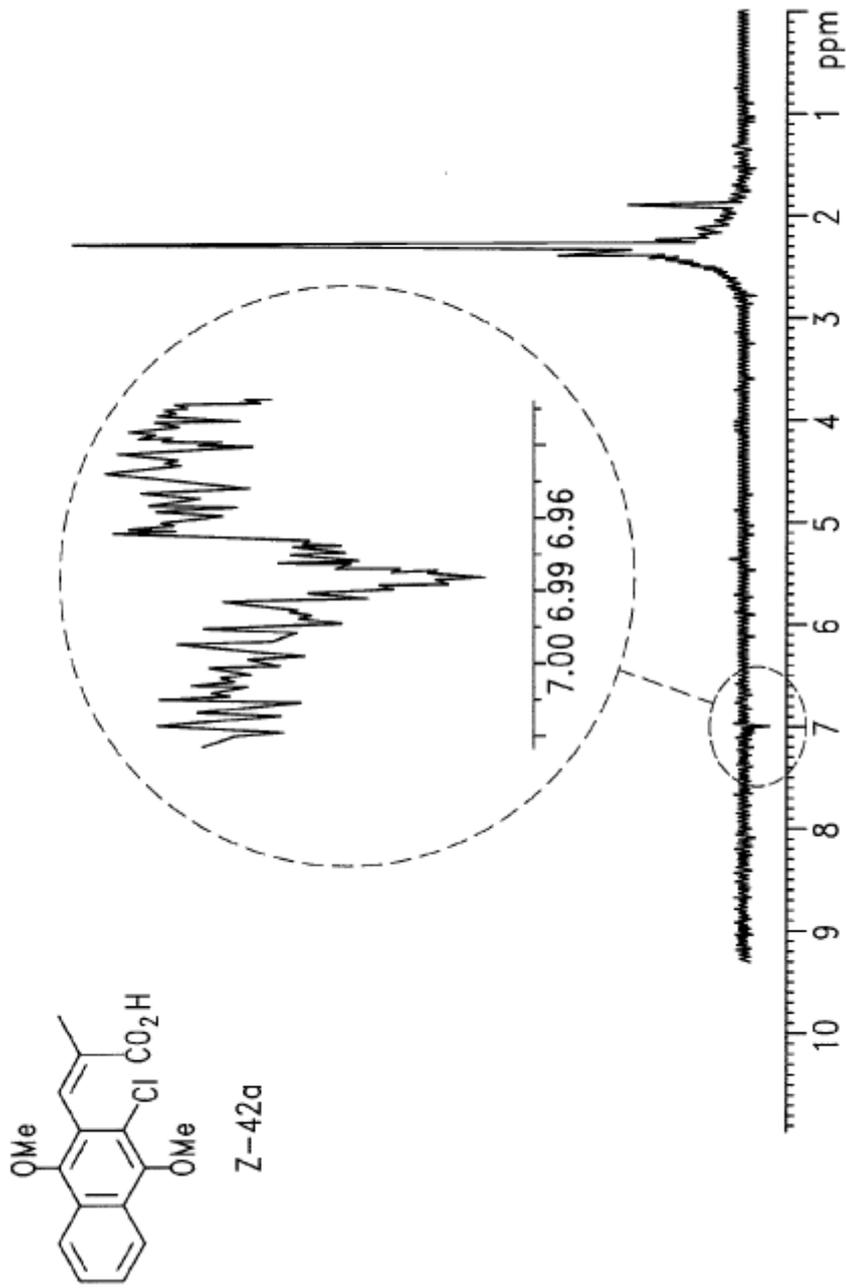


Fig. 15B

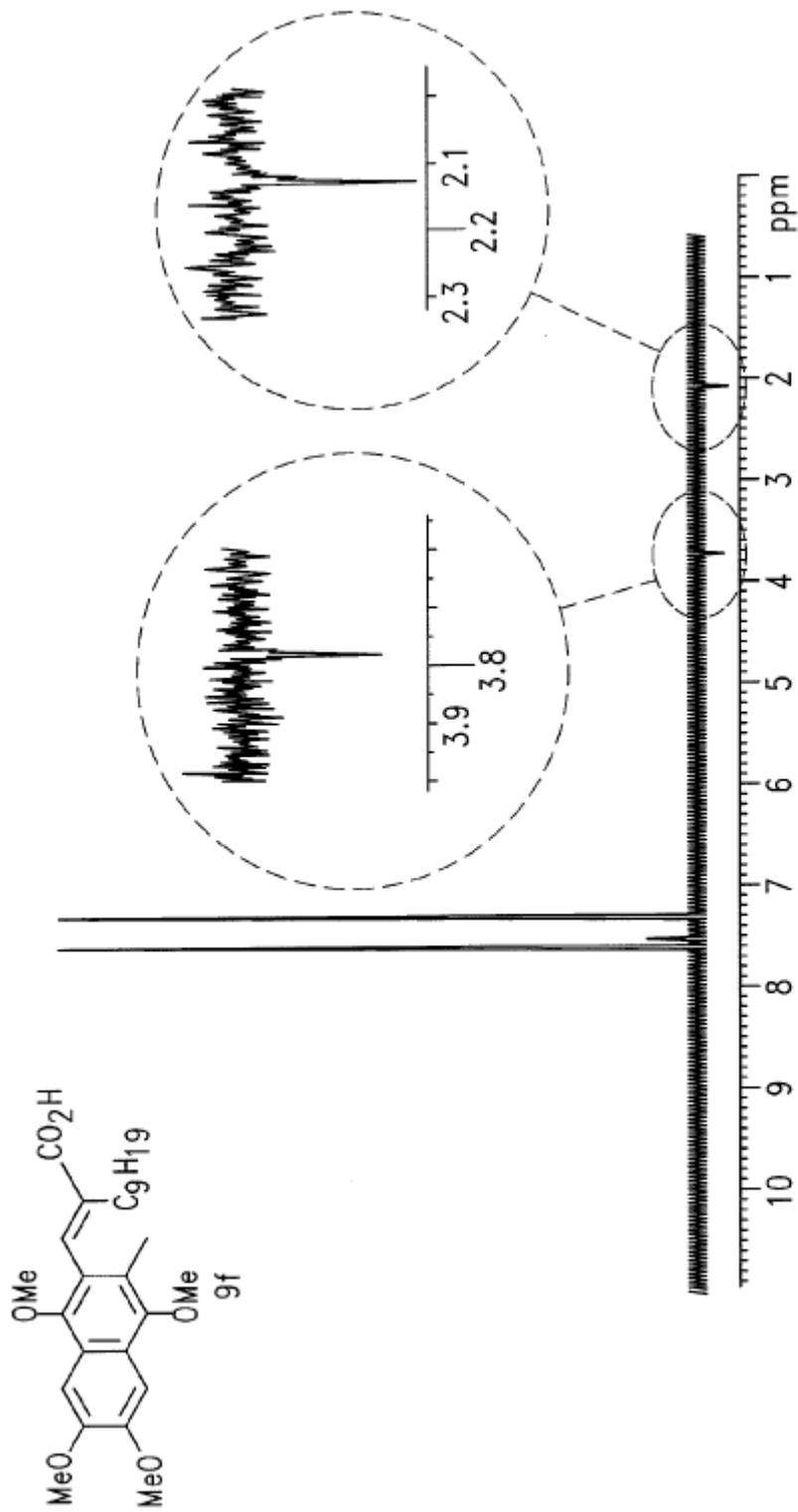


Fig. 15C

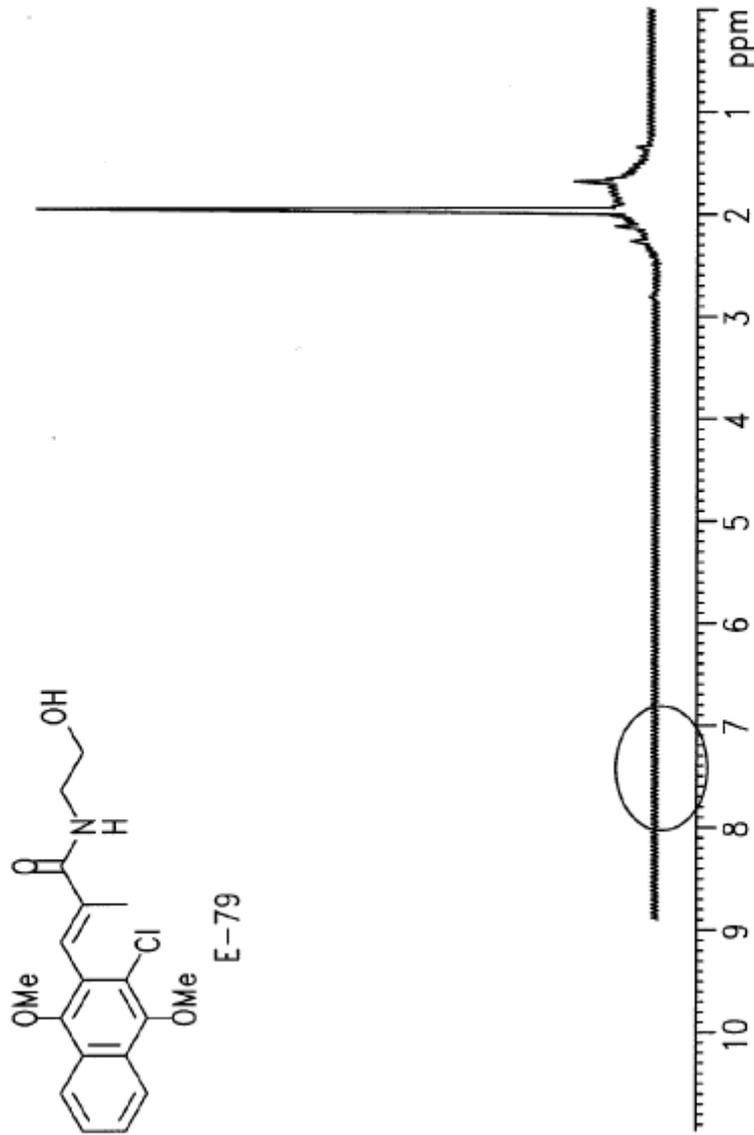


Fig. 15D

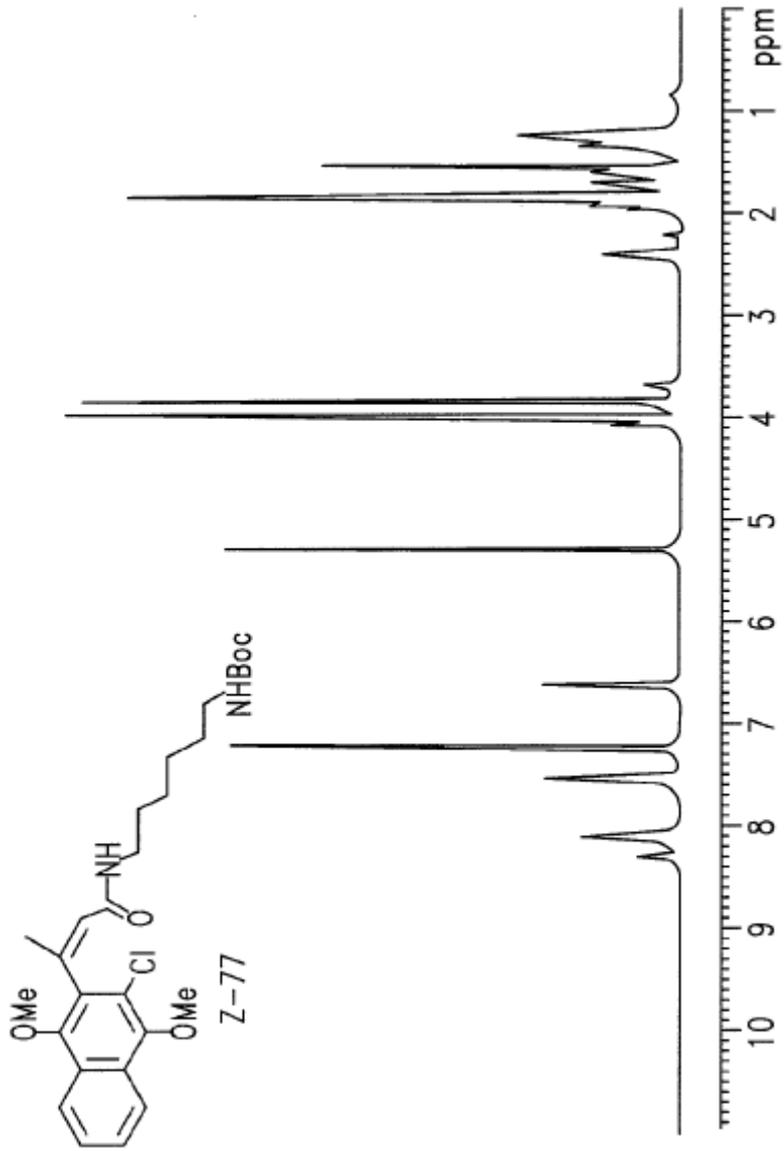


Fig. 16A

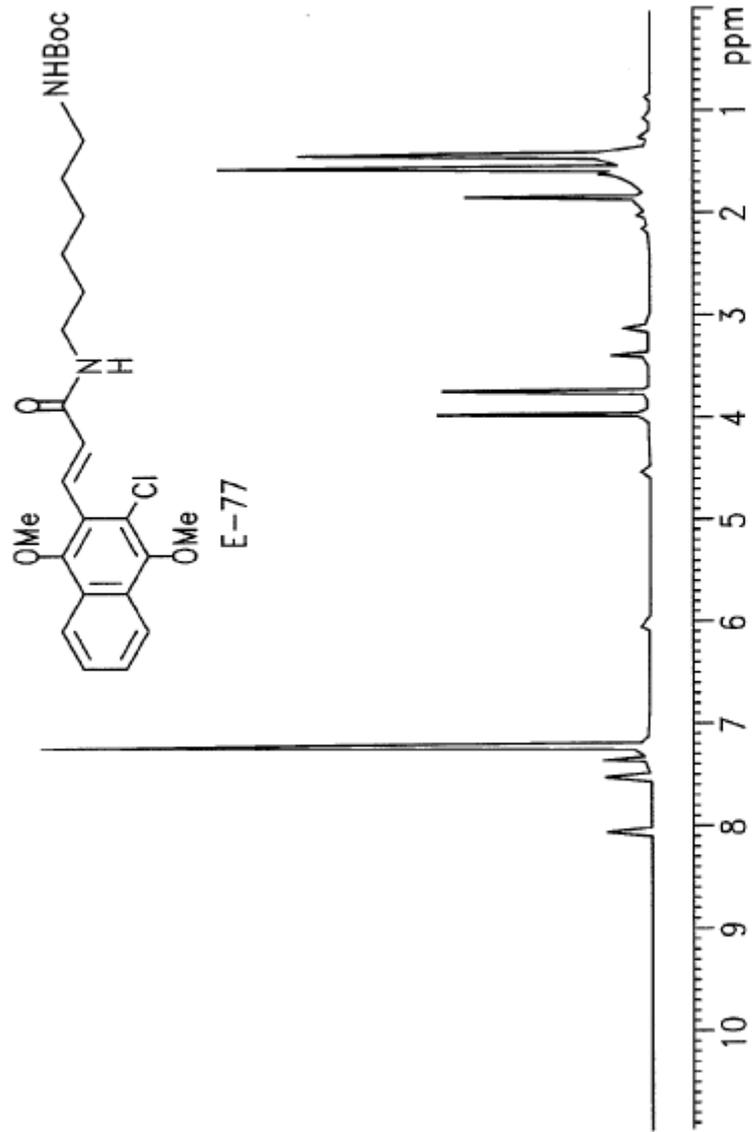


Fig. 16B

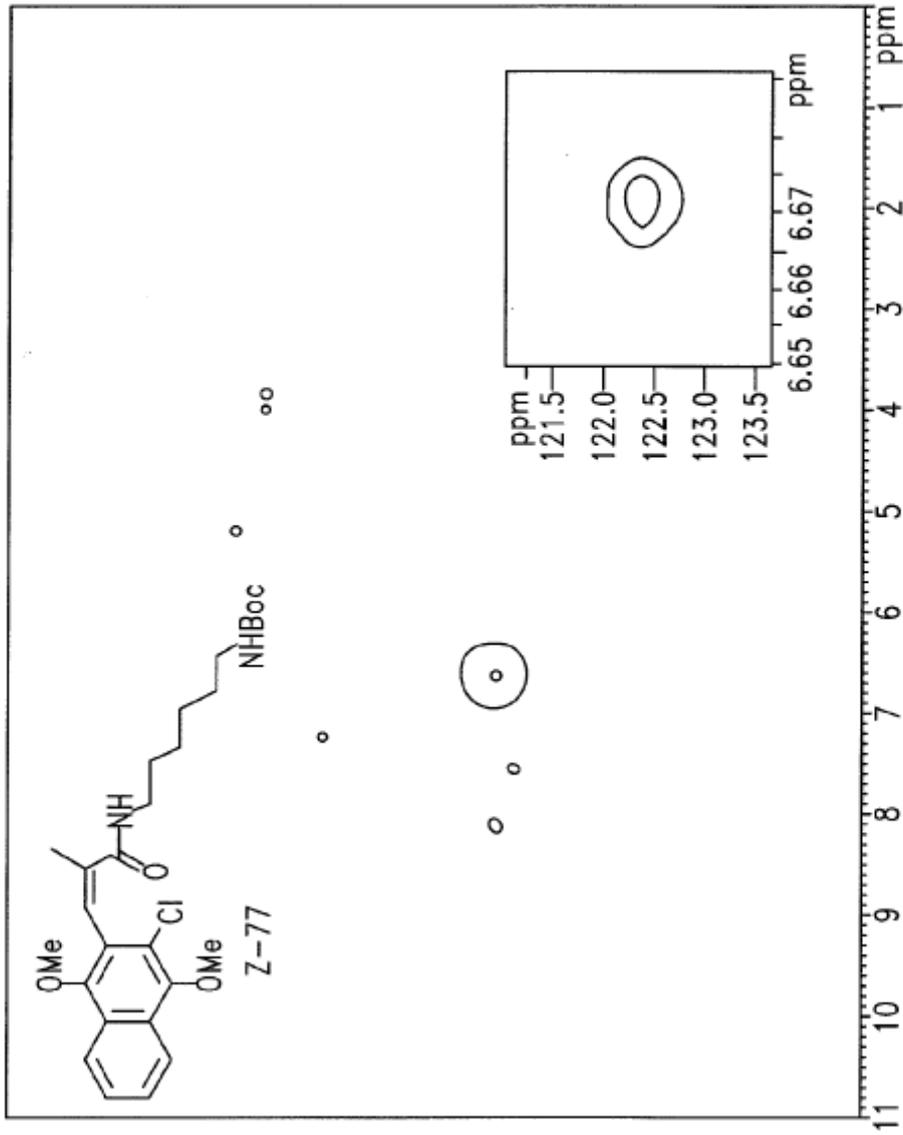


Fig. 16C

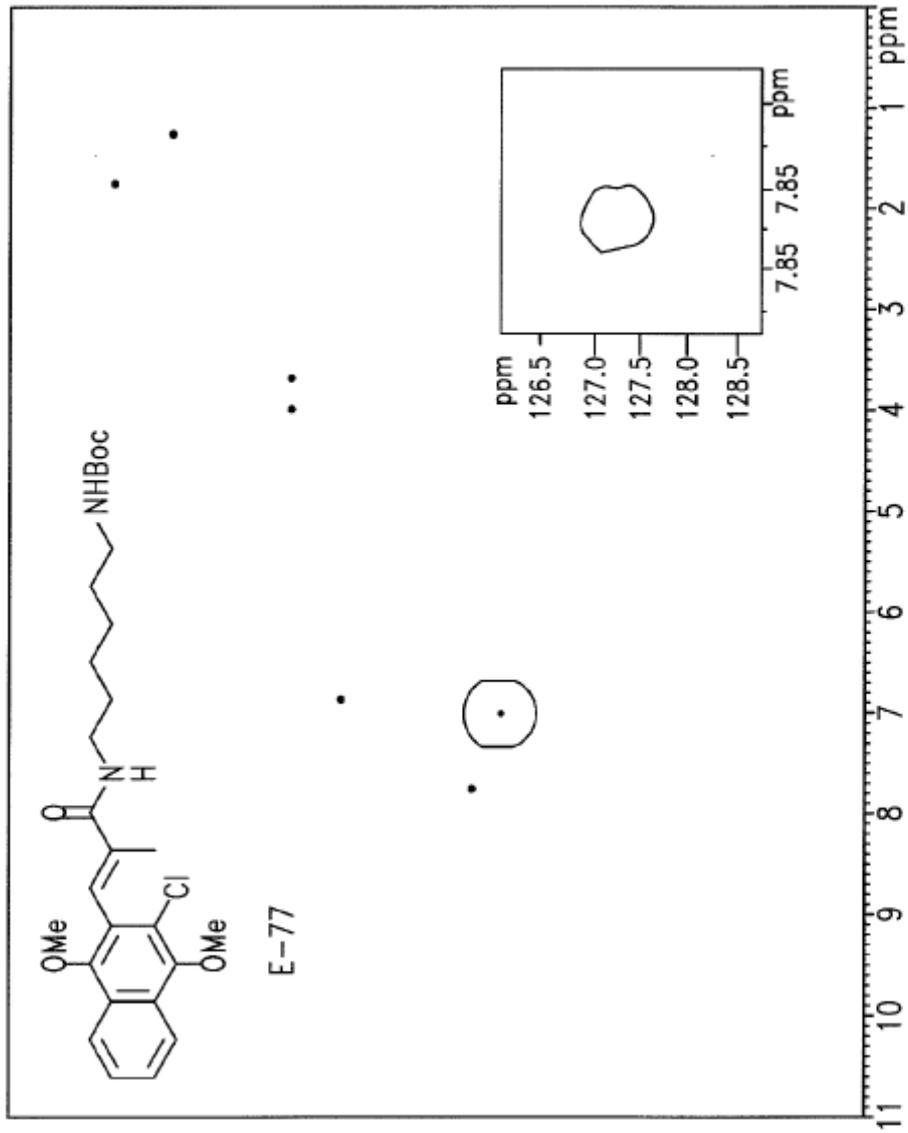


Fig. 16D

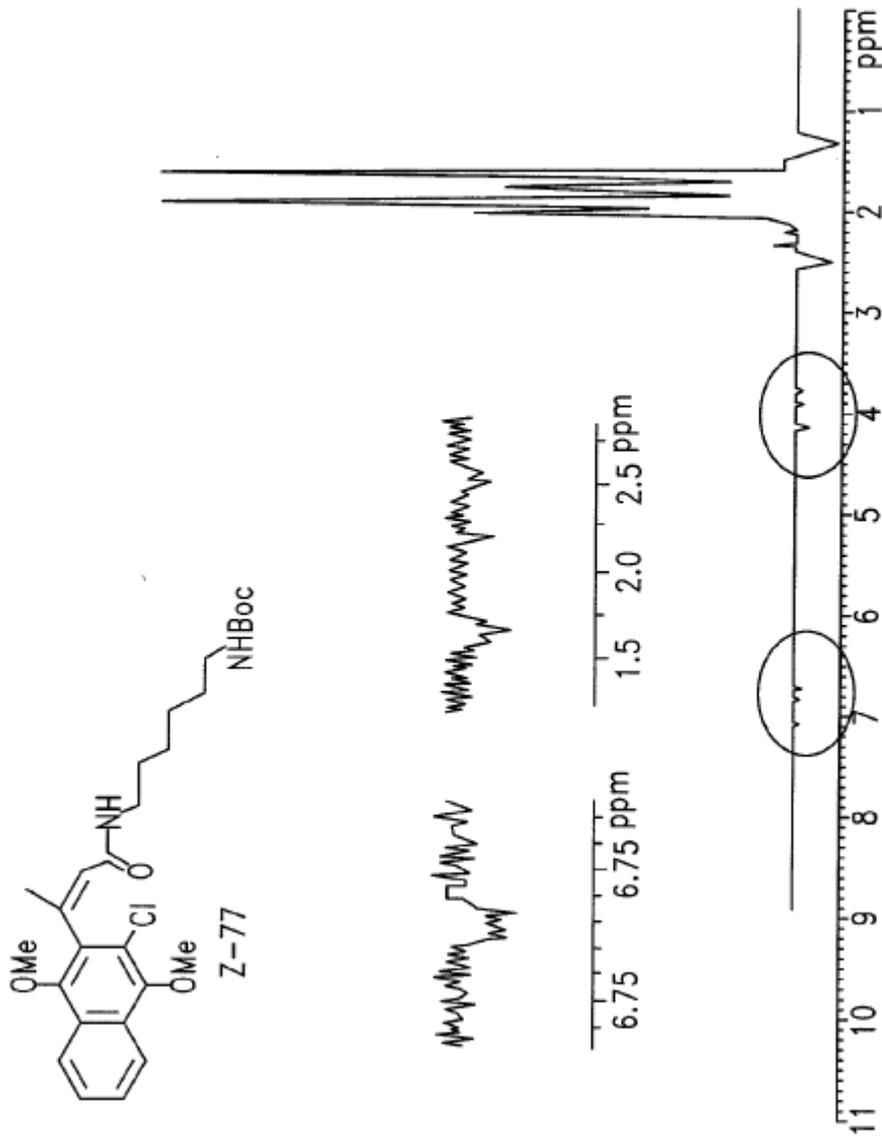


Fig. 16E

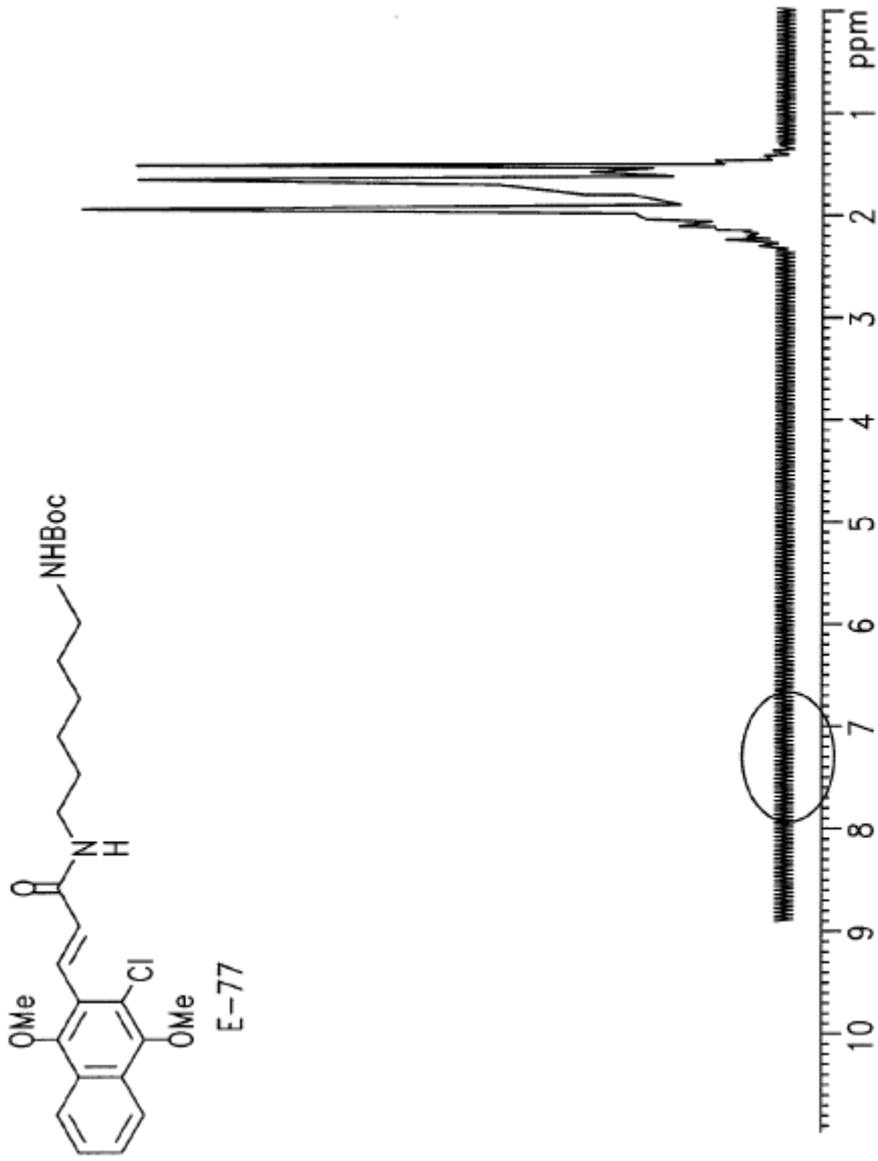


Fig. 16F

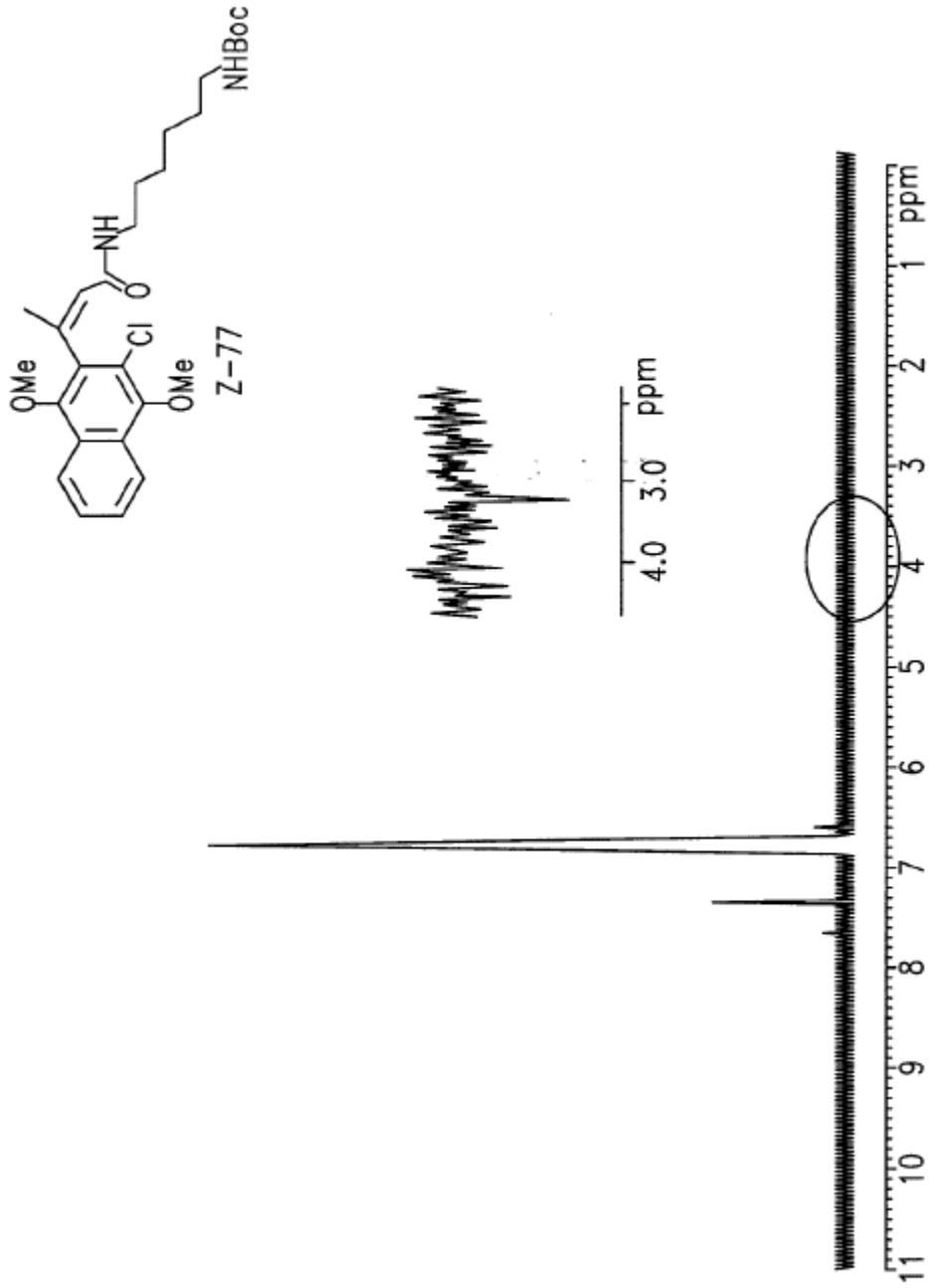


Fig. 16G

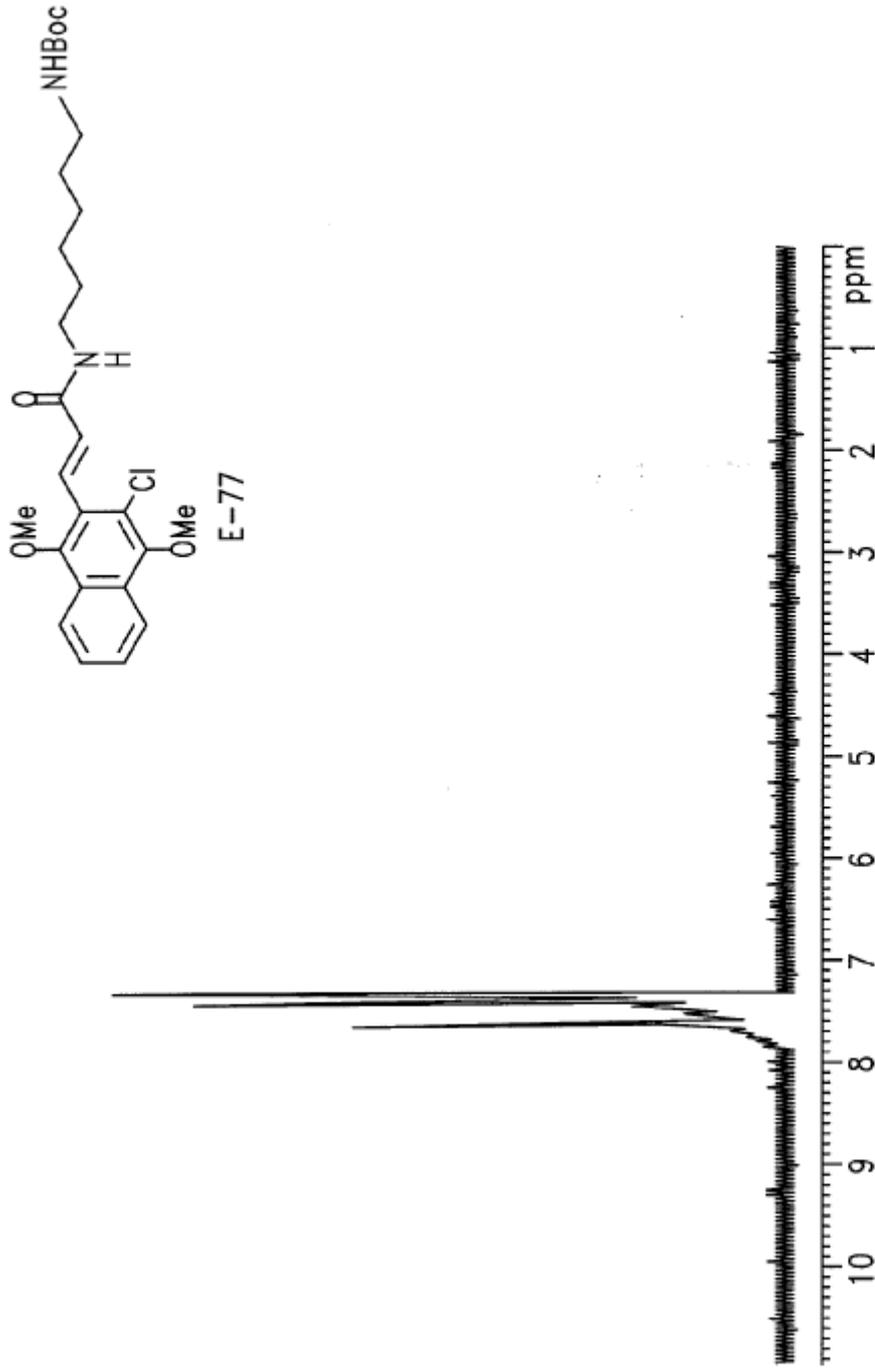


Fig. 16H

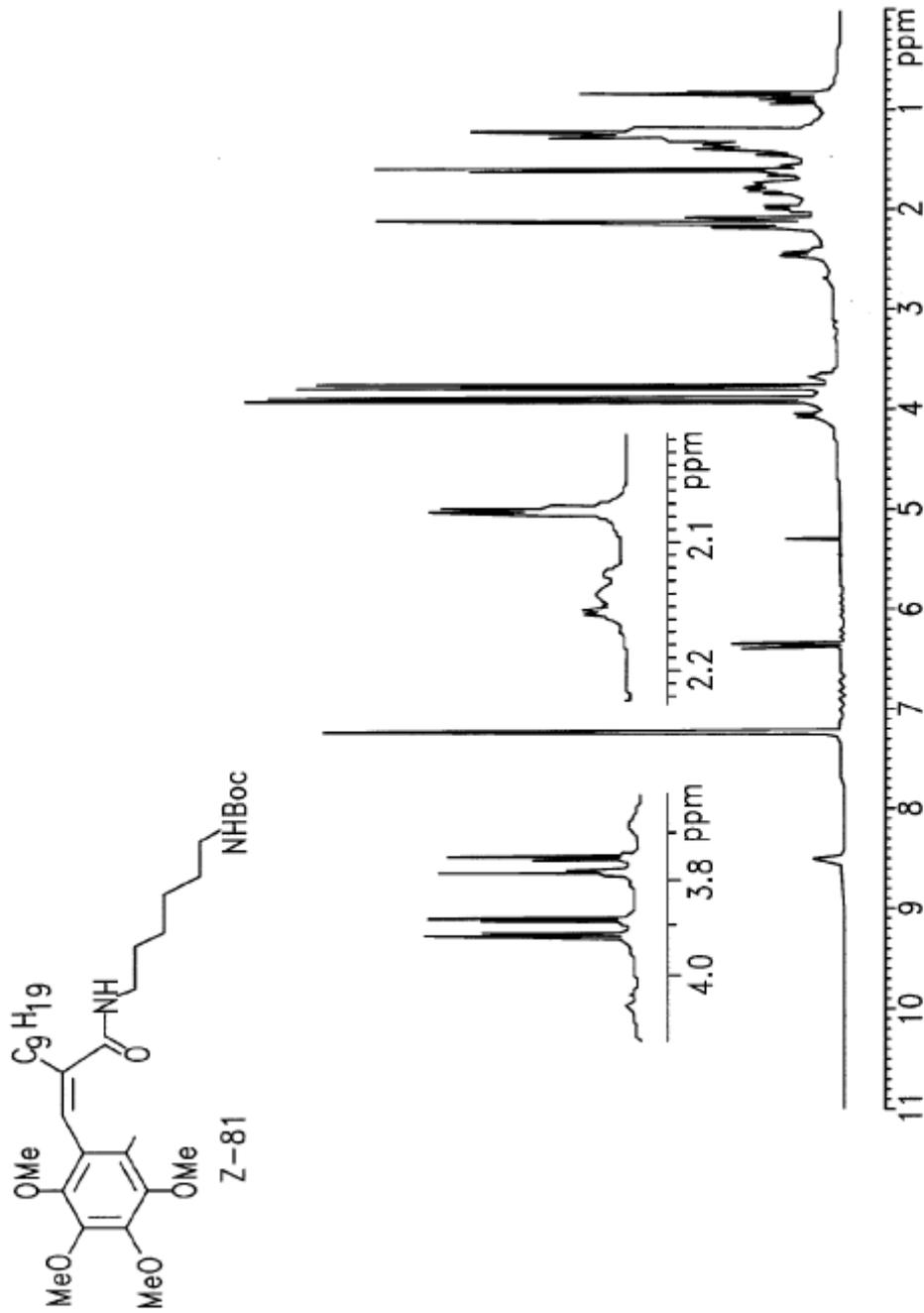


Fig. 17A

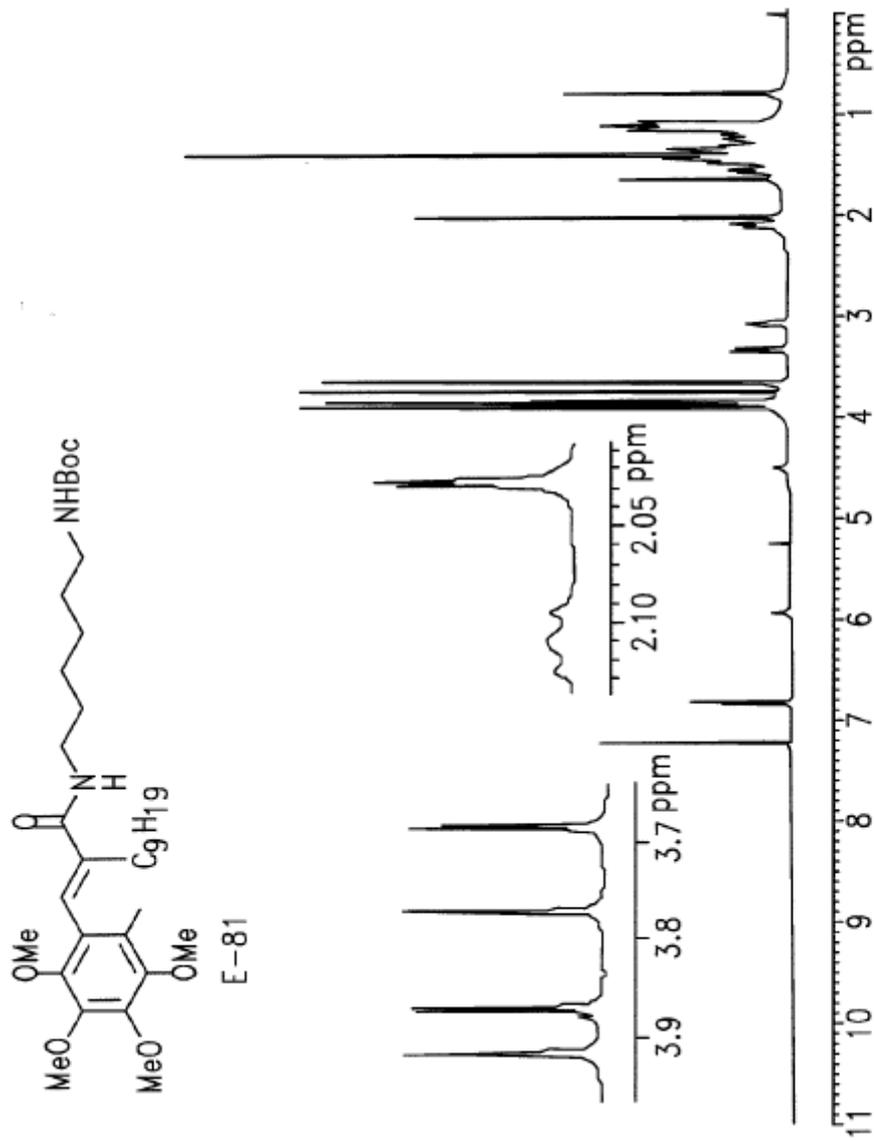


Fig. 17B

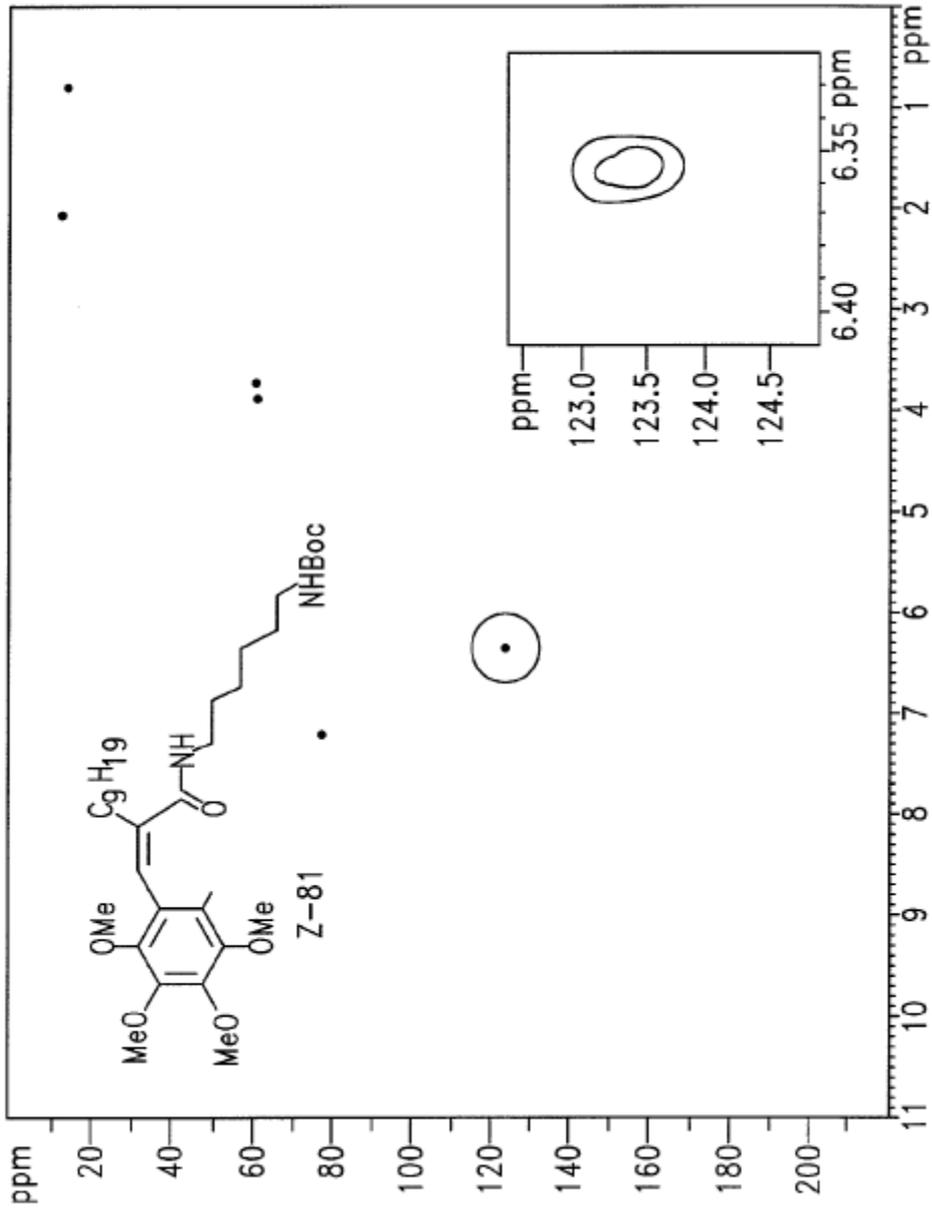


Fig. 17C

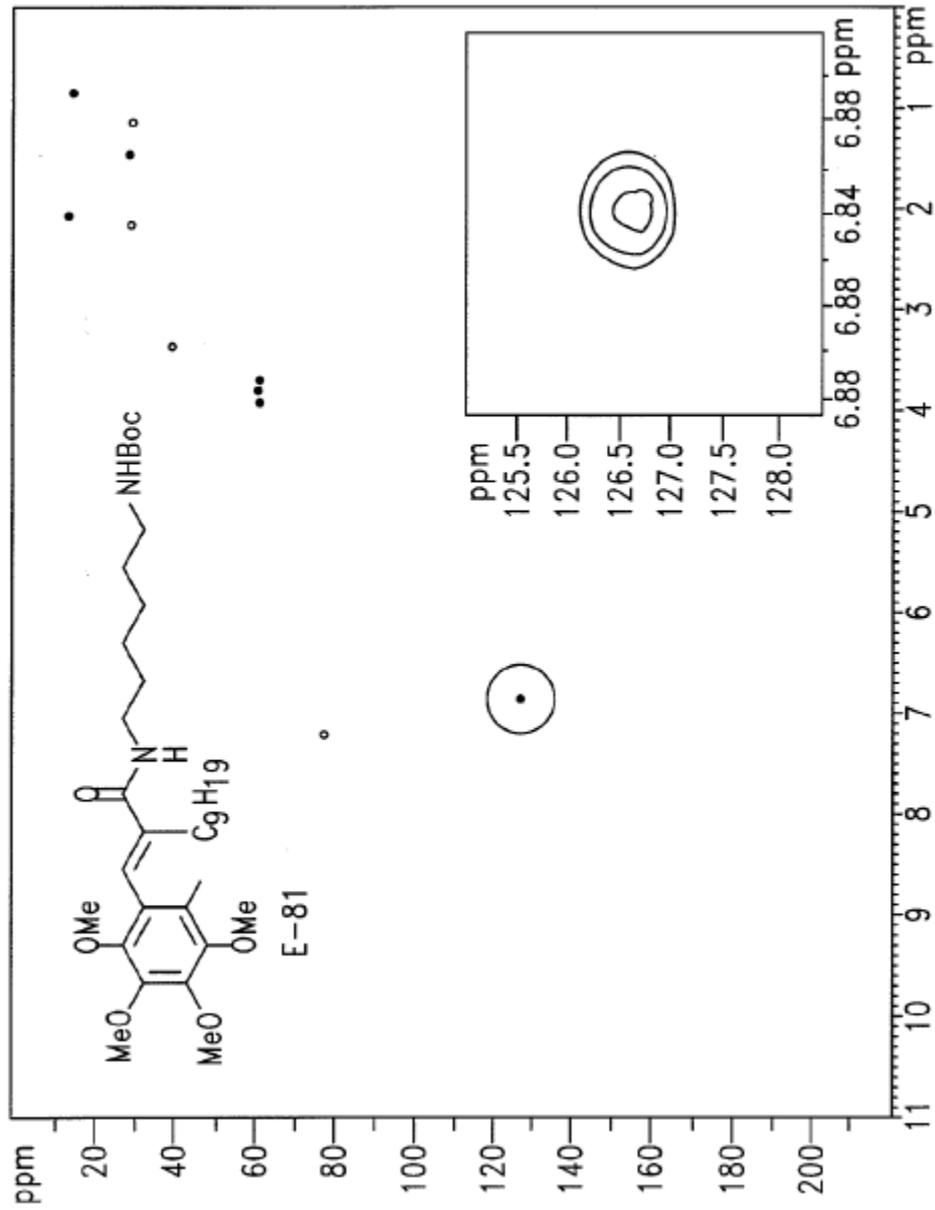


Fig. 17D

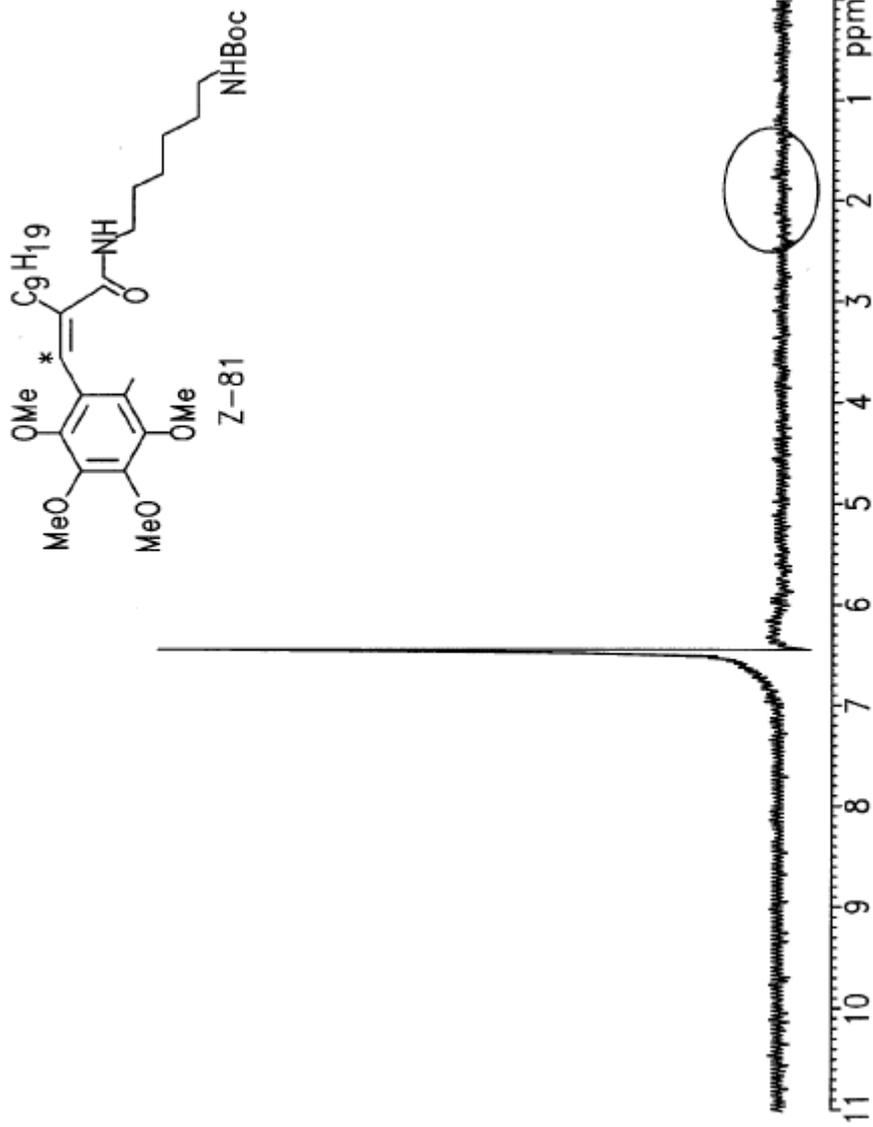


Fig. 17E

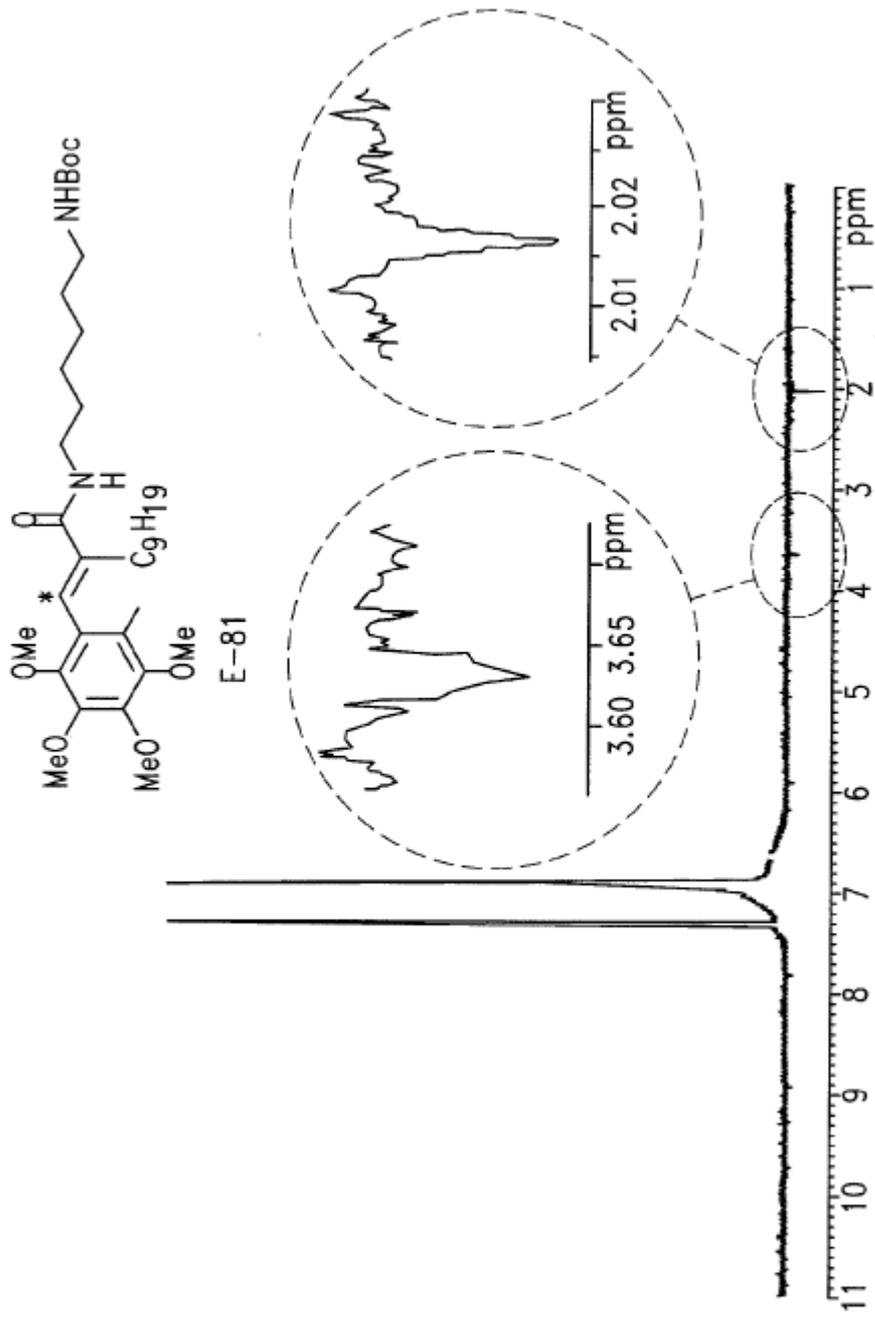


Fig. 17F

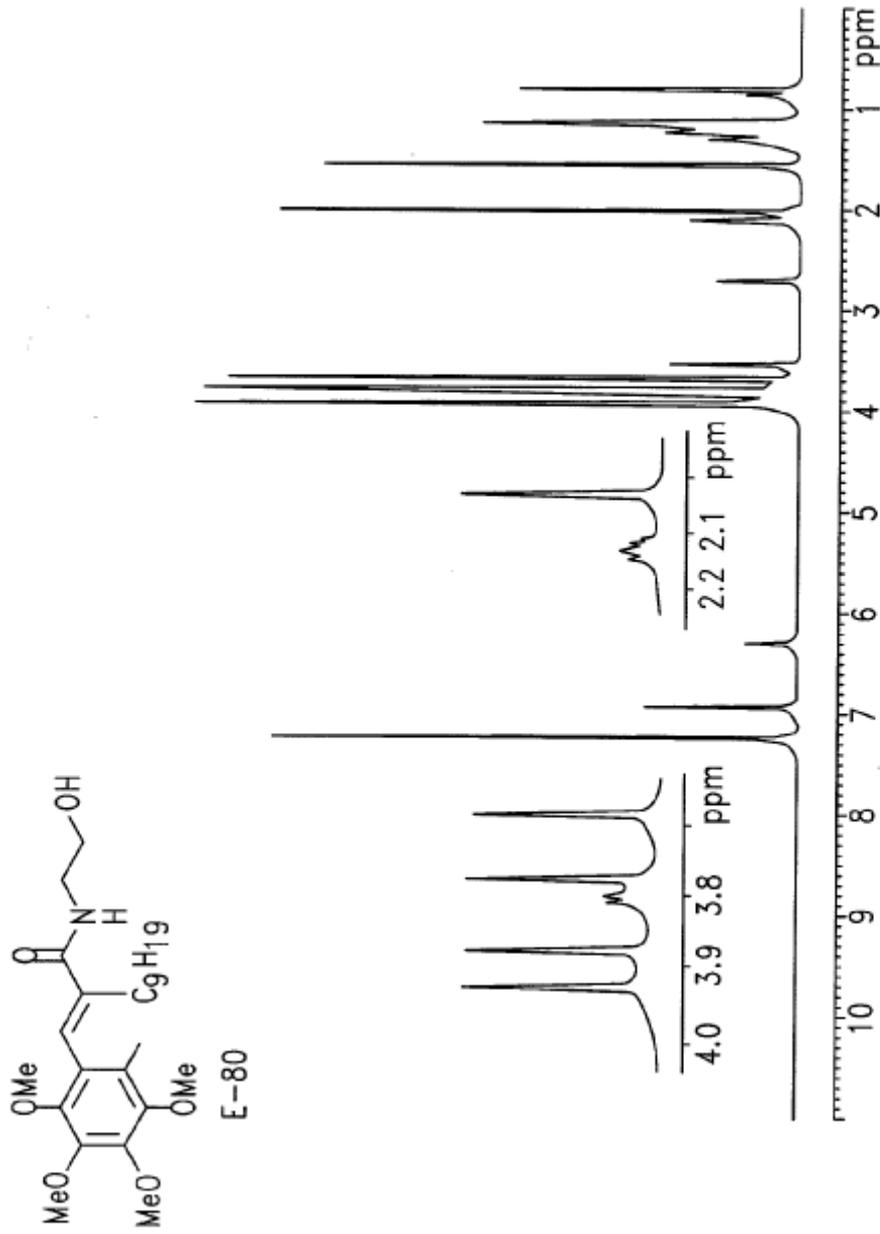


Fig. 17G

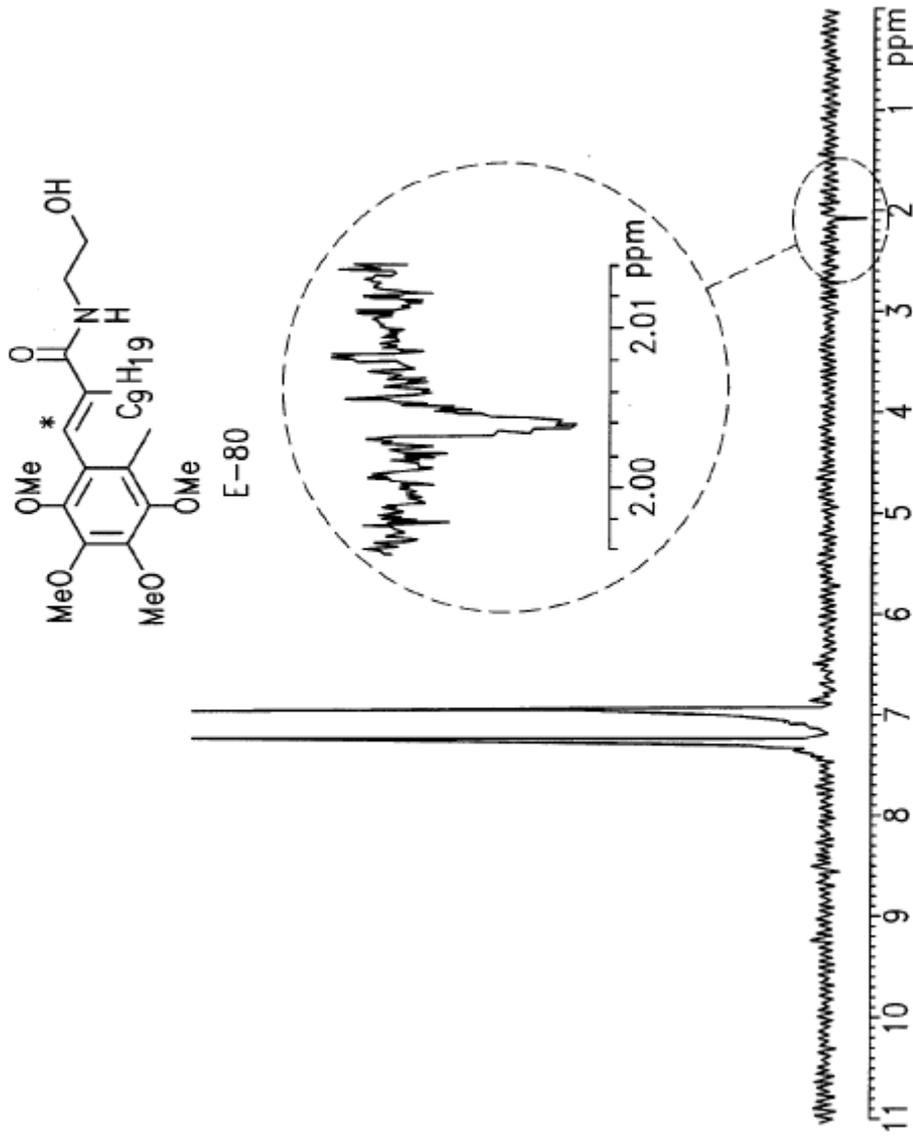


Fig. 17H