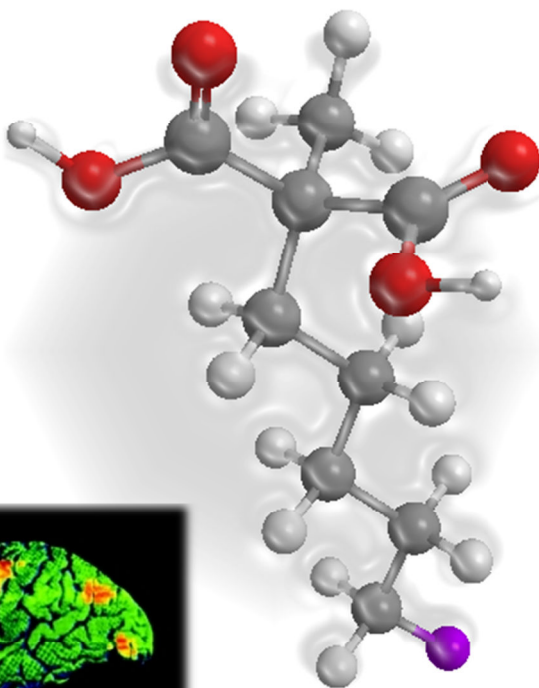
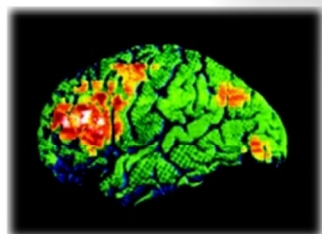




Universitat Autònoma de Barcelona
Facultat de Ciències
Departament de Química

Síntesi de la molècula ML-10 i del seu precursor immediat per poder obtenir ^{18}F -ML-10, d'ús en tècniques PET



Màster Universitari en Ciència i Tecnologia Químiques

Iniciació a la Recerca i Treball fi de Màster

Marc Renom Carrasco

Directors:

Dr. Ramón Alibés Arqués

Dr. Félix Busqué Sánchez

Bellaterra, 1 de setembre de 2011

Memòria presentada per superar el mòdul d'Iniciació a la Recerca i treball fi de màster corresponent al Màster Universitari Ciència i Tecnologia Químiques.

Marc Renom Carrasco

Vist i plau,

Dr. Ramón Alibés Arqués

Dr. Félix Busqué Sánchez

Bellaterra, 1 de setembre de 2011

AGRAÏMENTS

Realment no se quin ésser humà va decidir inventar un apartat d'agraïments, però va aconseguir que temés aquest apartat des del primer dia que vaig començar a escriure, així que a ell potser que no li agraeixi. Tot i així, hi ha moltes persones qui sí que haig d'estar agraït.

En primer lloc als Dr. Ramón Alibés i Dr. Félix Busqué, per haver confiat en mi per la realització d'aquest projecte i interessar-se en tot moment per l'evolució d'aquest, però sobretot pel bon humor, per les excursions i per preocupar-se tant com nosaltres per la resolució de les beques... (que encara estem esperant).

Voldria fer extensiu també aquest agraïment a la Dra. Marta Figueredo i al Dr. Pau Bayón pel seu tracte humà i recolzament, i al Dr. Raúl Herance per respondre de manera diligent els meus dubtes.

Ara ve el moment en el qual hauria de dir els noms de tota la gent que ha estat al meu costat durant aquest últim any, però m'ho estalviaré. Em quedo amb diferents coses de cadascun de vosaltres, ja sigui a nivell de química i *savoir-faire* al laboratori, com a nivell social, musical, emocional, esportiu o en qualsevol altre àmbit. Moltes gràcies a tots per aquests sopars, festes, rialles, i en definitiva, per les bones estones que m'heu fet passar.

Aquí hauria d'incloure també a totes les persones que han estat amb mi fora de l'ambient universitari, ja que la personalitat d'una persona es conforma en bona part per les amistats, i probablement sense ells no hagués arribat a aquest punt del camí. Així que gràcies a tota la gent que ha compartit part de la seva vida amb mi, des de que vaig néixer fins avui.

I per descomptat als meus pares! Els màxims responsables de que jo estigui en aquest món. Moltes gràcies per recolzar-me sempre en les meves decisions i per ajudar-me sempre que ho he necessitat.

Moltes gràcies a tots!

“Imagination is more important
than knowledge.”

A. Einstein

ÍNDIX

Abreviatures	p. III
Resum	p. IV
1. Introducció	p. 1
1.1. Història de la medicina nuclear	p. 1
1.2. Aspectes generals de la medicina nuclear	p. 2
1.3. <i>Positron Emission Tomography</i> (PET) i producció de ^{18}F	p. 4
1.4. El ^{18}F -ML-10: un traçador per l'apoptosi	p. 6
2. Objectius	p. 9
3. Resultats i discussió	p. 11
3.1. Precedents sintètics	p. 11
3.2. Anàlisi retrosintètica	p. 12
3.3. Obtenció del 2-metilmalonat di- <i>tert</i> -butílic	p. 13
3.4. Obtenció del 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat i del 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di- <i>tert</i> -butílics	p. 14
3.5. Obtenció de l'àcid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, ML-10	p. 17
4. Conclusions	p. 21
5. Part experimental	p. 23
5.1. Materials i mètodes de caracterització estructural	p. 23
5.2. Síntesi del 2-metilmalonat di- <i>tert</i> -butílic, 4	p. 24
5.3. Síntesi de l'1,5-bis(<i>p</i> -toluensulfonat)pentà, 5	p. 25
5.4. Síntesi de l'1,5-bis(metansulfonat)pentà, 6	p. 26

5.5. Síntesi del 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat di- <i>tert</i> -butílic, 1	p. 27
5.6. Síntesi del 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di- <i>tert</i> -butílic, 2	p. 28
5.7. Síntesi del 2-metil-2-(5-fluoropentil)malonat di- <i>tert</i> -butílic, 7	p. 30
5.8. Síntesi de l'àcid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, 3	p. 31
6. Bibliografia	p. 33

Annex

ABREVIATURES

ACN	Acetonitril
AcOEt	Acetat d'etil
AcOH	Àcid acètic
BuLi	<i>n</i> -butil liti
CH ₂ Cl ₂	Diclorometà
CH ₂ O	Formaldehid
Et ₃ N	Trietilamina
Et ₂ O	Èter dietílic
EtOH	Etanol
KHDMS	Bis(trimetilsilil)amidur potàssic
MeI	Iodur de metil
MsCl	Clorur de mesil
PPTS	<i>p</i> -toluensulfonat de piridini
t.a.	Temperatura ambient
TBAF	Fluorur de tetra- <i>n</i> -butilamoni
TFA	Àcid trifluoroacètic
THF	Tetrahidrofuran
TsCl	Clorur de tosil
¹ H-RMN	Ressonància magnètica nuclear de protó
¹³ C-RMN	Ressonància magnètica nuclear de carboni
¹⁹ F-RMN	Ressonància magnètica nuclear de fluor
COSY	Espectroscòpia de correlació
δ	Desplaçament químic
IR (ATR)	Espectroscòpia d'infraroig amb reflexió total atenuada
HMBC	Correlació heteronuclear a llarga distància
HMRS	Espectroscòpia de masses d'alta resolució
HSQC	Correlació heteronuclear de quàntum simple
R _f	Factor de retenció

RESUM

El ^{18}F -ML-10 (Figura 1) és un radiofàrmac utilitzat com a traçador de cèl·lules apoptòtiques mitjançant la tècnica del PET (*Positron Emission Tomography*). En el present treball de recerca s'ha dut a terme la síntesi de dos precursors del ^{18}F -ML-10, **1** i **2**, i del producte final no marcat isotòpicament, el ML-10, **3**.

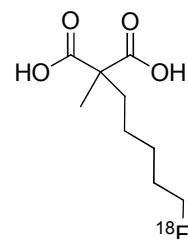
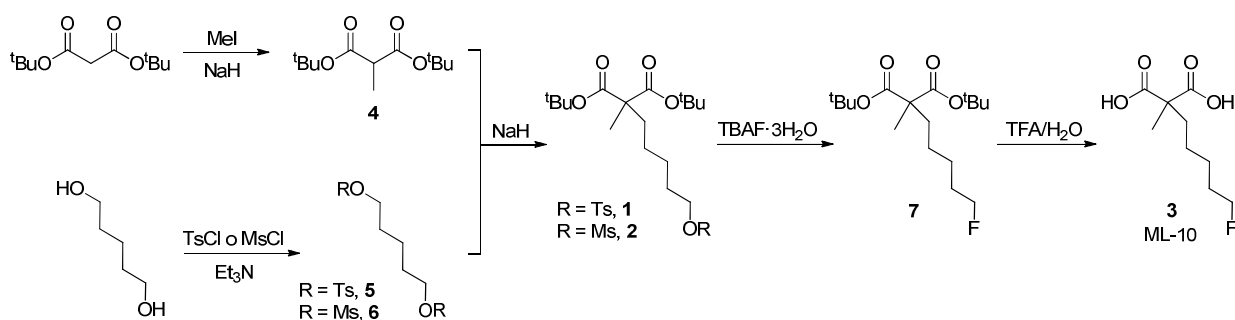


Figura 1.
 ^{18}F -ML-10.

S'ha plantejat una síntesi convergent per l'obtenció del compost final **3**, partint del malonat de di-*tert*-butil i l'1,5-pentandiòl (Esquema 1).



Esquema 1. Síntesi realitzada en el present treball.

Tant el precursor tosilat **1** com el mesilat **2** s'han sintetitzat en 3 etapes amb un 29% i un 36% de rendiment, respectivament. El compost **3**, utilitzat com a referència en la síntesi del ^{18}F -ML-10, s'ha sintetitzat en 2 etapes a partir del precursor **2** amb un rendiment total de la síntesi del 31%. El procés de radiomarcació s'està portant a terme a l'Institut d'Alta Tecnologia – Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (IAT-PRBB), on posteriorment es faran estudis neurològics i oncològics on el seguiment de processos apoptòtics és clau.

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Història de la medicina nuclear

L'estudi de la **radioactivitat natural** començà a França a finals del s. XIX, quan Henri Becquerel, a l'any 1896, descobrí accidentalment que certes sals d'urani emetien radiacions espontàniament. Després de diferents proves, Becquerel va comprovar que aquesta nova propietat de la matèria era intrínseca de l'àtom i no de la forma física o química en la qual es trobessin els àtoms. L'estudi d'aquest fenomen i el seu desenvolupament es deu gairebé exclusivament al matrimoni de Marie i Pierre Curie. Però no va ser fins l'any 1934, quan Jean Frédéric Joliot-Curie i Irène Joliot-Curie, van descobrir la **radioactivitat artificial** o induïda, observant que el bombardeig de nuclis de bor i alumini amb partícules alfa donava lloc a nous nuclis radioactius.¹

Es considera que la medicina nuclear va tenir el seu inici a l'any 1946, quan va ser publicat un tractament contra el càncer de tiroides amb ^{131}I , un isòtop radioactiu del iode.² La glàndula tiroide té gran afinitat pel iodur, d'aquesta manera l'alta radiació deguda a l'acumulació d'aquest isòtop permet la destrucció de les cèl·lules cancerígenes.³

Durant els anys 50, el descobriment de nous radionúclids va permetre que els usos clínics de la medicina nuclear s'estenguessin de manera considerable. Però l'avenç més important va ser el desenvolupament del primer generador de $^{99\text{m}}\text{Tc}$, a l'any 1959, que permetia una ràpida preparació d'aquest isòtop metastable de tecneci, emissor de radiació gamma, a partir del ^{99}Mo .⁴

L'evolució d'aquesta especialitat mèdica, reconeguda des de l'any 1972, ha donat lloc al disseny de nous radiofàrmacs per a la visualització d'òrgans concrets del cos i al descobriment de noves tècniques d'imatge tridimensionals com són la tomografia computeritzada d'emissió de fotons individuals (SPECT), a l'any 1963, o la

¹ Edwards, C. L. *Semin. Nucl. Med.* **1979**, 3, 186-189.

² Heeg, M. J.; Jurisson, S. S. *Acc. Chem. Res.* **1999**, 32, 1053-1060.

³ Society of Nuclear Medicine. *What is nuclear Medicine?* [fitxer en línia].
<http://interactive.snm.org/docs/whatisnucmed.pdf> [consulta: juny de 2011]

⁴ Reichert, D. E.; Lewis, J. S.; Anderson, C. J. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, 184, 3-66.

tomografia d'emissió de positrons (PET), a l'any 1975. Aquestes tècniques en combinació amb la tomografia axial computeritzada (TAC) o la tomografia per ressonància magnètica (MRI) estant tenint actualment una gran importància en la diagnosi del càncer i altres malalties que impliquen alteracions metabòliques.^{3,5}

1.2. Aspectes generals de la medicina nuclear

La **medicina nuclear** està definida pel Consejo Nacional de Especialidades Médicas com: “l'especialitat que utilitza els isòtops radioactius, les radiacions nuclears, les variacions electromagnètiques dels components del nucli atòmic i tècniques biofísiques afins per la prevenció, diagnòstic, teràpia i investigació mèdica. Inclou l'estudi dels fenòmens biològics originats per la utilització dels isòtops radioactius, així com la utilització de ciclotrons i reactors nuclears en la producció de radionúclids d'ús mèdic, i l'aplicació de sistemes de reconstrucció d'imatge i d'elaboració de dades”.⁵

Les tècniques d'imatge de medicina nuclear permeten monitoritzar les funcions bioquímiques i fisiològiques *in vivo*, de forma indolora i a baix cost. D'aquesta manera es pot obtenir informació de la funció i estructura dels òrgans sense necessitat de recórrer a la cirurgia o a tests de diagnosi més cars o de major risc. D'altres tècniques d'imatge com la MRI o els ultrasons mostren característiques anatòmiques amb millor resolució, però proporcionen una informació molt limitada pel que fa al funcionament biològic.^{3,6}

Els compostos radioactius en medicina poden ser utilitzats per diagnosi, generant imatges d'alta qualitat de l'interior de l'organisme, o per teràpia, irradiant tumors de forma selectiva. La funció de cada radionúclid vindrà determinada pel tipus de radiacions ionitzants que emetin (Figura 2):

⁵ Consejo Nacional de Especialidades Médicas, *Guía de Formación de Especialistas. Medicina Nuclear. 1996.*

⁶ Jurisson, S.; Berning, D.; Jia, W.; Ma, D. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1137-1156.

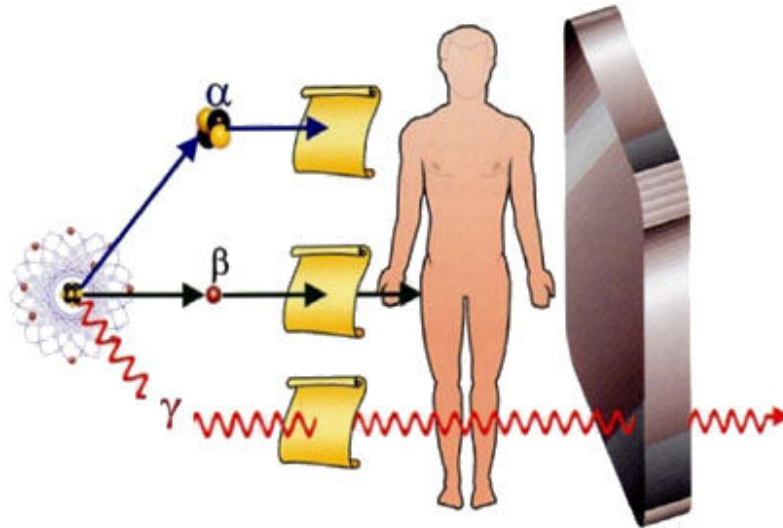
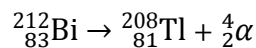
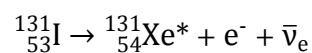


Figura 2. Poder de penetració en la matèria de les radiacions alfa (α), beta (β) i gamma (γ).

- Partícules **alfa** (α): són nuclis d'He. Durant els últims anys s'han investigat molt en teràpia, ja que ofereixen la possibilitat d'irradiar cèl·lules cancerígenes més selectivament degut a la seva baixa capacitat de penetració (50-80 μm).⁷



- Desintegració **beta** (β): es classifiquen en funció de la partícula emesa durant la desintegració. Si s'emet un electró (e^-) i un antineutrí ($\bar{\nu}_e$) s'anomena decaïment β^- , el qual té un poder de penetració mig, i s'aplica en teràpia tumoral.⁸



En canvi, si la partícula emesa és un positró (e^+) juntament amb un neutrí (ν_e), s'anomena decaïment β^+ .⁸ En aquest cas, el positró emès interacciona amb un electró i es produeix el fenomen de l'aniquilació (Figura 3), el qual consisteix en la desaparició d'ambdues partícules i l'emissió simultània de dos fotons gamma

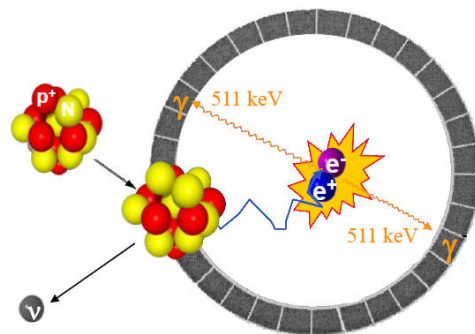
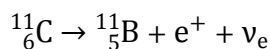


Figura 3. Aniquilació electró-positró i detecció dels raigs γ .

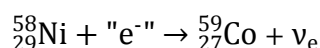
⁷ a) Yong, K.; Brechbiel, M. W. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6068-6076. b) Brechbiel, M. W. *Dalton Trans.* **2007**, 4918-4928.

⁸ Rasmussen, J. O.; Steinberg, P. E. *Radioactivity*. [Illinois]: Encyclopædia Britannica, 2006. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/489089/radioactivity> [consulta: juny 2011].

de 511 keV en un angle de 180°. Aquest fenomen és la base del PET, ja que permet localitzar i quantificar l'emissió, podent fer així una diagnosi de la zona estudiada.⁹



Existeix un tercer fenomen, que competeix amb el decaïment β^+ , anomenat captura electrònica. En aquest procés, un protó del nucli captura un electró de les capes més internes donant lloc a un neutró i emetent un neutrí. Aquest fenomen també s'aprofita en medicina nuclear, ja que el nou element format es troba en un estat excitat, que al relaxar-se pot emetre raigs X, electrons Auger o raigs gamma que poden ser detectats.⁸



- Radiacions **gamma** (γ). Un nucli que acaba d'experimentar una desintegració alfa o beta (o una fissió) pot quedar en un estat excitat, i per relaxar-se emet un fotó gamma. L'alt poder de penetració d'aquesta radiació fa que pugui travessar el cos humà sense ser absorbida, permetent així la seva utilització en diagnosi.⁸



1.3. Positron Emission Tomography (PET) i producció de ${}^{18}\text{F}$

El **PET** és una tècnica de diagnosi no invasiva que permet crear una imatge bi- o tridimensional de processos que tenen lloc a l'interior de l'organisme. La imatge s'obté mitjançant la injecció d'un radiofàrmac emissor de positrons a un pacient, el qual s'acumula de manera selectiva en una zona de l'organisme. Els positrons emesos pel radionúclid s'aniquilen a l'entrar en contacte amb un electró, emetent dos raigs γ en sentits oposats, que són detectats per un conjunt de tomògrafs. A partir de la detecció d'aquest procés és possible reconstruir una imatge per ordinador (Figura 4).

⁹ Ametamey, S. M.; Honer, M.; Schubiger, P. A. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1501-1516.

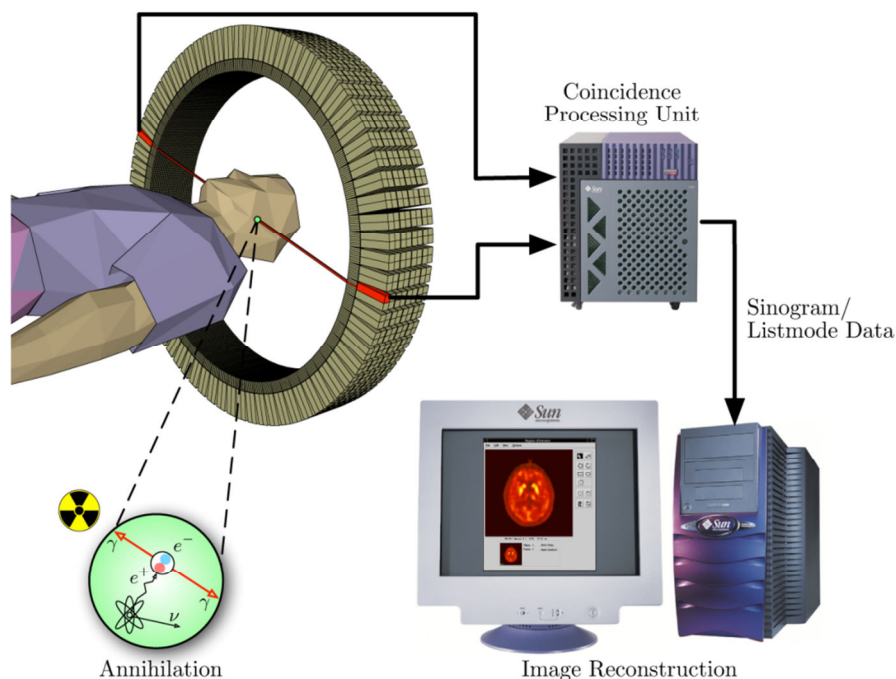


Figura 4. Esquema de l'obtenció d'imatges per PET.

Un dels grans avantatges del PET sobre altres tècniques d'imatge de medicina nuclear és que es poden emprar isòtops radioactius d'elements habituals en molècules bioorgàniques, com són el ^{11}C , el ^{13}N i el ^{15}O , d'aquesta manera les molècules conserven les mateixes característiques bio- i fisicoquímiques que si no estiguessin marcades. Tot i així, l'isòtop més utilitzat pel PET és el ^{18}F , que tot i no ser un constituent habitual de les biomolècules, es sol utilitzar col·locant-lo en el lloc d'un hidrogen o un grup hidroxil, però cal tenir en compte que el fluor és un àtom molt electronegatiu i pot alterar les propietats electròniques, la lipofilitat i les característiques biològiques de la molècula.⁹

El ^{18}F és l'isòtop amb millors característiques físiques per ser utilitzat en PET, ja que la baixa energia dels positrons emesos dona una alta resolució a la tècnica. A més, el seu temps de vida mitja de 110 min és òptim per radiosíntesis més complexes, estudis *in vivo* més llargs i la comercialització dels radiofàrmacs a centres que no disposen d'un ciclotró propi.⁹

La preparació del ^{18}F es fa en funció de si es vol que sigui electròfil o nucleòfil. Per radiofluoracions electrofíliques es fa la reacció de $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$, que consisteix a bombardejar àtoms de ^{18}O amb protons en un ciclotró, utilitzant $^{18}\text{O}_2$ com a reactiu de partida. A continuació es captura el ^{18}F generat en forma de $^{18}\text{F}_2$ i normalment es converteix en agents fluorinants menys reactius i més selectius, com l'hipofluorit

d'acetil, el difluorur de xenó o fluorosulfonamides. La [¹⁸F]FDOPA (Figura 5A) és el radiofàrmac més habitual sintetitzat a partir d'una radiofluoració electrofílica.



En el cas de radiofluoracions nucleofíliques també es fa la reacció de ¹⁸O(p,n)¹⁸F, però utilitzant aigua enriquida amb ¹⁸O com a reactiu de partida. Després d'eliminar tota l'aigua, s'activa el ¹⁸F⁻ utilitzant el catió tetra-*n*-butilamoni o criptands, com el [2.2.2]criptand (Figura 5B), en combinació amb sals alcalines. La 2-fluorodesoxiglucosa, ¹⁸F-FDG (Figura 5C), el radiofàrmac més utilitzat en PET, és un exemple de síntesi a partir d'una radiofluoració nucleòfila.⁹

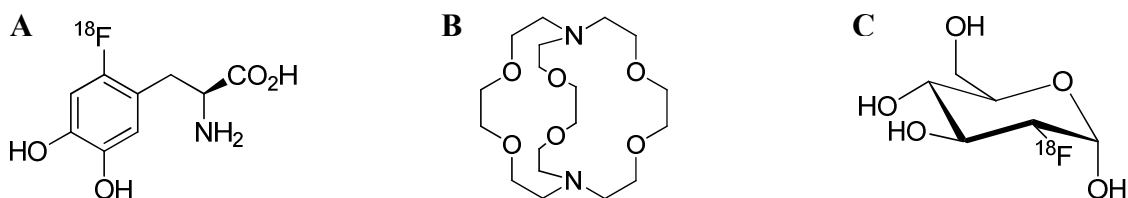


Figura 5. (A) [¹⁸F]FDOPA. (B) [2.2.2]criptand. (C) ¹⁸F-FDG.

1.4. El ¹⁸F-ML-10: un traçador per l'apoptosi

L'apoptosi, o mort cel·lular programada, és inherent a totes les cèl·lules i juga un paper important en l'homeòstasi dels teixits sans i en l'etiologia o patogènesi de nombrosos trastorns mèdics. L'obtenció d'imatges d'aquest procés pot ajudar a millorar diagnòstics, a monitoritzar l'evolució de malalties i a fer el seguiment de l'eficàcia del tractament per un gran nombre de malalties, com infarts de miocardi, infarts cerebrals o càncers. Durant l'última dècada s'han assajat diferents radiofàrmacs per obtenir imatges d'aquest procés mitjançant la tècnica de l'SPECT, però tots presenten alguna limitació en termes de biodistribució o immunogenicitat.¹⁰

A l'any 2008 es presenta el primer traçador per l'apoptosi amb la tècnica del PET, l'àcid 5-fluoropentil-2-metil-malonic marcat amb ¹⁸F, també anomenat ¹⁸F-ML-10 (Figura 6A). Aquest compost és un producte de disseny, sintetitzat racionalment per analogia amb un aminoàcid poc comú, l'àcid γ-carboxiglutàmic o Gla (Figura 6B), el

¹⁰ Reshef, A.; Shirvan, A.; Waterhouse, R. N.; Grimberg, H.; Levin, G.; Cohen, A.; Ulysse, L. G.; Friedman, G.; Antoni, G.; Ziv, I. *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 1520-1528.

qual té un paper destacat en els processos apoptòtics. A més, pel seu disseny es van tenir en compte les següents consideracions:

- Introducció d'una cadena alquílica, fent del ^{18}F -ML-10 un compost amfipàtic i permetent així la seva interacció amb la membrana fosfolipídica.
- Una llargada de cadena alquílica de 5 àtoms de carboni, optimitzada en base a consideracions farmacocinètiques.
- La presència d'un grup metílic a la posició alfa, per inhibir el seu metabolisme *in vivo*.
- La incorporació d'un àtom de fluor per permetre radiomarcacions amb ^{18}F .

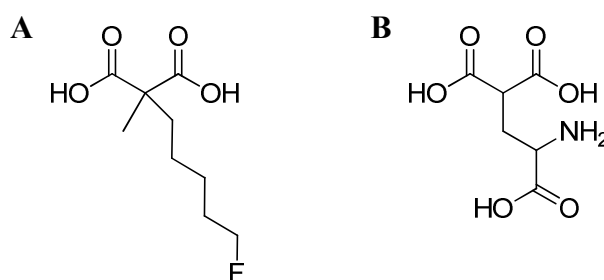


Figura 6. (A) ^{18}F -ML-10. (B) Àcid γ -carboxiglutàmic (Gla).

Aquest compost de disseny respon als desordres fosfolipídics i a les alteracions del potencial que es produeixen a la membrana plasmàtica de les cèl·lules apoptòtiques. Així és capaç d'acumular-se selectivament en aquestes cèl·lules, distingint-les de cèl·lules sanes o de cèl·lules necròtiques. A més, ha demostrat tenir unes bones característiques de biodistribució i una alta estabilitat, ja que no és metabolitzat ni a la sang ni al cervell.^{10,11} Durant la realització d'aquest treball, ha aparegut un treball en la literatura on s'han dut a terme assajos de dosimetria, biodistribució, estabilitat i seguretat amb humans sans, obtenint molt bons resultats en tots els casos.¹²

Tot i així, aquest radiofàrmac encara ha de ser provat en diferents àmbits on l'apòptosi pot tenir un paper rellevant, per aquesta raó es durà a terme la síntesi del seu precursor, per posteriorment poder sintetitzar el ^{18}F -ML-10 i dur a terme els estudis corresponents.

¹¹ Cohen, A.; Shirvan, A.; Levin, G.; Grimberg, H.; Reshef, A.; Ziv, I. *Cell Res.* **2009**, *19*, 625-637.

¹² Höglund, J.; Shirvan, A.; Antoni, G.; Gustavsson, S. A.; Langström, B.; Ringheim, A.; Sörensen, J.; Ben-Ami, M.; Ziv, I. *J. Nucl. Med.* **2011**, *52*, 720-725.

2. OBJECTIUS

En el present treball de recerca es pretén obtenir un precursor que permeti la posterior síntesi del ^{18}F -ML-10 (Figura 7C) a partir d'una radiofluoració nucleofílica. En aquest cas, en col·laboració amb el grup del Dr. Raül Herance de l'Institut d'Alta Tecnologia – Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (IAT-PRBB), es pretén utilitzar aquest radiofàrmac per estudiar tres situacions: i) com transcorre l'apoptosi en el cas d'un accident cerebrovascular, ii) els processos apoptòtics provocats per una inflamació pulmonar, iii) fer un control de l'apoptosi provocada per diferents quimioterapèutics utilitzats pel tractament del càncer.

En aquest context, els objectius marcats per aquest treball de recerca han estat els següents:

1. Sintetitzar un precursor (Figura 7A) que permeti la posterior síntesi del ^{18}F -ML-10 de manera fàcil i ràpida.
2. Sintetitzar el ML-10 (Figura 7B) per utilitzar-lo com a producte de referència en la síntesi del ^{18}F -ML-10.

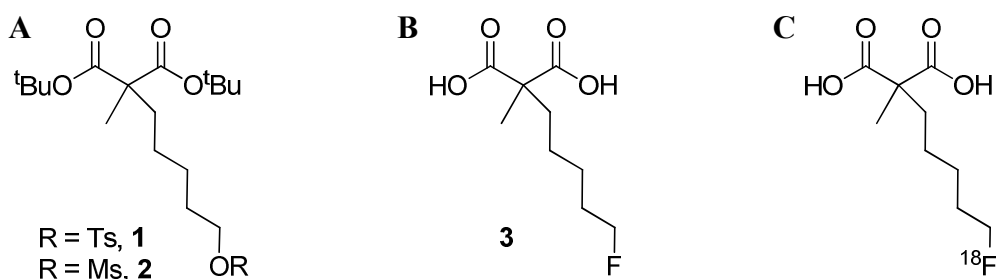
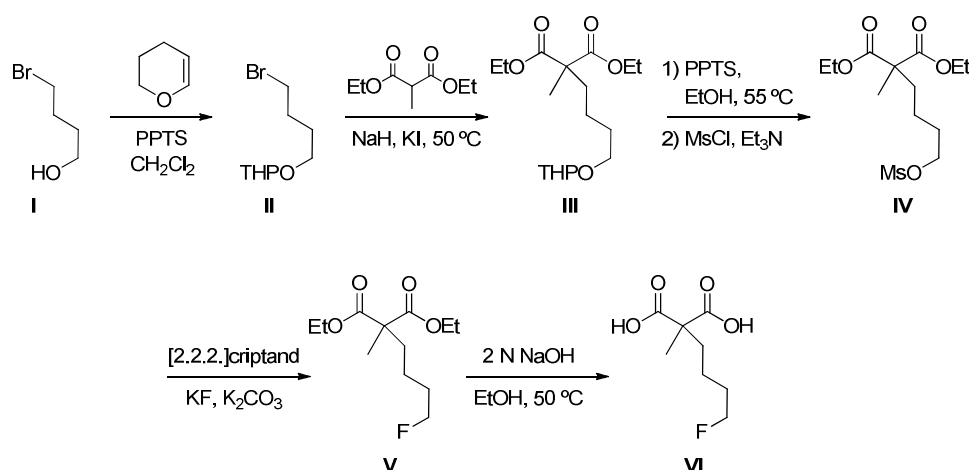


Figura 7. (A) Precursors del ^{18}F -ML-10. (B) ML-10. (C) ^{18}F -ML-10.

3. RESULTATS I DISCUSSIÓ

3.1. Precedents sintètics

A l'any 2008 es patentava¹³ la síntesi d'un producte molt similar al ML-10, amb l'única diferència de que conté un àtom de carboni menys a la cadena fluorada. La síntesi s'inicia amb la protecció de l'hidroxil del 4-bromo-1-butanol, **I**, en forma d'èter tetrahidropiranílic, i la posterior reacció d'aquest amb l'anió del 2-metilmalonat dietílic per donar el derivat **III** (Esquema 2). A continuació es duu a terme la desprotecció de l'alcohol i la formació del mesilat **IV**. Per últim es substitueix el grup mesilat per un àtom de fluor i s'hidrolitzen els èsters etílics. D'aquesta manera s'obté el compost **VI** en 6 etapes i un 17% de rendiment.



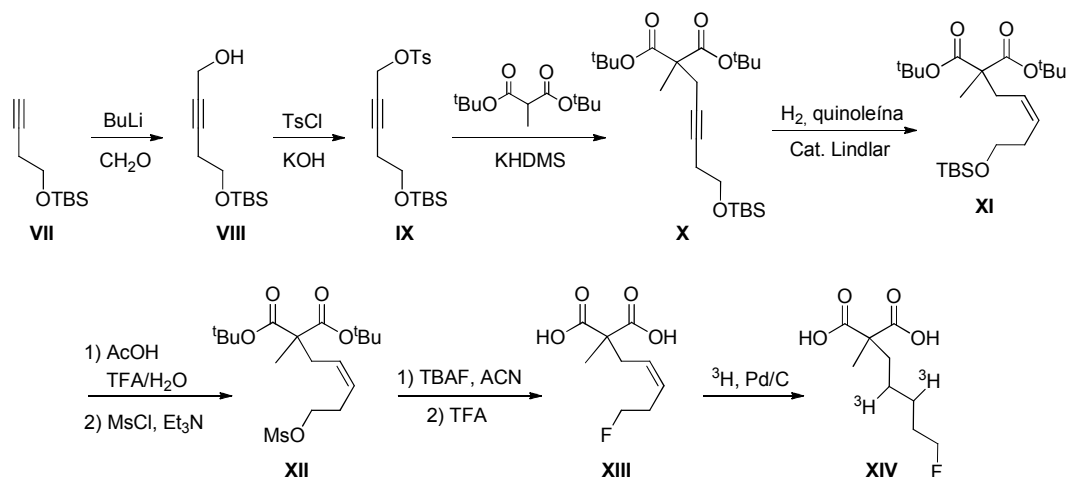
Esquema 2. Síntesi patentada d'un anàleg del ML-10.

L'any 2009, en una publicació¹¹ on s'expliquen diverses proves realitzades amb el ML-10, apareix la síntesi d'aquest compost marcat amb triti, ³H-ML-10. La síntesi s'inicia amb la transformació del derivat comercial 3-butin-1-ol protegit, **VII**, en l'alcohol **VIII**, i a continuació es fa reaccionar amb clorur de tosil per obtenir el compost **IX** (Esquema 3). La reacció d'aquest amb l'anió del 2-metilmalonat di-*tert*-butílic dona lloc a l'intermedi clau **X**, al qual se li redueix el triple enllaç a doble, es desprotegeix l'alcohol i es mesila originant el compost **XII**. El grup mesil introduït es

¹³ NST NEUROSURIVAL TECHNOLOGIES LTD; APOSENSE LTD. "Perturbed Membrane-Binding Compounds And Methods Of Using The Same". Inventors: Ilan, Z.; Anat, S. Estats Units, US 2008279774. 2008.

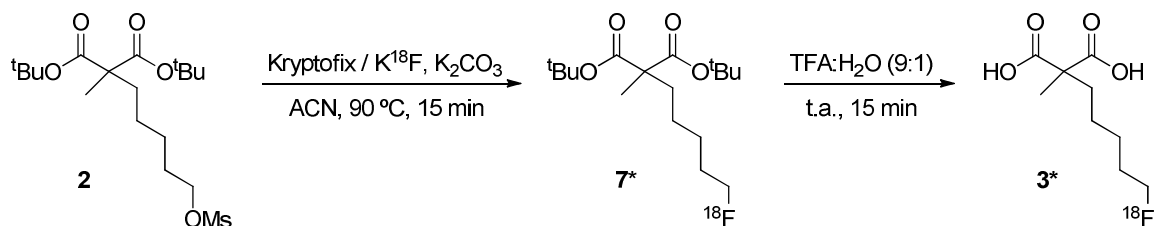
3. Resultats i discussió

substitueix per un àtom de fluor i es procedeix a la hidròlisi dels èsters *tert*-butílics. Finalment es redueix el doble enllaç de **XIII** en presència de triti, obtenint així el producte desitjat **XIV**. En aquest cas no apareixen els rendiments de les reaccions ni el rendiment global.



Esquema 3. Síntesi del ³H-ML-10.

Finalment, mencionar que els últims dos passos de la síntesi del ¹⁸F-ML-10 estan descrits de manera molt breu en un dels estudis amb aquest radiofàrmac.¹⁰ L'obtenció d'aquest es realitza a partir d'una substitució nucleofílica sobre el 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, utilitzant el [2.2.2.]criptand amb K¹⁸F (Esquema 4). A continuació s'hidrolitzen els èsters *tert*-butílics amb trifluoroacètic - H₂O, obtenint així el ¹⁸F-ML-10 amb un rendiment d'aquestes dues etapes d'entre el 30 i el 40%. El procés d'obtenció del precursor mesilat no està descrit ni referenciat a l'article.

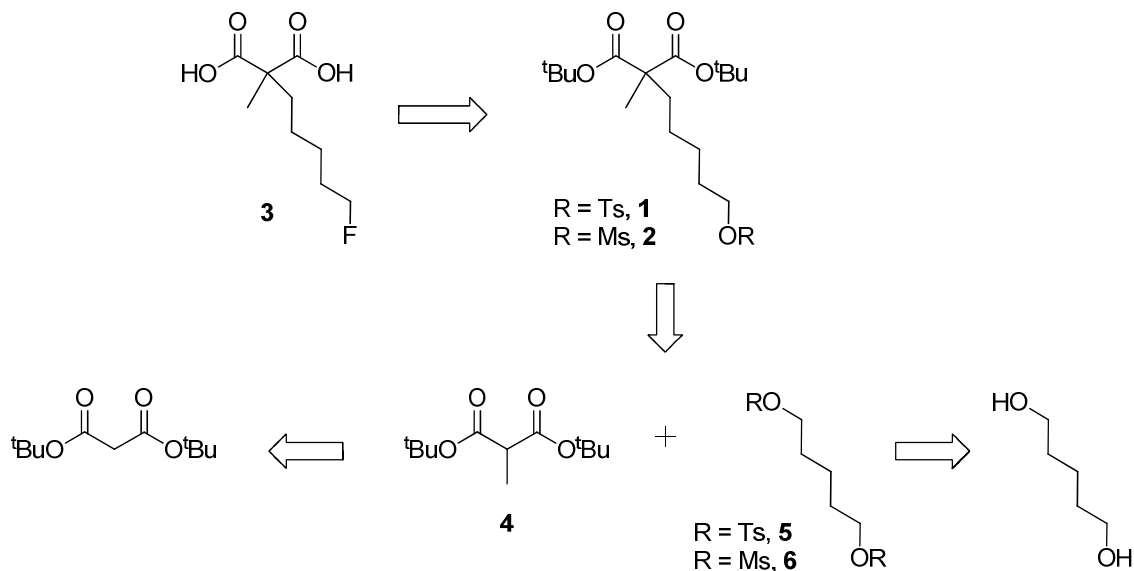


Esquema 4: Radiomarcació del ¹⁸F-ML-10 a partir del precursor mesilat.

3.2. Anàlisi retrosintètica

Considerant aquests precedents, es va decidir dur a terme la síntesi dels precursors **1** i **2** i del ML-10, **3**, seguint la seqüència retrosintètica plantejada a

l'Esquema 5, a partir del malonat di-*tert*-butílic i de l'1,5-pentandiol. D'aquesta manera el compost fluorat **3** s'obtidria a partir del corresponent sulfonat **1** o **2**, els quals s'obtidrien per alquilació del metilmalonat **4** amb el corresponent disulfonat **5** o **6**.



Esquema 5. Anàlisi retrosintètica per la preparació dels compostos desenvolupats en aquest treball.

La decisió d'utilitzar el malonat di-*tert*-butílic es basa en que és l'utilitzat en les dues últimes etapes de la síntesi descrita pel ^{18}F -ML-10.¹⁰

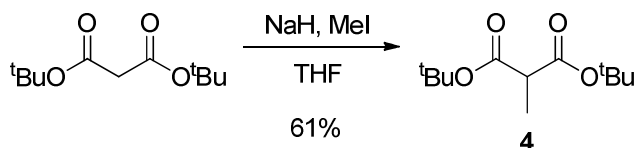
3.3. Obtenció del 2-metilmalonat di-*tert*-butílic

El 2-metilmalonat di-*tert*-butílic apareix descrit a la bibliografia com a producte d'una reacció d'alquilació entre el malonat di-*tert*-butílic i el iodur o bromur de metil, utilitzant com a base *tert*-butòxid potàssic en el si de *tert*-butanol o hidrur sòdic en el si de tetrahidrofur, en tots els casos els rendiments es troben al voltant del 70%.¹⁴

En el nostre cas vam decidir fer l'alquilació amb iodur de metil com a agent alquilant, per ser més assequible que el bromur de metil, i utilitzant com a base hidrur sòdic en el si de THF (Esquema 6). Després de la purificació es va obtenir el producte desitjat **4**, fàcilment identificable per l'aparició d'un quartet a 3.21 ppm en l'espectre

¹⁴ a) Puterbaugh, W. H.; Swamer, F. W.; Hauser, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 3438-3440. b) Uijttewaal, A. P.; Jonkers, F. L.; van der Gen, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 3306-3311. c) Cambie, R. C.; Clark, G. R.; Jones, T. C.; Rutledge, P. S.; Strange, G. A.; Woodgate, P. D. *Aust. J. Chem.* **1985**, *38*, 745-764.

d'RMN de protó, corresponent a l'hidrogen del C- α del malonat. El rendiment obtingut va ser del 61%, lleugerament inferior als descrits a la bibliografia; també es va obtenir un 3% de producte dimetilat, però no es va recuperar producte de partida.

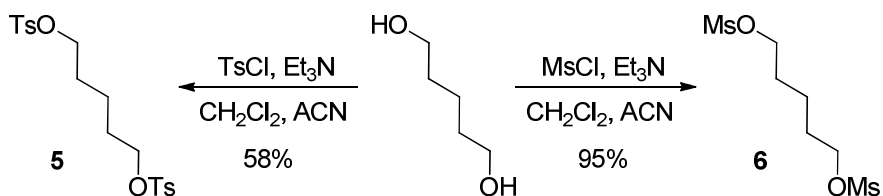


Esquema 6. Síntesi del 2-metilmalonat di-*tert*-butílic, **4**.

Aquesta mateixa reacció es va provar també amb *tert*-butòxid potàssic o carbonat potàssic com a bases, per en cap cas es va aconseguir millorar el rendiment.

3.4. Obtenció del 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat i del 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílics

Per poder sintetitzar els compostos sulfonats **1** i **2** es van haver de preparar primer els disulfonats **5** i **6** a partir de l'1,5-pentandiòl (Esquema 7).



Esquema 7. Síntesi dels disulfonats **5** i **6** a partir de l'1,5-pentandiòl.

La síntesi de l'1,5-bis(*p*-toluensulfonat)pentà, **5**, està descrita a la bibliografia utilitzant piridina com a dissolvent i com a base, amb un rendiment del 84%.¹⁵ Altres reaccions descrites de formació de ditosilats a partir de diòls es duen a terme en el si de diclorometà, utilitzant trietilamina i quantitats catalítiques de DMAP com a bases, amb rendiments d'entre el 85% i el 90%.¹⁶ En el nostre cas vam decidir portar a terme la reacció utilitzant trietilamina com a base.

El problema va sorgir a l'hora de separar el producte ditosilat del clorur de tosil en excés, ja que els dos presenten el mateix R_f . Es va provar d'hidrolitzar el clorur de

¹⁵ Zhou, X.; Day, A. I.; Edwards, A. J.; Willis, A. C.; Jackson, W. G. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 452-460.

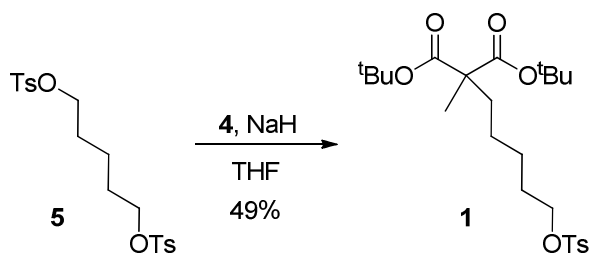
¹⁶ a) Ashoorzadeh, A.; Archibald, G.; Caprio, V. *Tetrahedron.* **2009**, *65*, 4671-4680. b) Chen, J. P.; Ding, C. H.; Liu, W.; Hou, X. L.; Dai, L. X. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 15493-15495.

tosil fent rentats tant en medi bàsic com en medi àcid, però no es va aconseguir. Així que es va optar per un recristal·lització en metanol, tal i com està descrit a la bibliografia.¹⁵ El rendiment final va ser del 58%, probablement per pèrdues importants a la recristal·lització, que s'hauria d'optimitzar.

En el cas del dimesilat **6**, la síntesi apareix descrita en algunes patents utilitzant piridina com a dissolvent i com a base, amb rendiments de fins al 83%.¹⁷ En el nostre cas vam optar per realitzar la reacció amb trietilamina com a base, tal i com apareix en síntesis similars, i on s'obtenen rendiments del 87%.¹⁸ Aquesta va ser molt més ràpida que en el cas del ditosilat i només van ser necessàries unes extraccions amb aigua per purificar el producte. D'aquesta manera es va obtenir el producte dimesilat amb un rendiment del 95%, lleugerament superior al descrit a la bibliografia.

Un cop obtinguts els disulfonats, es va procedir a la síntesi dels compostos **1** i **2** per alquilació del metilmalonat **4** amb el corresponent disulfonat.

La síntesi del 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **1**, no està descrita a la bibliografia, així que es va optar per seguir un procés d'alquilació anàleg a l'emprat per la síntesi del 2-metilmalonat. Així, es va fer reaccionar l'anió del metilmalonat **4** amb un excés de ditosilat **5** per minimitzar la doble substitució sobre aquest últim (Esquema 8).



Esquema 8. Obtenció del 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **1**.

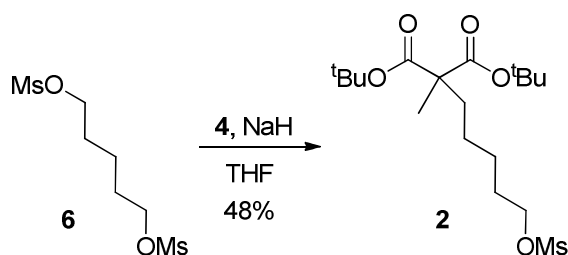
La reacció es va provar a dues temperatures diferents. Quan es va fer a temperatura ambient, la reacció no havia acabat després de 72 hores i el rendiment va

¹⁷ a) THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED. "Improvements in or relating to aliphatic sulphonic acid esters of therapeutic value". Inventor: Millward, T. G. Gran Bretanya, GB 700677. 1953. b) EASTMAN KODAK COMPANY. "*N,N,N',N'*-tetrasubstituted diamines". Inventors: Reynolds Delbert D.; Laakso Thomas T. M. Estats Units, US 2716134. 1955.

¹⁸ Werz, D. B.; Fischer, F. R.; Kornmayer, S. C.; Rominger, F.; Gleiter, R. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 8021-8029.

ser d'un 14%. En canvi, a 50 °C la reacció va acabar en només 6 hores, obtenint-se un 49% de producte final.

La síntesi del 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **2**, es va dur a terme de la mateixa manera que el seu anàleg tosilat **1**, fent reaccionar l'anió del dimetilmalonat **4** amb un excés del dimesilat **6** (Esquema 9).



Esquema 9. Obtenció del 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **2**.

En aquest cas també es va provar la reacció a dues temperatures, obtenint uns resultats similars al cas del tosilat. Quan la reacció es va fer a temperatura ambient, al cap de 28 hores la reacció ja no avançava més, però encara quedava reactiu de partida i el rendiment va ser del 38%. En canvi, quan es va fer a 50 °C la reacció va finalitzar en menys de 6 hores, obtenint-se un 48% del mesilat **2**.

Quan les reaccions de formació dels sulfonats **1** i **2** es van portar a terme a 50 °C, es va poder observar que també s'havia format el producte de doble substitució sobre el disulfonat (Figura 8); en més alta proporció en el cas del dimesilat (un 24%) que en el ditosilat (un 16%).

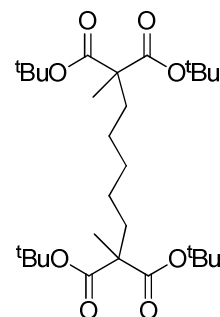


Figura 8. Producte de doble substitució sobre el disulfonat.

En els espectres de ^1H -RMN dels dos sulfonats sintetitzats hi observem tots els senyals esperats (Figura 9). Els senyals similars que trobem als dos espectres són el singlet més intens a 1.42 ppm, corresponent als dos grups *tert*-butil, i el singlet al voltant de 1.23 ppm corresponent al metil α -dièster. Els multiplets entre 1.0 i 2.0 ppm, juntament amb el triplet a 4.0 ppm (en el cas del tosilat) o a 4.2 ppm (en el cas del mesilat), són els corresponents a la cadena de cinc àtoms de carboni; aquí el caràcter més electroattractiu del grup mesilat provoca el desplaçament de les bandes cap a δ superiors. Per últim, comentar que a l'espectre del tosilat **1** hi podem distingir el grup tosil, amb els dos doblets per sobre de 7.0 ppm, corresponents als hidrògens aromàtics, i el singlet a 2.44

ppm corresponent al metil; i a l'espectre del mesilat **2**, s'hi pot veure el metil del grup mesilat a 2.98 ppm.

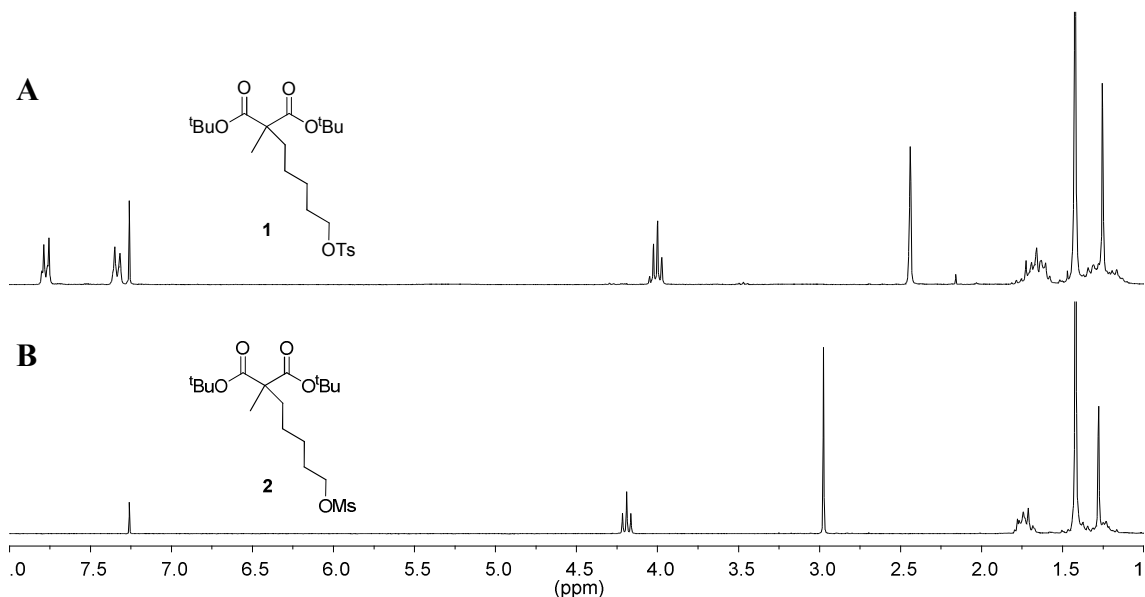


Figura 9. Espectres de ^1H -RMN del (A) 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **1**, i del (B) 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **2**.

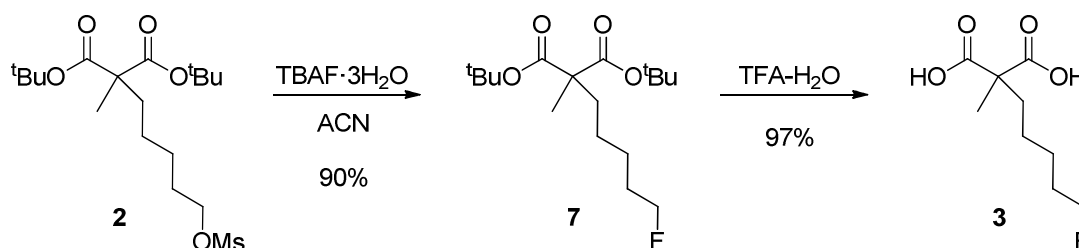
3.5. Obtenció de l'àcid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, ML-10

La reacció de substitució d'un mesilat per un fluor està descrita a la bibliografia utilitzant fluorur potàssic amb fluorur de trifenilestany (90% de rendiment),¹⁹ trihidrofluorur de trietilamina (80% de rendiment)²⁰ o fluorur de tetrabutilamoni (99% de rendiment).²¹ En el nostre cas vam decidir obtenir el 2-metil-2-(5-fluoropentil)malonat di-*tert*-butílic utilitzant fluorur de tetrabutilamoni com a reactiu (Esquema 10), ja que és un dels agents fluorinants més utilitzats en radiofluoracions nucleofíliques. Es va decidir fer la reacció amb el mesilat **2** en comptes del tosilat **1**, ja que els rendiments per obtenir el mesilat havien estat superiors.

¹⁹ Małosza, M.; Bujok, R. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1385-1386.

²⁰ Sawaguchi, M.; Ayuba, S.; Nakamura, Y.; Fukuhara, T.; Hara, S.; Yoneda, N. *Synlett.* **2000**, 999-1000.

²¹ Albanese, D.; Landini, D.; Penso, M. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9587-9589.



Esquema 10. Obtenció del l'àcid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, **3**.

Un cop feta la reacció, només es van requerir uns rentats amb aigua per obtenir el compost fluorat **7** amb un rendiment del 90%.

La hidròlisi dels èsters *tert*-butílic, per poder obtenir l'àcid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, **3**, està descrita a la bibliografia utilitzant majoritàriament àcid trifluoroacètic, ja sigui sol²², o amb aigua²³ o amb CH₂Cl₂²⁴ com a dissolvent. Tot i així, en alguns casos també s'utilitza àcid clorhídric escalfant²⁵ o àcid *p*-toluensulfònic en *tert*-butanol²⁶. En el nostre cas vam fer servir una mescla d'àcid trifluoroacètic – aigua (9:1), tal i com ve descrit a l'article¹⁰ on es fa la mateixa reacció però amb la molècula marcada amb ¹⁸F (Esquema 10).

L'única complicació que va sorgir va ser a l'hora d'extreure el producte final de la fase aquosa, ja que al ser tant polar no es podia extreure amb cap dels dissolvents habituals. Així que es va optar per fer servir una mescla de cloroform – isopropanol (7:3), que és immiscible amb aigua, però té una elevada polaritat. Obtenint així el producte final amb un 97% de rendiment.

En els espectres de ¹H-RMN dels dos productes fluorats (Figura 10), observem que el triplet que abans sortia al voltant de 4.2 ppm en el cas del compost mesilat, s'ha desdoblada per acoblament d'aquests hidrògens amb el fluor. També queda clarament reflectida la reacció de desprotecció dels àcids, per la desaparició del singlet corresponent als *tert*-butils i per l'aparició d'una banda ampla a 9.5 ppm corresponent als àcids carboxílics. Tots els demés pics entre 1.0 i 2.0 ppm s'han desplaçat cap a δ superiors degut a la presència dels àcids carboxílics.

²² Baird, M. S.; Boitsov, V. M.; Stepanov, A. V.; Molchanov, A. P.; Kopf, J.; Rajaratnam, M.; Kostikov, R. R. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 7717-7726.

²³ Menard-Moyon, C.; Taylor, R. J. K. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3698-3706.

²⁴ Benschafut, R.; Haran, A.; Shvarts, D.; Schneider, B. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4040-4044.

²⁵ Winter, R. W.; Gard, G. L. *J. Fluorine Chem.* **2006**, *127*, 1188-1194.

²⁶ Parhan, W. E.; Czuba, L. J. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 1899-1904.

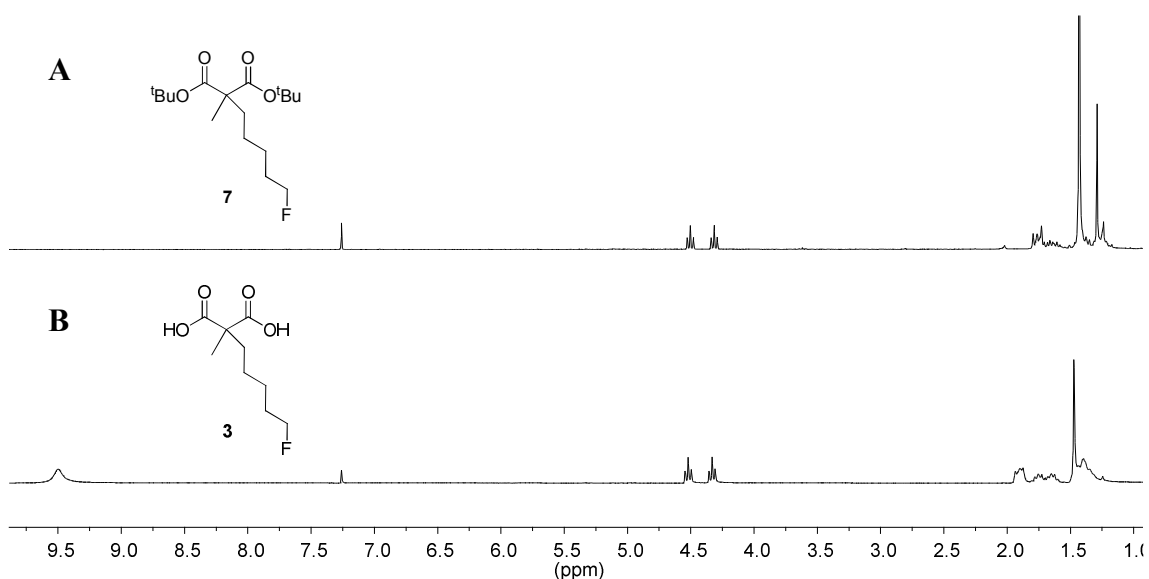


Figura 10. Espectres de ^1H -RMN del (A) 2-metil-2-(5-fluoropentil)malonat di-*tert*-butílic, **7**, i de (B) l'acid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, **3**.

Per últim, comentar l'espectre de ^{19}F -RMN (Figura 11), on hi podem observar un triple triplet ben definit, centrat a -218.85 ppm, i que correspon a l'acoblament del fluor amb els hidrògens de 2 i 3 enllaços de distància, amb unes J de 47.3 i 25.3 Hz respectivament, molt superiors als típics acoblaments ^1H - ^1H .

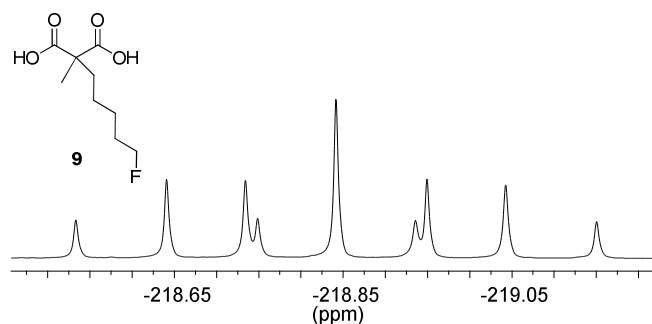
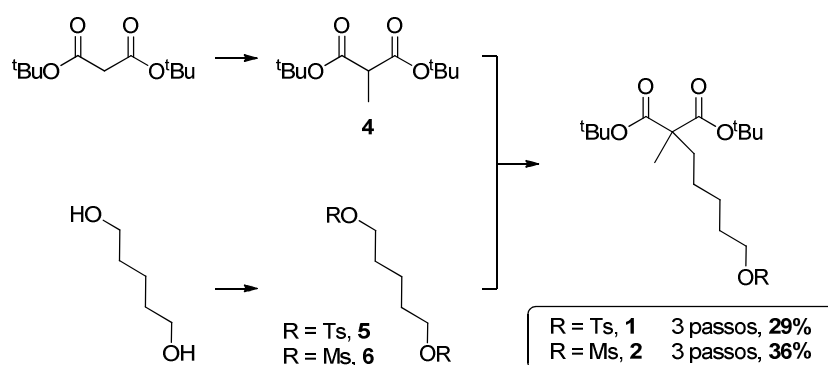


Figura 11. Espectre de ^{19}F -RMN de l'acid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, **3**.

4. CONCLUSIONS

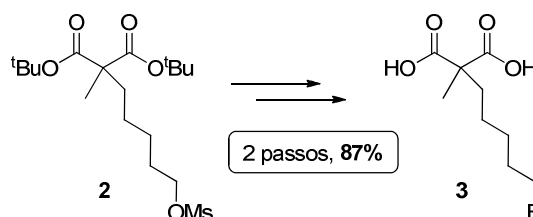
En aquest treball de recerca s'ha abordat la síntesi de la molècula ML-10 i de dos dels seus precursors immediats, per poder obtenir el ^{18}F -ML-10 i fer-ne ús en la detecció de processos apoptòtics mitjançant la tècnica del PET. El radiofàrmac està actualment sent sintetitzat a l'IAT-PRBB amb els productes preparats en aquest treball. Així les conclusions obtingudes son les següents:

1. S'ha aconseguit la síntesi dels precursors 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **1**, i 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **2**, (Esquema 11). Tant el compost **1** com el **2**, s'han obtingut en 3 passos a partir dels productes comercials malonat de di-*tert*-butil i 1,5-pentandiòl, amb uns rendiments del 29% i del 36%, respectivament.



Esquema 11. Resum de la síntesi dels precursors **1** i **2**.

2. La síntesi del ML-10, **3**, s'ha dut a terme a partir del precursor **2**, amb 2 passos més i un rendiment del 87% en aquestes dues últimes etapes (Esquema 12). El rendiment global de la síntesi de **3** a partir del malonat di-*tert*-butílic i l'1,5-pentandiòl ha estat del 31%.



Esquema 12. Resum de la síntesi del ML-10 a partir del precursor **2**.

5. PART EXPERIMENTAL

5.1. Materials i mètodes de caracterització estructural

Espectroscòpia

Els espectres de Ressonància Magnètica Nuclear (RMN) han estat enregistrats al *Servei de Ressonància Magnètica Nuclear de la Universitat Autònoma de Barcelona*. Els espectres de ^1H de 250 MHz, ^{13}C de 62.5 MHz i ^{19}F de 235 MHz han estat enregistrats amb un aparell *Bruker DPX250*, tots ells a una temperatura de 298 K. Els desplaçaments es donen en δ (ppm), utilitzant com a referència interna el propi dissolvent residual no deuterat. El dissolvent deuterat utilitzat és CDCl_3 . Les abreviatures utilitzades per descriure les multiplicitats dels senyals observats són: s (singlet), d (doblet), dt (doble triplet), dquin (doble quintuplet), t (triplet), tt (triple triplet), q (quadruplet), m (multiplet) i *J* per indicar la constant d'acoblament.

Els espectres d'infraroig (IR) han estat enregistrats en un espectrofotòmetre model *Bruker Tensor 27* amb mòdul ATR (Reflexió Total Atenuada) model MKII Golden Gate (Specac) amb finestra de diamant amb una sola reflexió. Les abreviatures utilitzades per descriure les vibracions associades a les senyals observades són: st (vibració de tensió), δ (vibració de deformació), oop (vibració fora del pla), sim (simètrica), as (asimètrica), ar (aromàtic).

Cromatografia

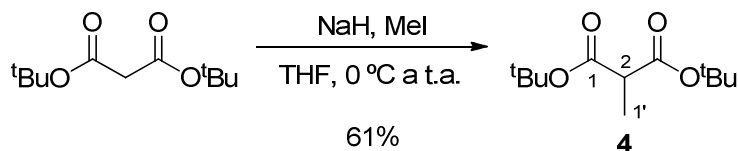
Les cromatografies en capa fina han estat efectuades sobre cromofolis *Alugram Sil G/UV254* de 0.25 mm de gruix. El revelat de les mateixes s'ha realitzat sota una làmpada d'ultraviolat a 254 nm i/o amb una solució reveladora de KMnO_4 i NaOH o d'ansaldehyd en àcid sulfúric.

Les cromatografies en columna s'han realitzat seguint la tècnica flash, emprant gel de sílice de 230-400 mesh o gel de sílice tipus Baker de 40 μm com a fase estacionària. La fase mòbil s'indica en cada cas.

Dissolvents anhidres

Per a les reaccions sensibles a la presència d'aigua, els dissolvents han estat prèviament anhidritzats.

5.2. Síntesi del 2-metilmalonat di-*tert*-butílic, **4**



En un Schlenk de 25 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera de nitrogen, es dissolen 511 mg (2.36 mmol) de malonat di-*tert*-butílic en 10 ml de THF anhidre i es refreda la solució a $0\text{ }^\circ\text{C}$ en un bany de gel. A continuació s'addicionen lentament 114 mg (2.85 mmol) de NaH (dispersió al 60% en oli mineral) i es deixa reaccionar durant 30 min.

Transcorregut aquest temps s'hi addicionen 170 μl (2.70 mmol) de iodur de metil i es deixa reaccionar durant 8 h a temperatura ambient. L'evolució de la reacció es controla per cromatografia de capa fina, utilitzant com a eluent hexà-AcOEt (10:1)

Un cop finalitzada la reacció s'afegeixen 20 ml d' Et_2O i 10 ml d' H_2O , s'acidifica la fase aquosa fins a pH neutre amb una solució aquosa saturada de NH_4Cl i es fan rentats amb H_2O . A continuació s'extreu la fase aquosa amb Et_2O , s'ajunten els extractes orgànics, s'assequen amb MgSO_4 anhidre, es filtren i es concentren a pressió reduïda fins a sequedat. El líquid obtingut es cromatografia en columna de gel sílice tipus flash ($\varnothing = 2.5\text{ cm}$, $h = 14\text{ cm}$) emprant una barreja d'hexà-AcOEt (15:1).

S'obtenen 332 mg (1.44 mmol, 61% de rendiment) d'un oli groguenc identificat com a 2-metilmalonat di-*tert*-butílic, **4**.¹³

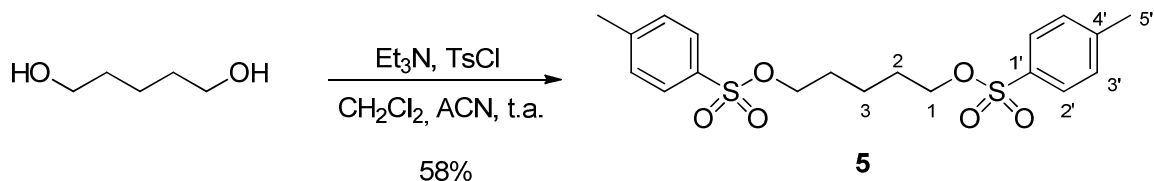
Dades físiques i espectroscòpiques de 4:

$R_f = 0.66$ (AcOEt-Hexà, 1:10)

$^1\text{H-RMN}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 3.21 (q, $J_{2,1'} = 7.2\text{ Hz}$, 1H, H-2), 1.45 (s, 18H, ^tBu), 1.31 (d, $J_{2,1'} = 7.3\text{ Hz}$, 3H, H-1').

^{13}C -RMN (62.5 MHz, CDCl_3): δ 169.78 (C-1), 81.33 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 48.33 (C-2), 28.04 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 13.55 (C-1').

5.3. Síntesi de l'1,5-bis(*p*-toluensulfonat)pentà, **5**



En un matràs de fons rodó de 50 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica, es dissolen 529 mg (5.08 mmol) d'1,5-pentandiol i 2.75 ml (19.73 mmol) de trietilamina en 8 ml de CH_2Cl_2 i 4 ml d'ACN (solució A). La solució es refreda a $0\text{ }^\circ\text{C}$ en un bany de gel.

Per una altra banda, es prepara una dissolució de 3.9 g (20.47 mmol) de TsCl en 11 ml de CH_2Cl_2 (solució B). Aquesta solució B s'addiciona lentament sobre la solució A i la barreja resultant es deixa agitant durant tota la nit a temperatura ambient. El seguiment de la reacció es fa per cromatografia de capa prima utilitzant com a eluent AcOEt.

Un cop acabada la reacció es fan rentats amb H_2O i després s'extreu la fase aquosa amb AcOEt. Les fases orgàniques s'ajunten, s'assequen amb MgSO_4 anhidre, es filtren i es concentren a pressió reduïda fins a sequedat. El sòlid obtingut es dissol en 20 ml de MeOH calent, es refreda en un bany de gel i el precipitat es filtra al buit, obtenint-se així 1.21 g (2.94 mmol, 58% de rendiment) d'un sòlid blanc cristal·lí identificat com a 1,5-bis(*p*-toluensulfonat)pentà, **5**.¹⁵

Dades físiques i espectroscòpiques de 5:

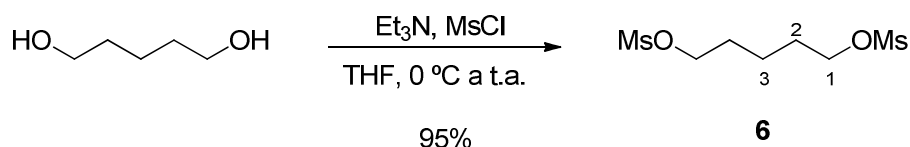
$R_f = 0.92$ (AcOEt-Hexà, 1:1)

^1H -RMN (250 MHz, CDCl_3): δ 7.77 (d, $J_{2,3'} = 8.3$ Hz, 4H, H-2'), 7.35 (d, $J_{2',3'} = 8.0$ Hz, 4H, H-3'), 3.97 (t, $J_{1,2} = 6.3$ Hz, 4H, H-1), 2.45 (s, 6H, H-5'), 1.60 (m, 4H, H-2), 1.36 (m, 2H, H-3).

^{13}C -RMN (62.5 MHz, CDCl_3): δ 144.99 (C-1'), 133.12 (C-4'), 130.03 (C-3'), 128.00 (C-2'), 70.11 (C-1), 28.32 (C-2), 21.78 (C-5'), 21.66 (C-3).

S'ha enregistrat l'espectre DEPT-135.

5.4. Síntesi de l'1,5-bis(metansulfonat)pentà, **6**



En un matràs de fons rodó de 10 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera de nitrogen, es dissolen 525 mg (5.04 mmol) d'1,5-pentandiol i 3.2 ml (22.96 mmol) de Et_3N en 25 ml de THF anhidre. La solució es refreda a 0 °C en un bany de gel, s'hi addicionen lentament 1.25 ml (16.08 mmol) de MsCl i es deixa reaccionar a temperatura ambient durant 3 h. El seguiment de la reacció es fa per cromatografia de capa prima utilitzant com a eluent AcOEt .

Un cop finalitzada la reacció s'afegeixen 20 ml d' H_2O i es fan extraccions amb CH_2Cl_2 . S'ajunten les fases orgàniques, s'assequen amb MgSO_4 anhidre, es filtren i es concentren a pressió reduïda fins a sequedat.

S'obtenen 1.253 g (4.81 mmol, 95% de rendiment) d'un líquid oliós de color groc-marronós identificat com a 1,5-bis(metansulfonat)pentà, **6**.

Dades físiques i espectroscòpiques de 6:

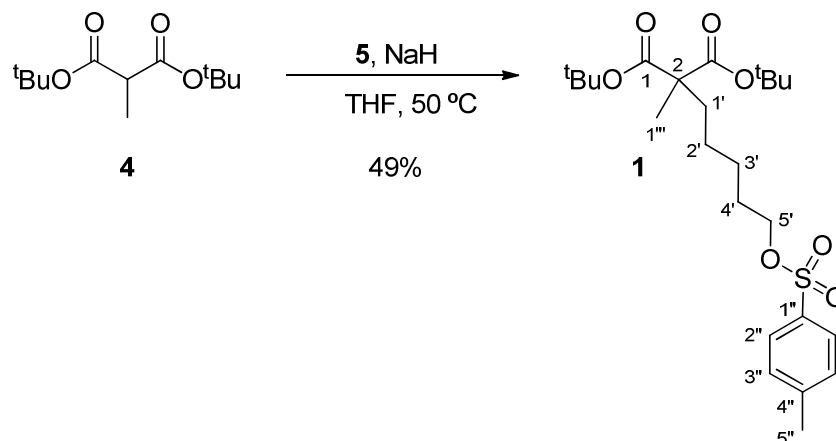
$R_f = 0.24$ (AcOEt -Hexà, 1:1)

^1H -RMN (250 MHz, CDCl_3): δ 4.22 (t, $J_{1,2} = 6.3$ Hz, 4H, H-1), 3.00 (s, 6H, Ms), 1.79 (m, 4H, H-2), 1.54 (m, 2H, H-3).

^{13}C -RMN (62.5 MHz, CDCl_3): δ 69.59 (C-1), 37.47 (Ms), 28.62 (C-2), 21.71 (C-3).

IR (ATR): $\bar{\nu}$ 1346 (SO_2 st_{as}), 1171 (SO_2 st_{sim}), 947 cm^{-1} .

HMRS m/z (ESI+) ($\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}_6\text{S}_2$) Calculat ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 283.0281
Experimental: 283.0282

5.5. Síntesi del 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **1**

En un Schlenk de 10 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera de nitrogen, es dissolen 99 mg (0.43 mmol) de 2-metilmalonat di-*tert*-butílic, **4**, i 55 mg (1.38 mmol) de NaH (dispersió al 60% en oli mineral) en 3 ml de THF anhidre (solució A), i es deixa reaccionar durant 30 min.

En un altre Schlenk de 25 ml de capacitat, també proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera de nitrogen, es dissolen 266 mg (0.64 mmol) de 1,5-bis(*p*-toluensulfonat)pentà, **5**, en 5 ml de THF anhidre (solució B). La solució A s'addiciona lentament sobre la solució B, s'escalfa a 50 °C i es deixa reaccionar durant 6 h. L'evolució de la reacció es controla per cromatografia de capa fina, utilitzant com a eluent hexà-AcOEt (10:1).

Un cop acabada la reacció, s'elimina tot el THF a pressió reduïda. Es fan extraccions amb Et₂O i rentats amb H₂O, s'ajunten les fases orgàniques, s'assequen amb MgSO₄ anhidre, es filtren i es concentren a pressió reduïda fins a sequedat. El líquid obtingut es cromatografia en columna de gel sílice tipus flash (ø = 2 cm, h = 16 cm) emprant inicialment una barreja d'hexà-AcOEt (15:1) i augmentant la polaritat fins a hexà-AcOEt (5:1).

S'obtenen 100 mg (0.21 mmol, 49% de rendiment) d'un oli groguenc identificat com a 2-metil-2-(5-tosiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **1**.

Dades físiques i espectroscòpiques d'1:

$R_f = 0.10$ (AcOEt-Hexà, 1:10)

5. Part Experimental

¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃): δ 7.77 (d, $J_{2'',3''} = 8.3$ Hz, 2H, H-2''), 7.33 (d, $J_{3'',2''} = 8.0$ Hz, 2H, H-3''), 4.00 (t, $J_{5',4'} = 6.4$ Hz, 2H, H-5'), 2.44 (s, 3H, H-5''), 1.73 – 1.58 (m, 4H, H-1' i H-4'), 1.42 (s, 18H, ^tBu), 1.25 (s, 3H, H-1'''), 1.36 – 1.11 (m, 4H, H-3' i H-2').

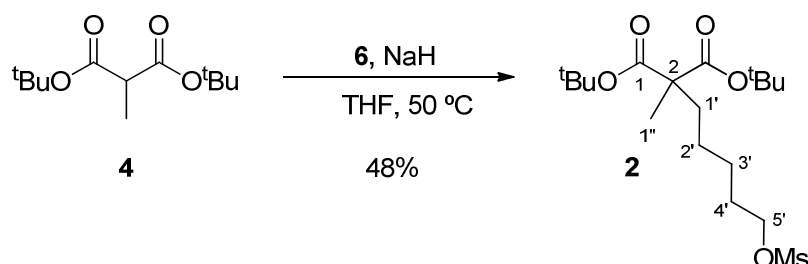
¹³C-RMN ¹³C NMR (62.5 MHz, CDCl₃): δ 171.80 (C-1), 144.79 (C-1''), 133.35 (C-4''), 129.95 (C-3''), 127.99 (C-2''), 81.06 (C(CH₃)₃), 70.55 (C-5'), 54.60 (C-2), 35.24 (C-1'), 28.75 (C-4'), 28.00 (C(CH₃)₃), 25.88 (C-3'), 23.70 (C-2'), 21.75 (C-5''), 19.78 (C-1''').

S'ha enregistrat l'espectre DEPT-135.

IR (ATR): $\bar{\nu}$ 1722 (C=O st), 1598 – 1456 (arC-C), 1365 (CH₃ δ_{sim} i SO₂ st_{as}), 1257, 1175 (SO₂ st_{sim}), 1120, 950, 814 cm⁻¹.

HMRS m/z (ESI+) (C₂₄H₃₈O₇S) Calculat ([M+Na]⁺): 493.2230
Experimental: 493.2230

5.6. Síntesi del 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, 2



En un Schlenk de 25 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera de nitrogen, es dissolen 625 mg (2.71 mmol) de 2-metilmalonat di-*tert*-butílic, **4**, i 290 mg (7.25 mmol) de NaH (dispersió al 60% en oli mineral) en 13 ml de THF anhidre (solució A), i es deixa reaccionar durant 30 min.

En un altre Schlenk de 100 ml de capacitat, també proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera de nitrogen, es dissolen 886 mg (3.40 mmol) de 1,5-bis(*p*-metansulfonat)pentà, **6**, en 30 ml de THF anhidre (solució B). La solució A s'addiciona lentament sobre la solució B, s'escalfa a 50 °C i es deixa reaccionar durant 6 h.

L'evolució de la reacció es controla per cromatografia de capa fina, utilitzant com a eluent hexà-AcOEt (10:1).

Un cop acabada la reacció, s'elimina tot el THF a pressió reduïda. Es fan extraccions amb Et₂O i rentats amb H₂O, s'ajunten les fases orgàniques, s'assequen amb MgSO₄ anhidre, es filtren i es concentren a pressió reduïda fins a sequedat. El líquid obtingut es cromatografia en columna de gel sílice tipus flash ($\varnothing = 2.5$ cm, h = 25 cm) emprant inicialment una barreja d'hexà-AcOEt (15:1) i augmentant la polaritat fins a hexà-AcOEt (5:1).

S'obtenen 513 mg (1.30 mmol, 48% de rendiment) d'un oli groguenc identificat com a 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, **2**.

Dades físiques i espectroscòpiques de 2:

R_f = 0.70 (AcOEt-Hexà, 1:1)

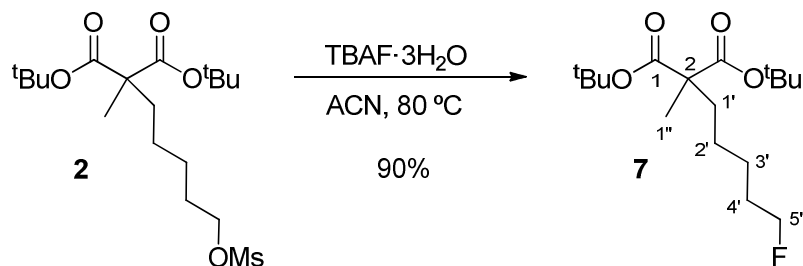
¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃): δ 4.19 (t, $J_{5',4'}$ = 6.5 Hz, 2H, H-5'), 2.98 (s, 3H, Ms), 1.79 – 1.67 (m, 4H, H-1' i H-4'), 1.42 (s, 18H, ^tBu), 1.28 (s, 3H, H-1''), 1.38 – 1.15 (m, 4H, H-3' i H-2').

¹³C-RMN (62.5 MHz, CDCl₃): δ 171.77 (C-1), 81.06 (C(CH₃)₃), 69.97 (C-5'), 54.60 (C-2), 37.46 (Ms), 35.27 (C-1'), 28.99 (C-4'), 27.98 (C(CH₃)₃), 25.91 (C-3'), 23.75 (C-2'), 19.82 (C-1'').

S'han enregistrat els espectres DEPT-135, COSY, HMBC i HSQC.

IR (ATR): $\bar{\nu}$ 1724 (C=O st), 1367 (CH₃ δ_{sim}), 1357 (SO₂ st_{as}), 1257, 1175 (SO₂ st_{sim}) cm⁻¹.

HMRS *m/z* (ESI+) (C₁₈H₃₄O₇S) Calculat ([M+Na]⁺): 417.1917
Experimental: 417.1912

5.7. Síntesi del 2-metil-2-(5-fluoropentil)malonat di-*tert*-butílic, 7

En un matràs de fons rodó de 50 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica, es dissolen 158 mg (0.40 mmol) de 2-metil-2-(5-mesiloxipentil)malonat di-*tert*-butílic, 2, i 460 mg (1.45 mmol) de TBAF·3H₂O en 6 ml d'ACN. S'escalfa la solució en un bany de silicó fins a 80 °C i es deixa reaccionar durant 2 h. El seguiment de la reacció es fa per cromatografia de capa prima utilitzant com a eluent hexà-AcOEt (1:1).

Un cop acabada la reacció es concentra el cru de reacció a pressió reduïda fins a sequedat. A continuació es fan extraccions amb Et₂O i rentats amb H₂O. S'ajunten les fases orgàniques, s'assequen amb MgSO₄ anhidre, es filtren i es concentren a pressió reduïda fins a sequedat.

S'obtenen 115 mg (0.36 mmol, 90% de rendiment) d'un oli groguenc identificat com a 2-metil-2-(5-fluoropentil)malonat di-*tert*-butílic, 7.

Dades físiques i espectroscòpiques de 7:

$R_f = 0.66$ (AcOEt-Hexà, 1:10)

¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃): δ 4.41 (dt, $J_{5',F} = 47.3$ Hz, $J_{4',5'} = 6.1$ Hz, 2H, H-5'), 1.83 – 1.62 (m, 4H, H-1' i H-4'), 1.43 (s, 18H, ^tBu), 1.29 (s, 3H, H-1''), 1.36 – 1.18 (m, 4H, H-2' i H-3').

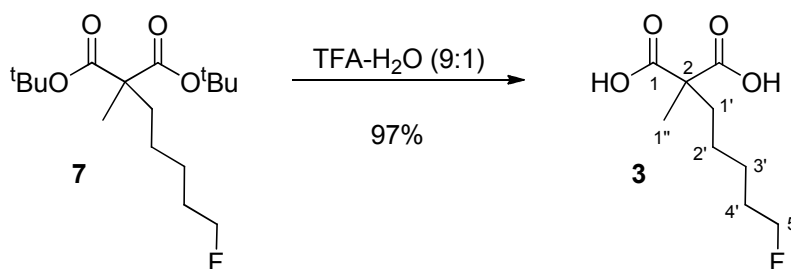
¹³C-RMN (62.5 MHz, CDCl₃): δ 171.89 (C-1), 84.06 (d, $J_{5',F} = 164.5$, C-5'), 81.00 (C(CH₃)₃), 54.69 (C-2), 35.37 (C-1'), 30.28 (d, $J_{4',F} = 19.6$, C-4'), 28.00 (C(CH₃)₃), 25.69 (d, $J_{3',F} = 5.4$ Hz, C-3'), 23.92 (C-2'), 19.81 (C-1'').

¹⁹F-RMN (235 MHz, CDCl₃): δ -218.96 (tt, $J_{5',F} = 47.3$ Hz, $J_{4',F} = 24.9$ Hz).

IR (ATR): $\bar{\nu}$ 1726 (C=O st), 1367 (CH₃ δ_{sim}), 1257, 1119, 1035 (C-F st), 1090 (C-F st), 1016, 798 cm⁻¹.

HMRS m/z (ESI+) (C₁₇H₃₁FO₄) Calculat ([M-Na]⁺): 341.2099
Experimental: 341.2093

5.8. Síntesi de l'àcid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, **3**



En un matràs de fons rodó de 5 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica, s'hi posen 109 mg (0.34 mmol) de 2-metil-2-(5-fluoropentil)malonat di-*tert*-butílic, **7**, 0,45 ml d'àcid trifluoroacètic i 0,05 ml d'H₂O, i es deixa reaccionar durant 1 h a temperatura ambient. El seguiment de la reacció es fa per cromatografia de capa prima utilitzant com a eluent hexà-AcOEt (10:1).

Un cop acabada la reacció s'afegeixen 10 ml d'H₂O, es basifica fins a pH 6-7 amb NaOH_(aq) i es fan dos rentats amb CH₂Cl₂. A continuació es torna a acidificar fins a pH 1 amb HCl_(aq) concentrat i s'extreu el producte final amb una mescla de cloroform-isopropanol (7:3). S'ajunten les fases orgàniques on hi ha el producte final, s'assequen amb MgSO₄ anhidre, es filtren i es concentra a pressió reduïda fins a sequedat.

S'obtenen 68 mg (0,33 mmol, 97% de rendiment) d'un sòlid blanc identificat com a àcid 2-metil-2-(5-fluoropentil)malònic, **3**.

Dades físiques i espectroscòpiques de 3:

R_f = 0.5 (AcOEt-Hexà, 1:1)

Punt de fusió = 98 – 104 °C

5. Part Experimental

¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃): δ 9.50 (s, 2H, COOH), 4.43 (dt, $J_{5',F} = 47.3$ Hz, $J_{5',4'} = 6.0$ Hz, 2H, H-5'), 1.90 (m, 2H, H-1'), 1.69 (dquin, $J_{4',F} = 25.3$ Hz, $J_{4',5'} = 6.2$ Hz, $J_{4',3'} = 6.2$ Hz, 2H, H-4'), 1.47 (s, 3H, H-1''), 1.51 – 1.27 (m, 4H, H-2' i H-3').

¹³C-RMN (62.5 MHz, CDCl₃): δ 178.14 (C-1), 84.08 (d, $J_{5',F} = 164.5$ Hz, C-5'), 53.93 (C-2), 35.56 (C-1'), 30.17 (d, $J_{4',F} = 19.6$ Hz, C-4'), 25.53 (d, $J_{3',F} = 5.3$ Hz, C-3'), 24.12 (C-2'), 20.02 (C-1'').

¹⁹F-RMN (235 MHz, CDCl₃): δ -218.84 (tt, $J_{5',F} = 47.3$ Hz, $J_{4',F} = 25.3$ Hz).

IR (ATR): $\bar{\nu}$ 2900 ample (O-H st), 1967 (C=O st), 1279, 1261, 1229, 1996, 1136, 1034 (C-F st), 1018 (C-F st), 914 (OC-OH δ oop) cm⁻¹.

HMRS m/z (ESI+) (C₁₇H₃₁FO₄) Calculat ([M-Na]⁺): 229.0847
Experimental: 229.0845

6. BIBLIOGRAFIA

- ¹ Edwards, C. L. *Semin. Nucl. Med.* **1979**, *3*, 186-189.
- ² Heeg, M. J.; Jurisson, S. S. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 1053-1060.
- ³ Society of Nuclear Medicine. *What is nuclear Medicine?* [fitxer en línia].
<http://interactive.snm.org/docs/whatisnucmed.pdf> [consulta: juny de 2011]
- ⁴ Reichert, D. E.; Lewis, J. S.; Anderson, C. J. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *184*, 3-66.
- ⁵ Consejo Nacional de Especialidades Médicas, *Guía de Formación de Especialistas. Medicina Nuclear.* **1996**.
- ⁶ Jurisson, S.; Berning, D.; Jia, W.; Ma, D. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1137-1156.
- ⁷ a) Yong, K.; Brechbiel, M. W. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6068-6076. b) Brechbiel, M. W. *Dalton Trans.* **2007**, 4918-4928.
- ⁸ Rasmussen, J. O.; Steinberg, P. E. *Radioactivity*. [Illinois]: Encyclopædia Britannica, 2006. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/489089/radioactivity> [consulta: juny 2011].
- ⁹ Ametamey, S. M.; Honer, M.; Schubiger, P. A. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1501-1516.
- ¹⁰ Reshef, A.; Shirvan, A.; Waterhouse, R. N.; Grimberg, H.; Levin, G.; Cohen, A.; Ulysse, L. G.; Friedman, G.; Antoni, G.; Ziv, I. *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 1520-1528.
- ¹¹ Cohen, A.; Shirvan, A.; Levin, G.; Grimberg, H.; Reshef, A.; Ziv, I. *Cell Res.* **2009**, *19*, 625-637.
- ¹² Höglund, J.; Shirvan, A.; Antoni, G.; Gustavsson, S. A.; Langström, B.; Ringheim, A.; Sörensen, J.; Ben-Ami, M.; Ziv, I. *J. Nucl. Med.* **2011**, *52*, 720-725.
- ¹³ NST NEUROSURIVAL TECHNOLOGIES LTD; APOSENSE LTD. "Perturbed Membrane-Binding Compounds And Methods Of Using The Same". Inventors: Ilan, Z.; Anat, S. Estats Units, US 2008279774. **2008**.
- ¹⁴ a) Puterbaugh, W. H.; Swamer, F. W.; Hauser, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 3438-3440. b) Uijttewaal, A. P.; Jonkers, F. L.; van der Gen, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 3306-3311. c) Cambie, R. C.; Clark, G. R.; Jones, T. C.; Rutledge, P. S.; Strange, G. A.; Woodgate, P. D. *Aust. J. Chem.* **1985**, *38*, 745-764.
- ¹⁵ Zhou, X.; Day, A. I.; Edwards, A. J.; Willis, A. C.; Jackson, W. G. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 452-460.

6. Bibliografia

- ¹⁶ a) Ashoorzadeh, A.; Archibald, G.; Caprio, V. *Tetrahedron*. **2009**, *65*, 4671-4680. b) Chen, J. P.; Ding, C. H.; Liu, W.; Hou, X. L.; Dai, L. X. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 15493-15495.
- ¹⁷ a) THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED. "Improvements in or relating to aliphatic sulphonic acid esters of therapeutic value". Inventor: Millward, T. G. Gran Bretanya, GB 700677. **1953**. b) EASTMAN KODAK COMPANY. "*N,N,N',N'*-tetrasubstituted diamines". Inventors: Reynolds Delbert D.; Laakso Thomas T. M. Estats Units, US 2716134. **1955**.
- ¹⁸ Werz, D. B.; Fischer, F. R.; Kornmayer, S. C.; Rominger, F.; Gleiter, R. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8021-8029.
- ¹⁹ Małosza, M.; Bujok, R. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1385-1386.
- ²⁰ Sawaguchi, M.; Ayuba, S.; Nakamura, Y.; Fukuhara, T.; Hara, S.; Yoneda, N. *Synlett.* **2000**, 999-1000.
- ²¹ Albanese, D.; Landini, D.; Penso, M. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9587-9589.
- ²² Baird, M. S.; Boitsov, V. M.; Stepanov, A. V.; Molchanov, A. P.; Kopf, J.; Rajaratnam, M.; Kostikov, R. R. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 7717-7726.
- ²³ Menard-Moyon, C.; Taylor, R. J. K. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3698-3706.
- ²⁴ Benshafrut, R.; Haran, A.; Shvarts, D.; Schneider, B. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4040-4044.
- ²⁵ Winter, R. W.; Gard, G. L. *J. Fluorine Chem.* **2006**, *127*, 1188-1194.
- ²⁶ Parhan, W. E.; Czuba, L. J. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 1899-1904.



Universitat Autònoma de Barcelona
Facultat de Ciències
Departament de Química

ANNEX

Síntesi de la molècula ML-10 i del seu precursor immediat per poder obtenir ^{18}F -ML-10, d'ús en tècniques PET

Màster Universitari en Ciència i Tecnologia Químiques

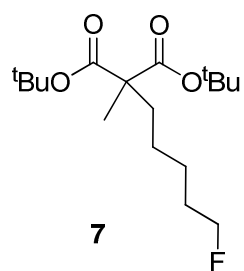
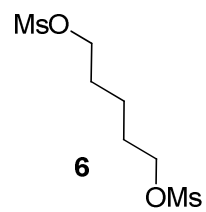
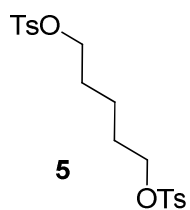
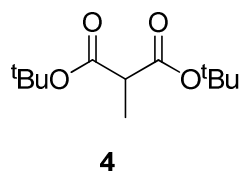
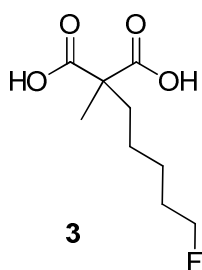
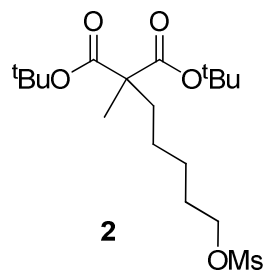
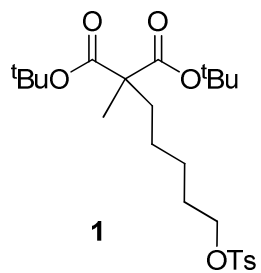
Iniciació a la Recerca i Treball fi de Màster

Marc Renom Carrasco

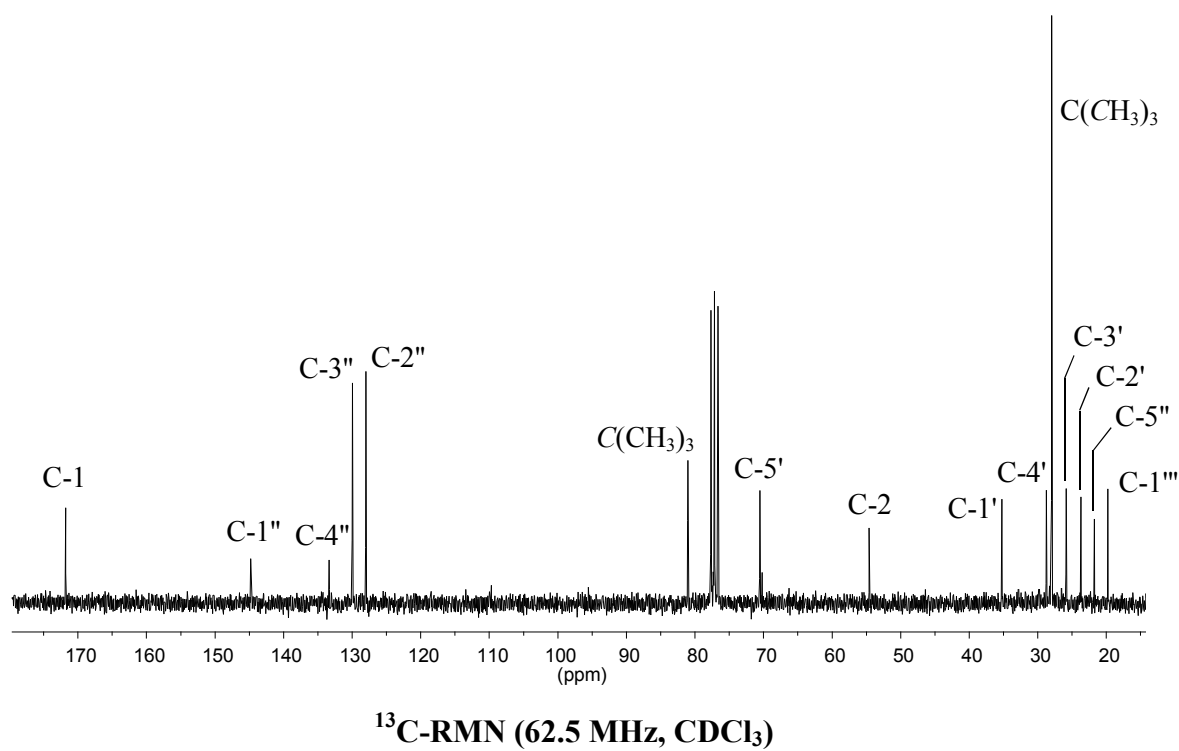
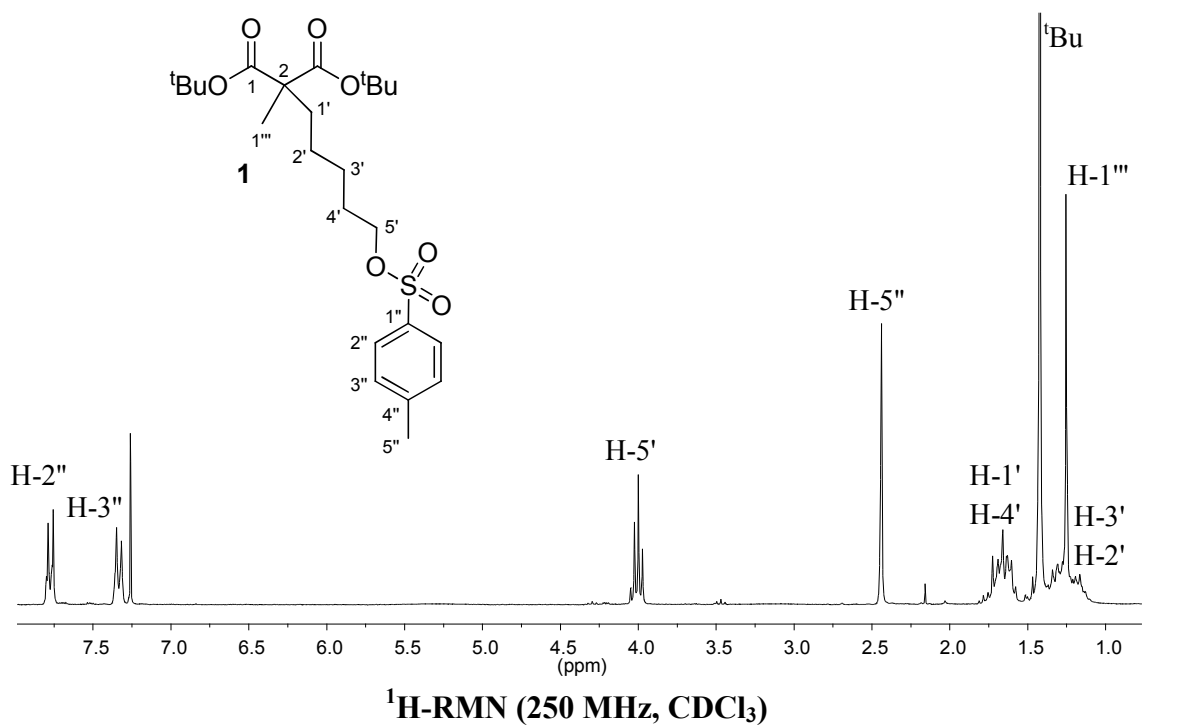
Directors: Dr. Ramón Alibés Arqués i Dr. Félix Busqué Sánchez

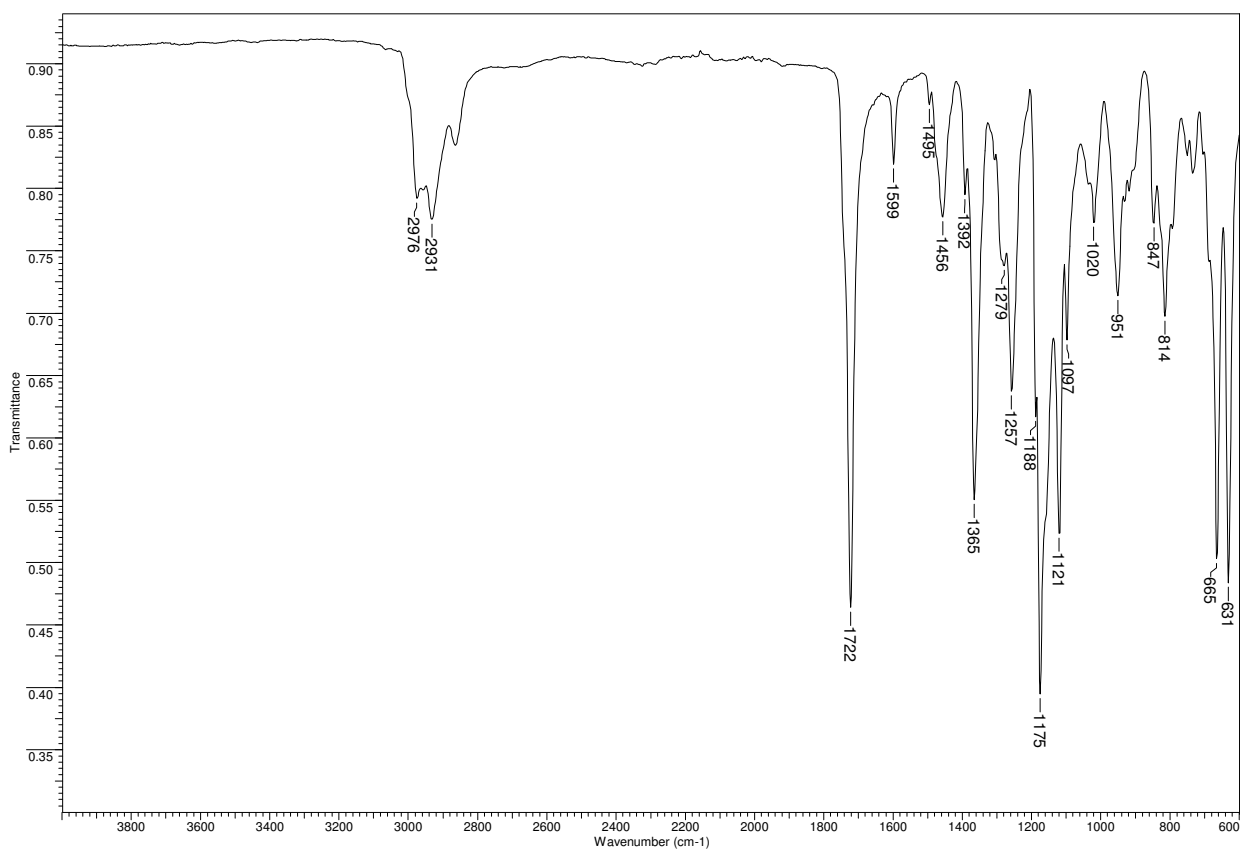
Bellaterra, 1 de setembre de 2011

i. Índex de fórmules

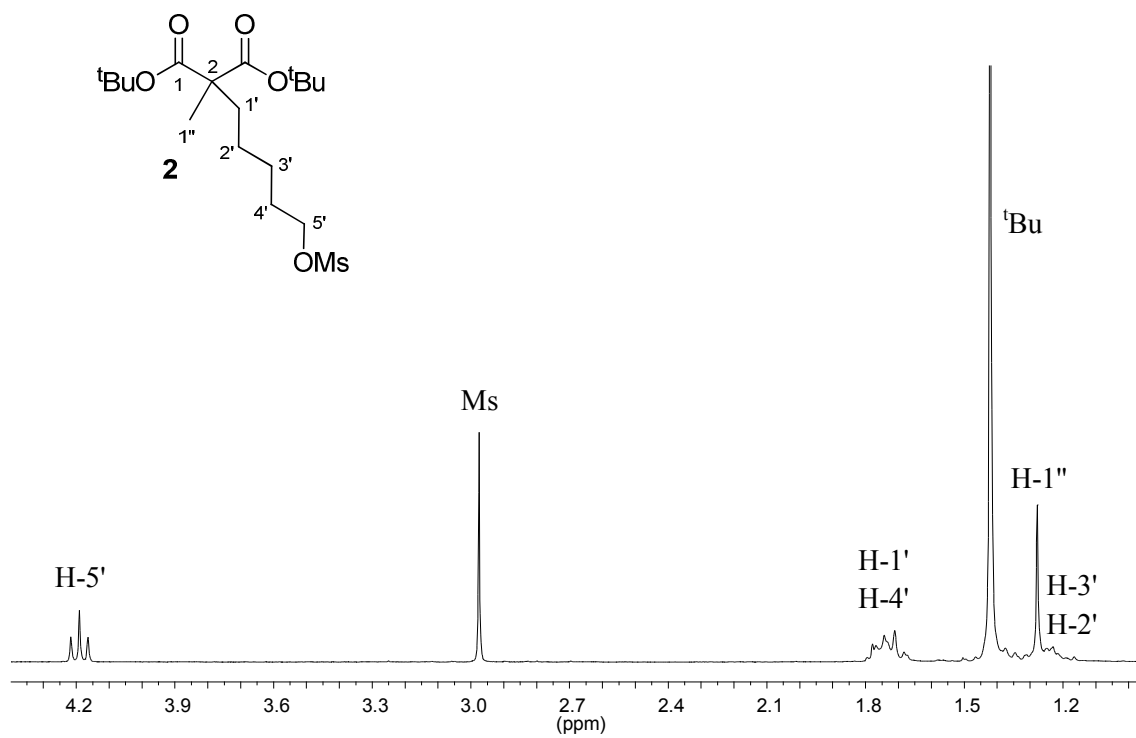


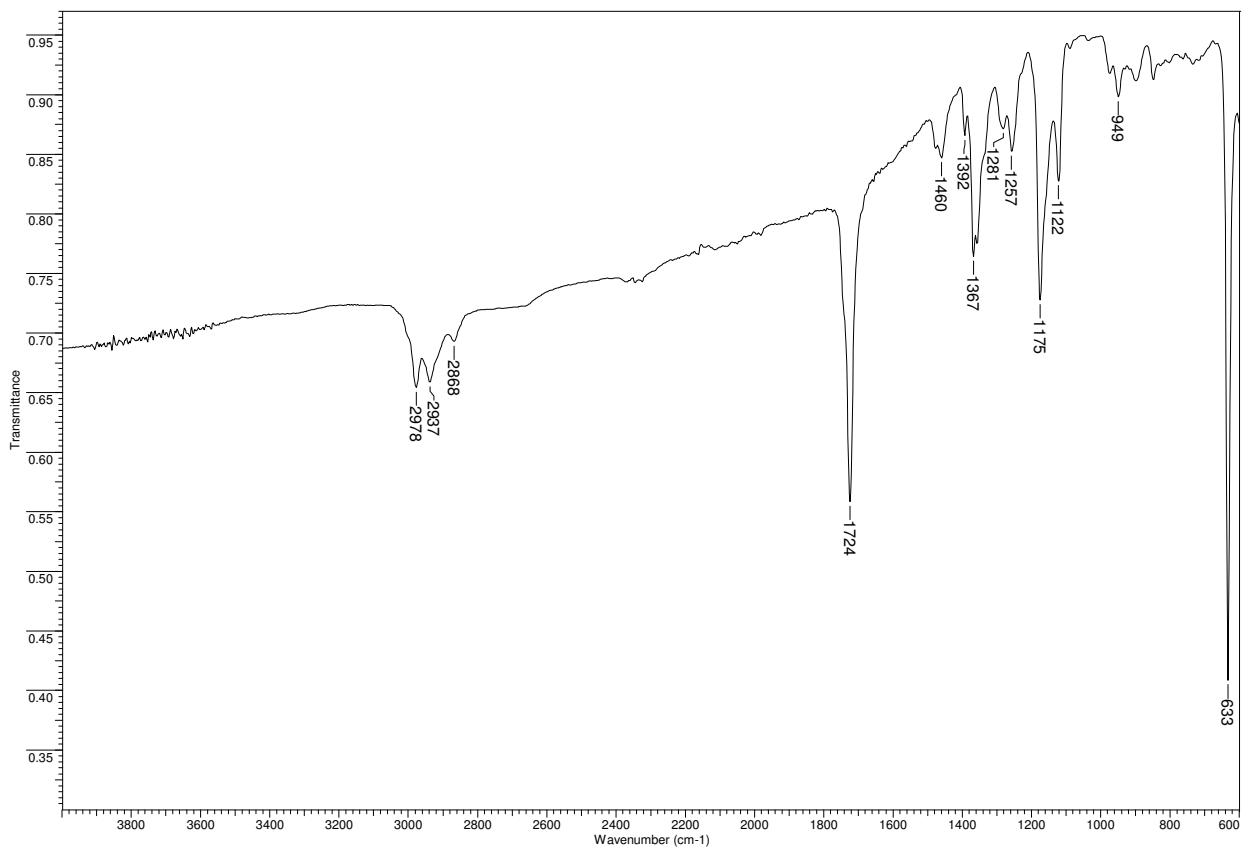
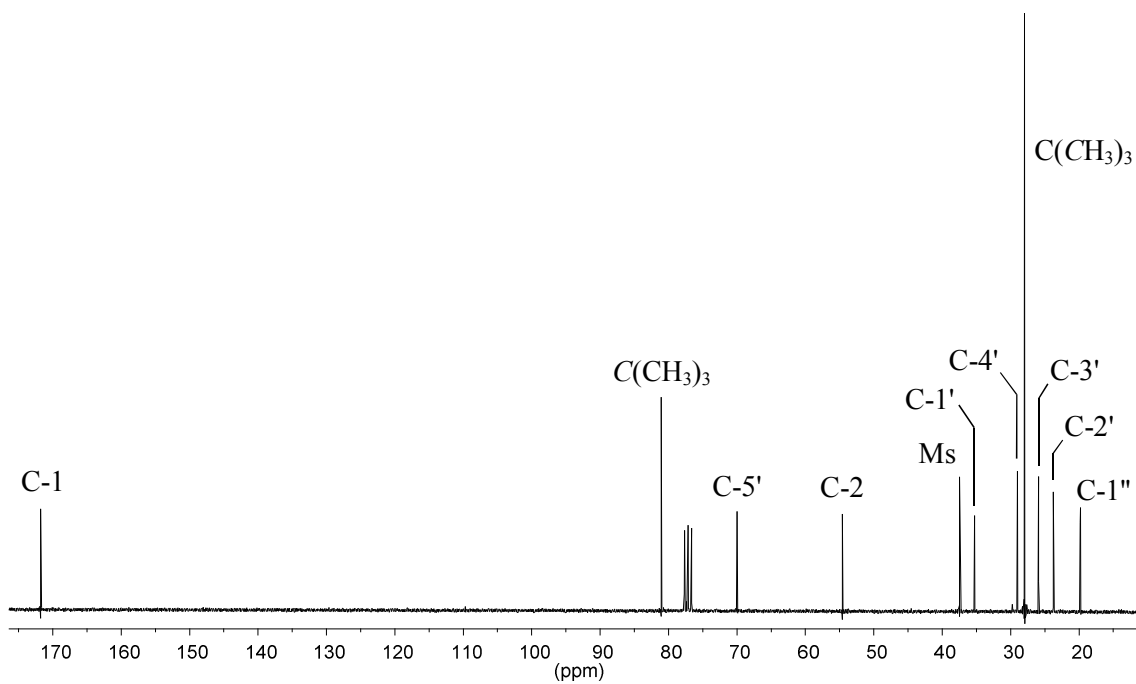
ii. Espectres de RMN i IR

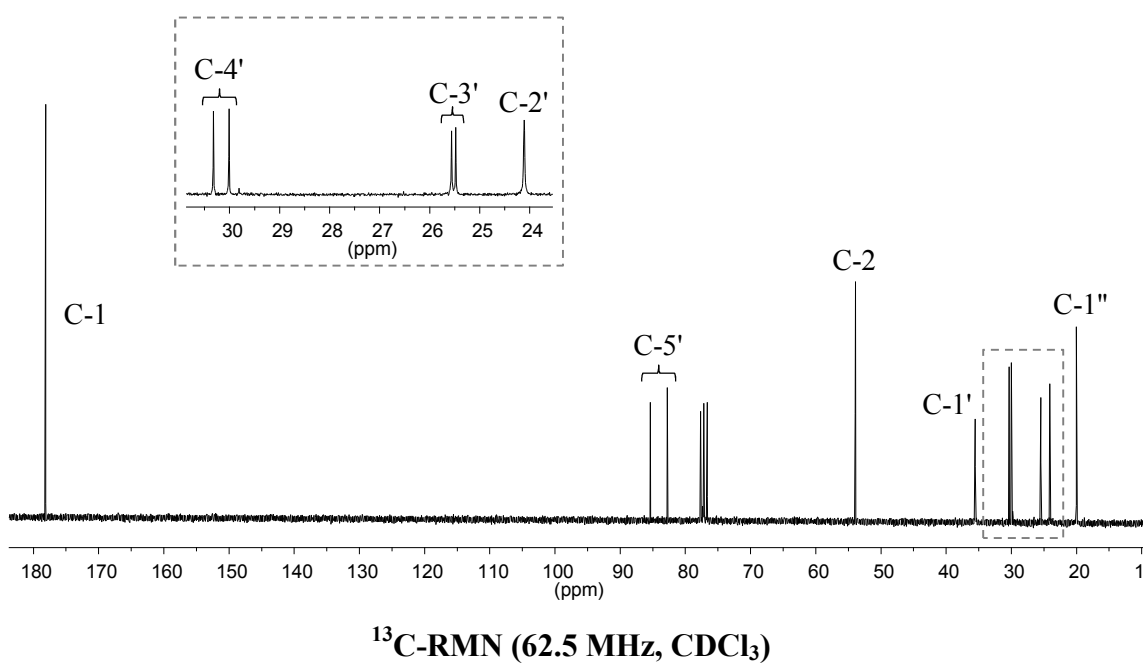
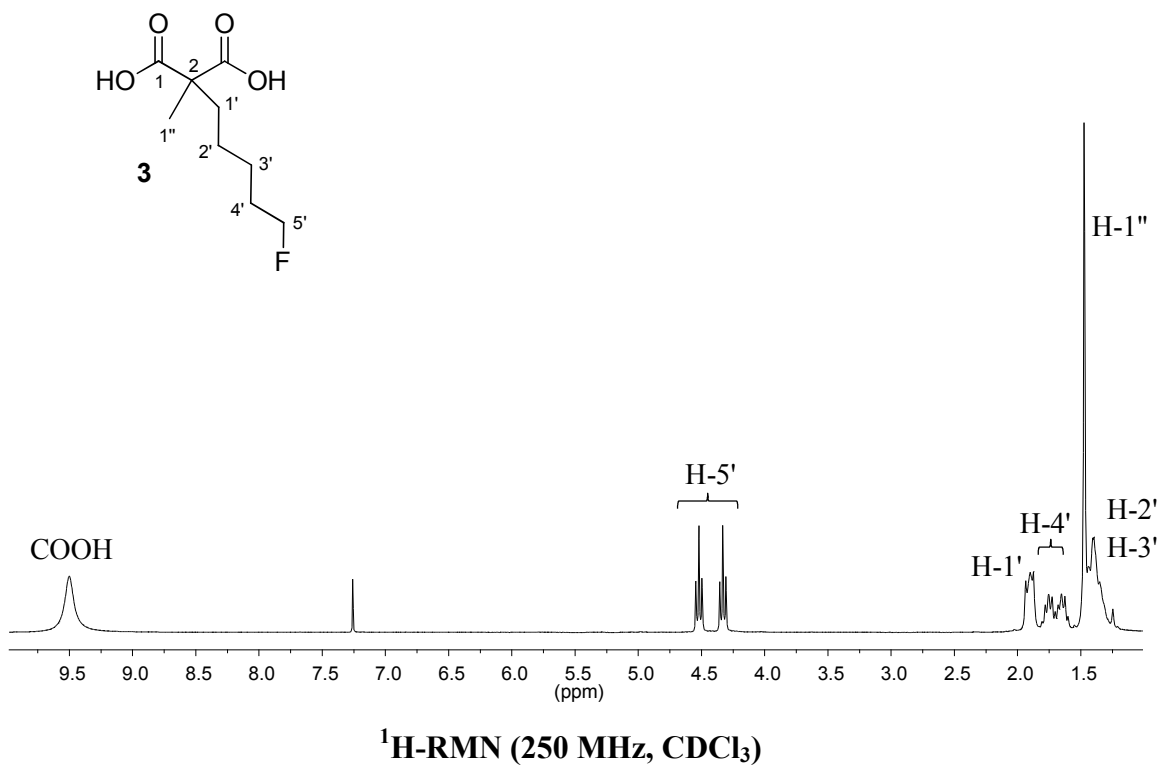


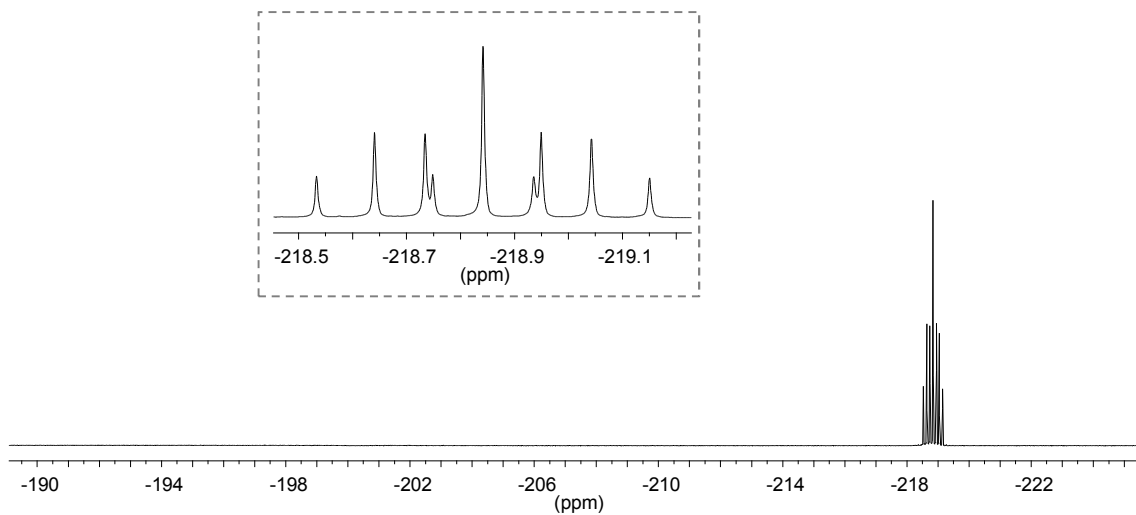


IR (ATR)

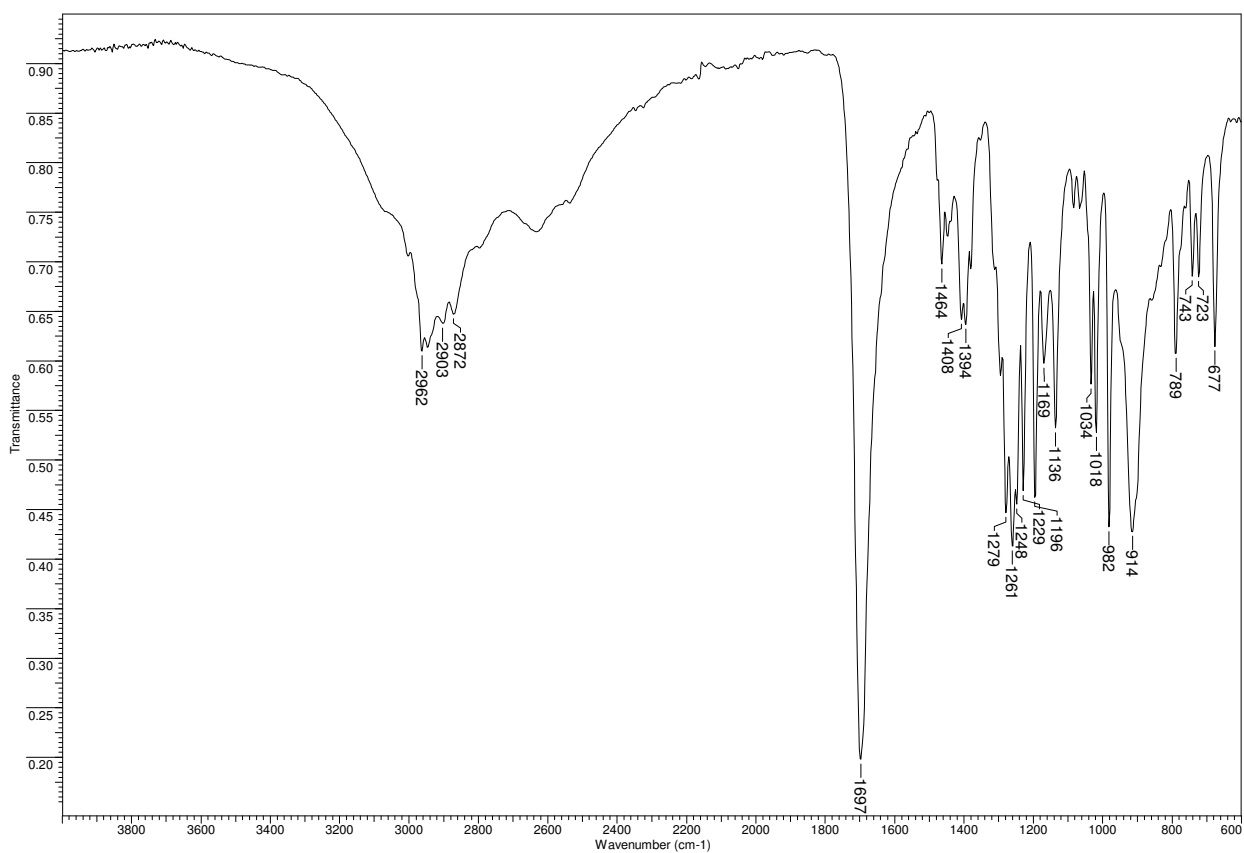
¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃)



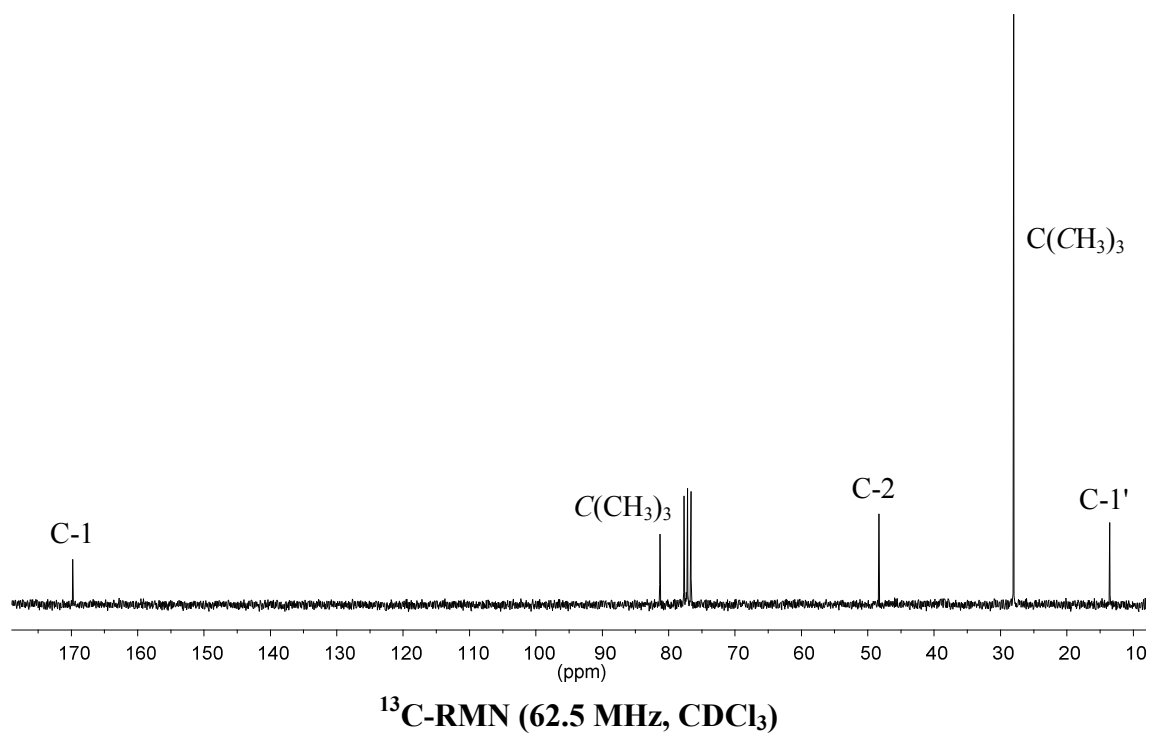
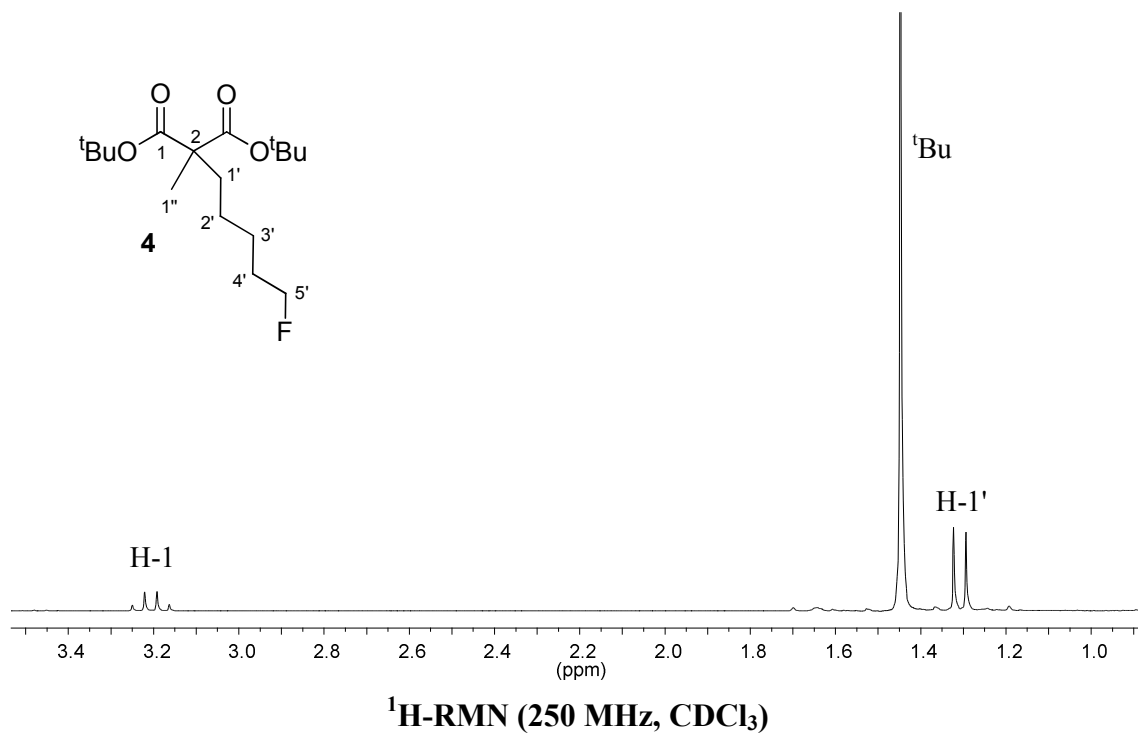


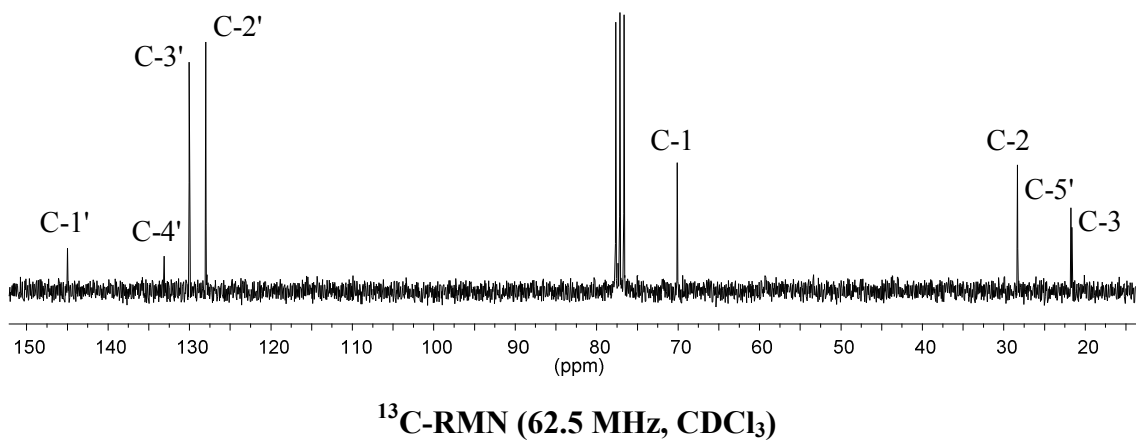
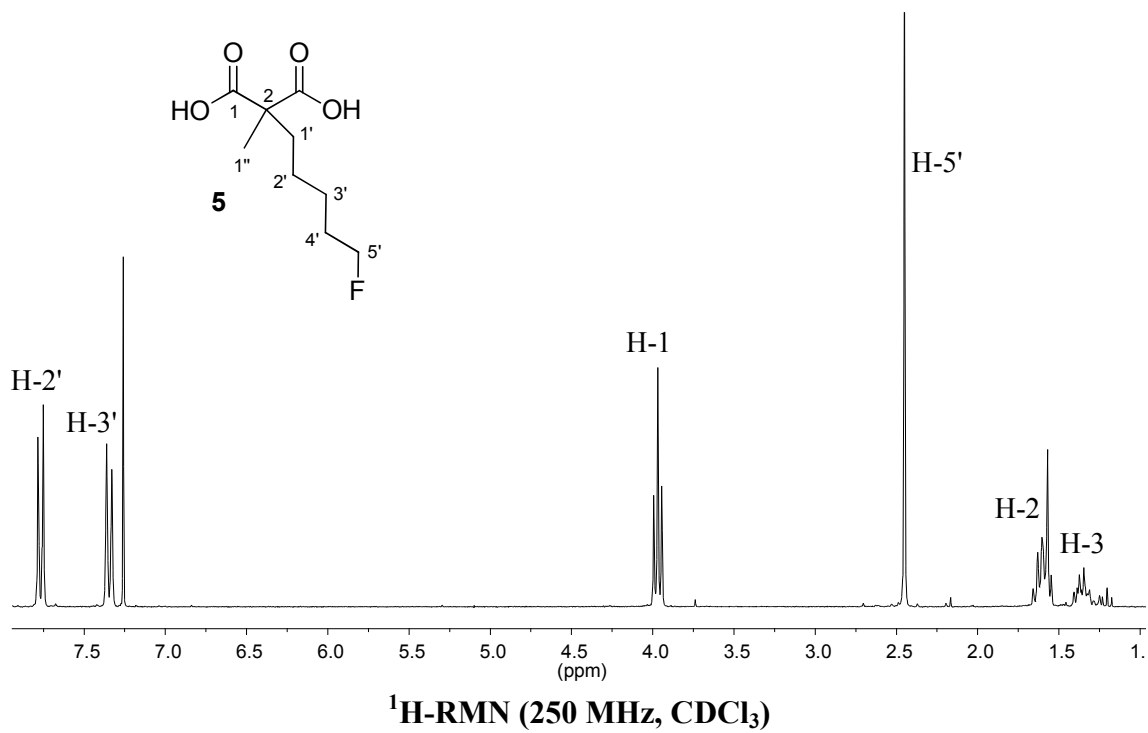


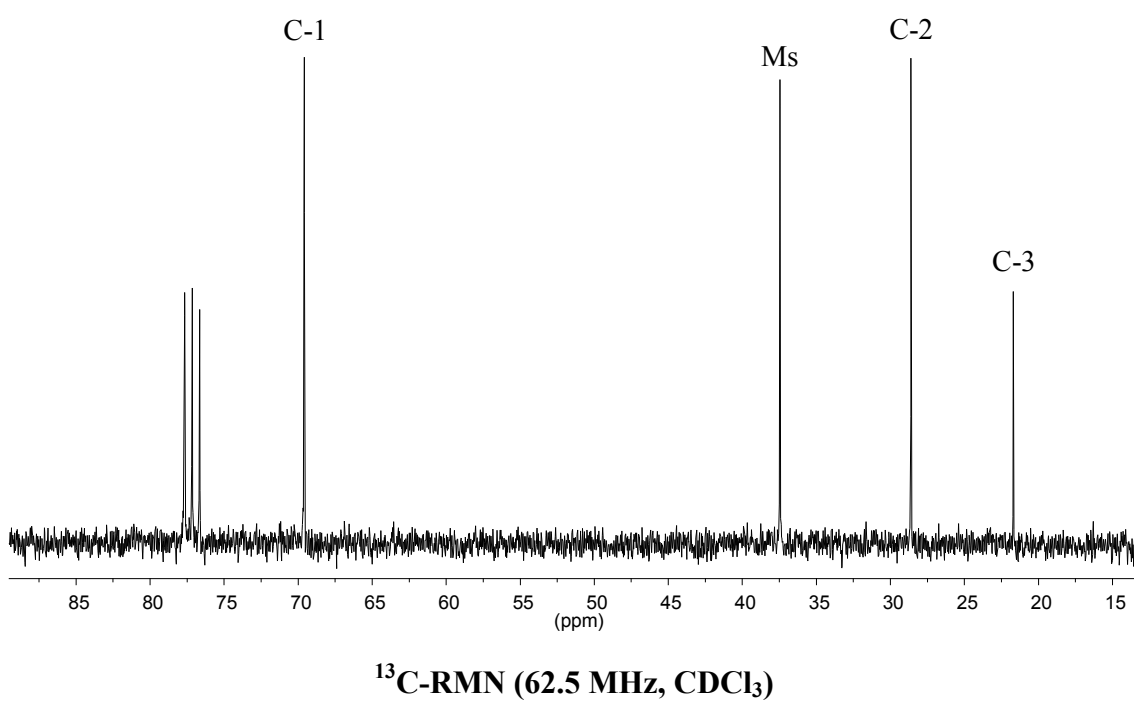
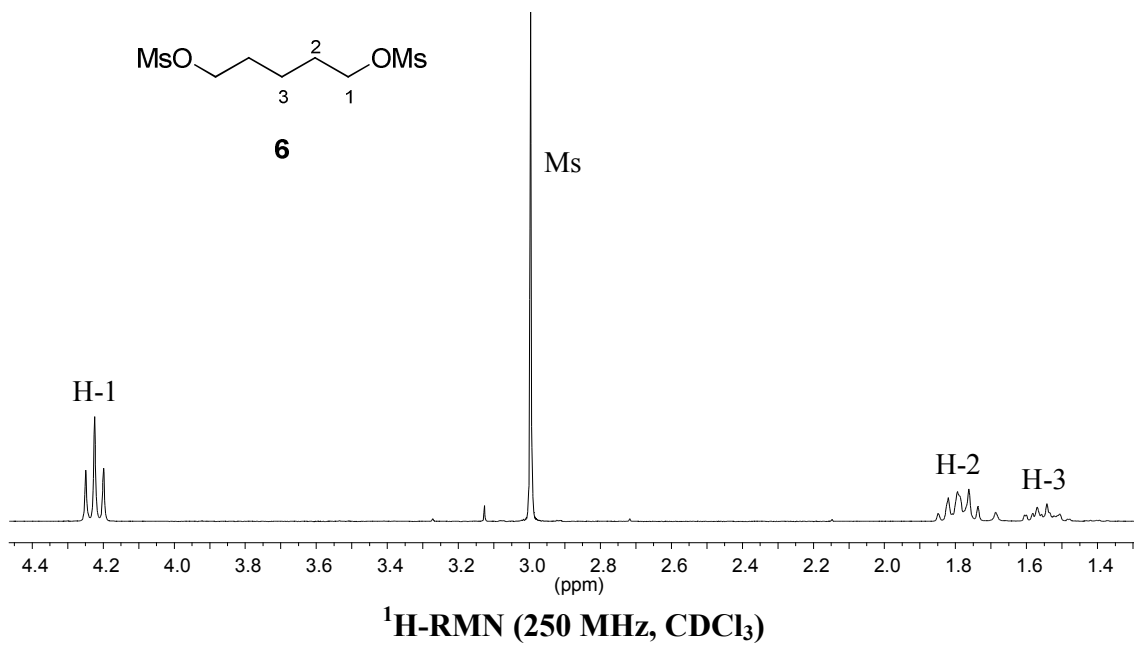
^{19}F -RMN (235 MHz, CDCl_3)

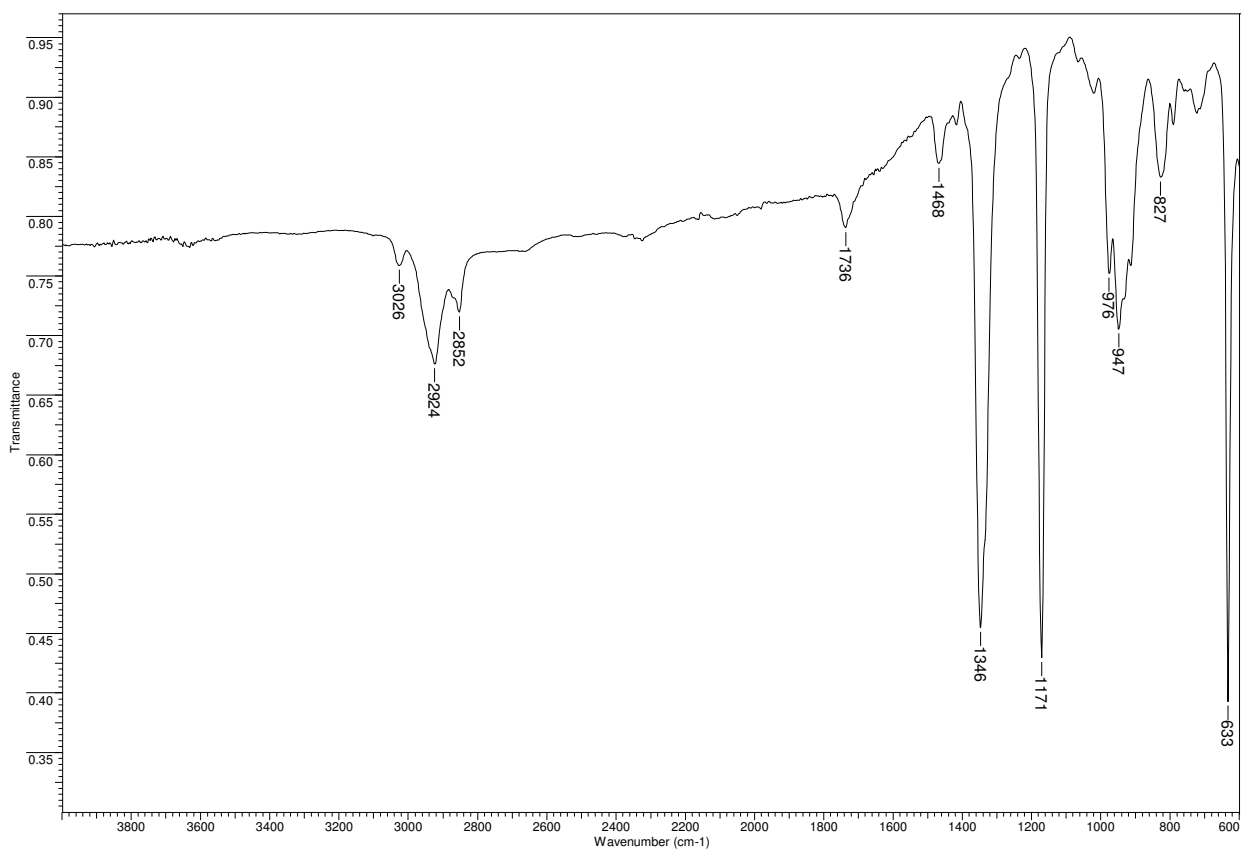


IR (ATR)

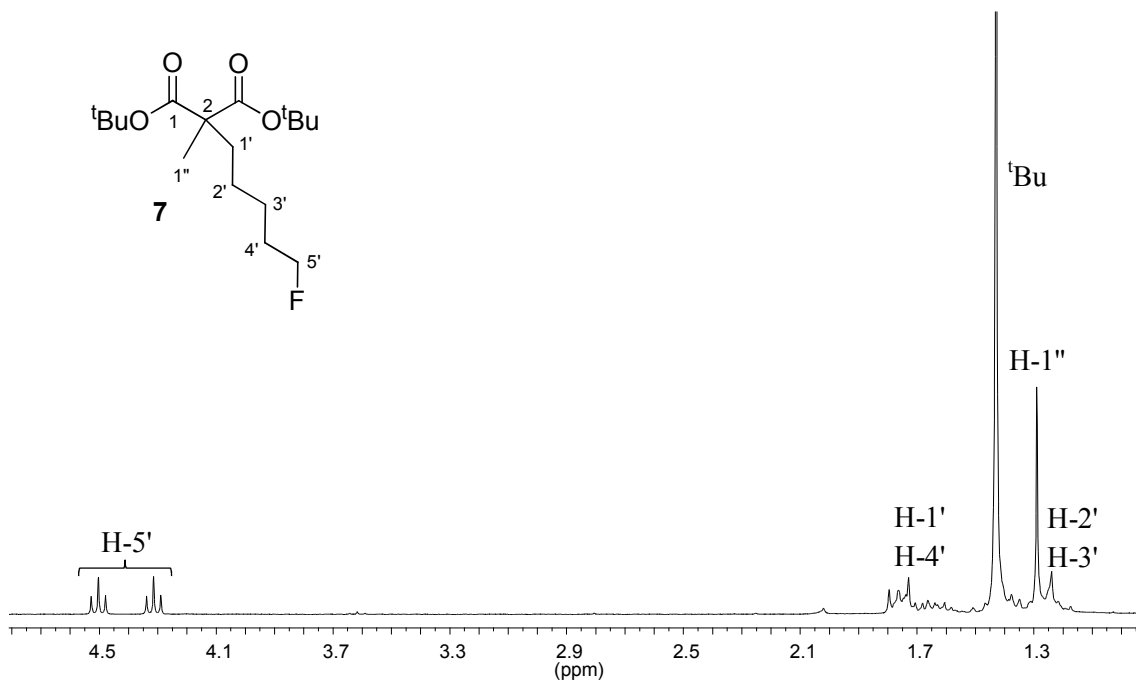


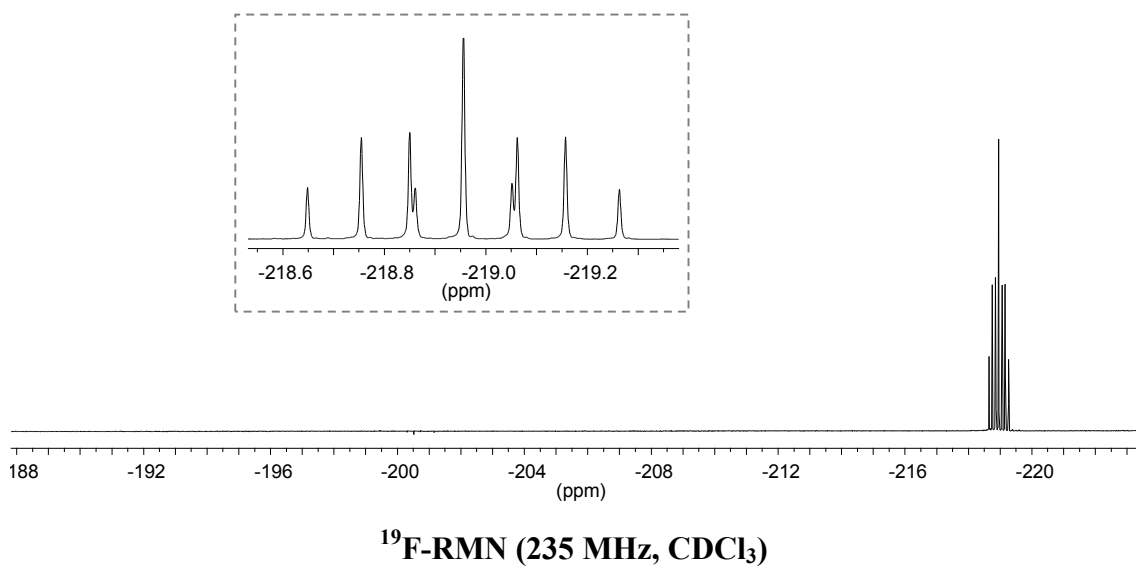
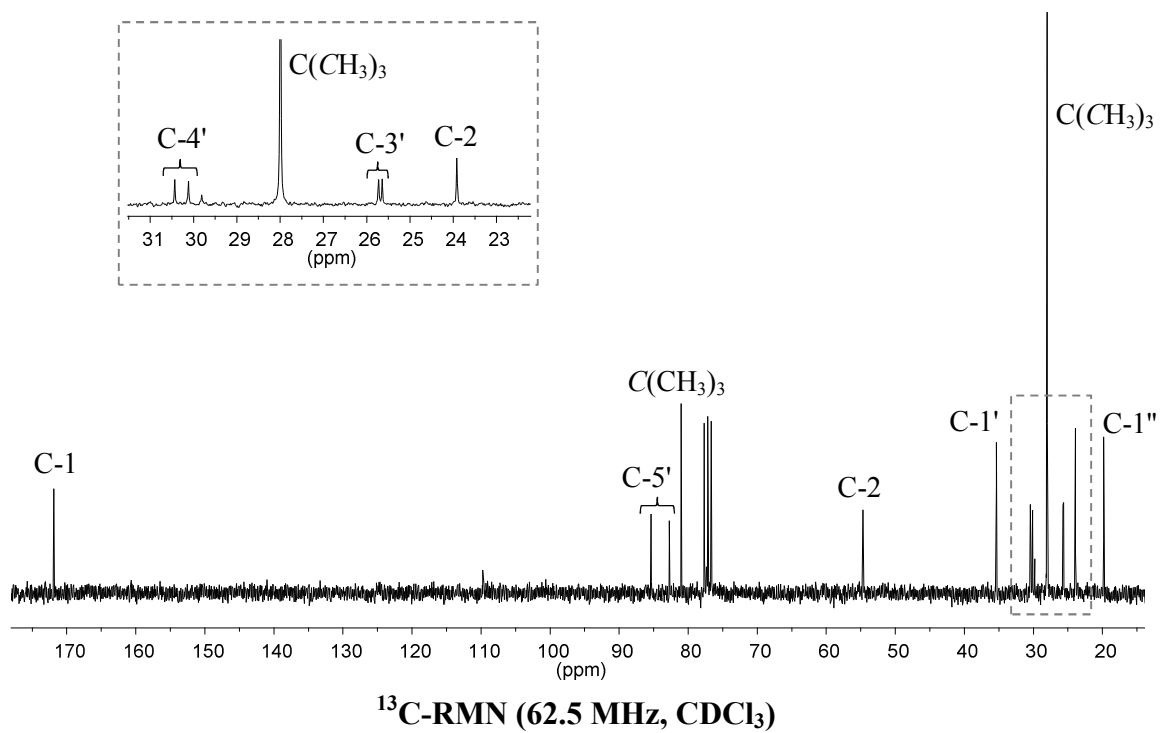


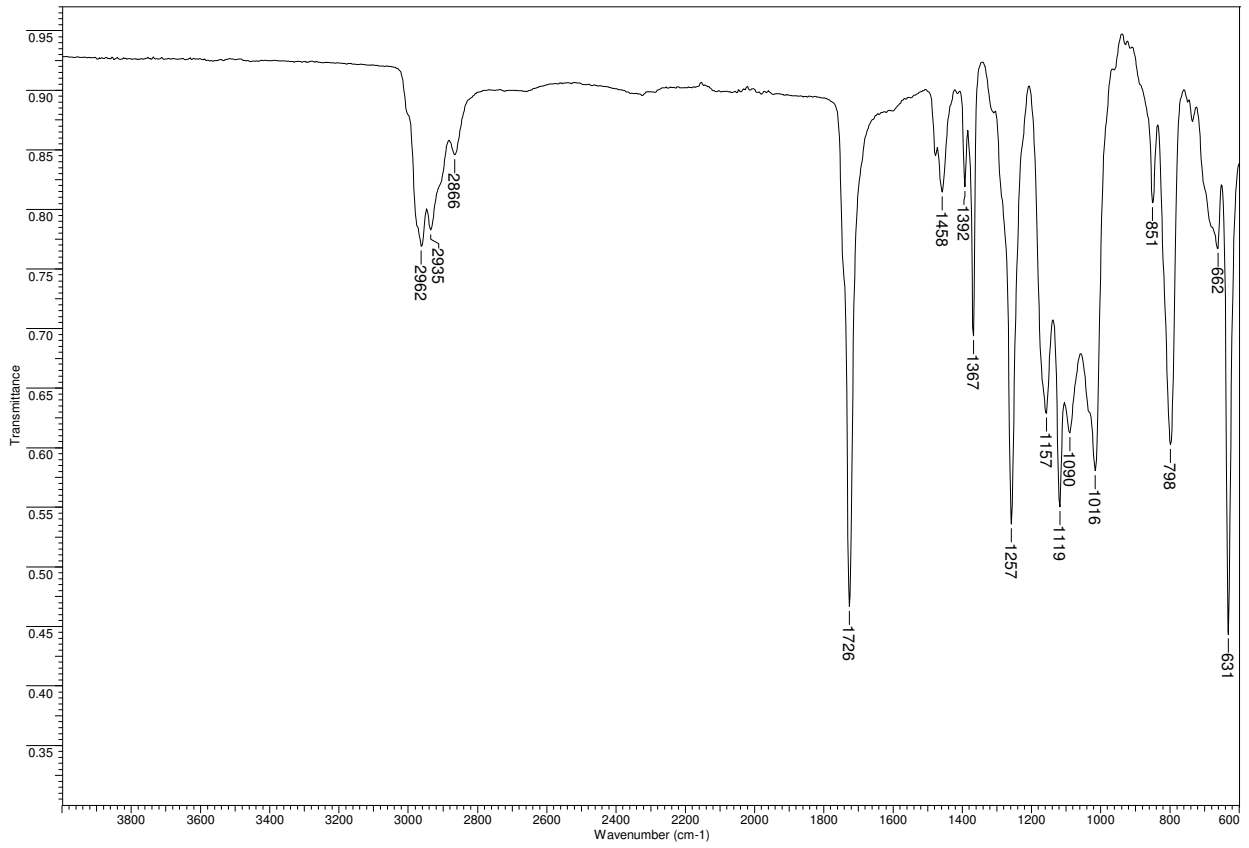




IR (ATR)

¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃)





IR (ATR)