

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 572 606**

51 Int. Cl.:

C07K 5/083 (2006.01)

C07K 5/103 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/5517 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2012 E 12865538 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 2817322**

54 Título: **Compuestos miméticos de Smac homo y heterodímeros como inductores de apoptosis**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.06.2016

73 Titular/es:

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO (25.0%)

Via Festa del Perdono, 7

20122 Milano, IT;

FONDAZIONE IRCCS ISTITUTO NAZIONALE DEI

TUMORI (25.0%);

CISI SCRL (25.0%) y

FONDAZIONE CARIPLO (25.0%)

72 Inventor/es:

SENECI, PIERFAUSTO;

BELVISI, LAURA;

COSSU, FEDERICA;

DELIA, DOMENICO;

DRAGO, CARMELO;

LECIS, DANIELE;

MAIORANA, STEFANO;

MANZONI, LEONARDO PIERPAOLO;

MASTRANGELO, ELOISE;

MILANI DE MAYO DE MARI, MARIO;

PEREGO, PAOLA MARIA CHIARA y

VASILE, FRANCESCA

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 572 606 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

Compuestos miméticos de Smac homo y heterodímeros como inductores de apoptosis

Campo de la invención

5 La presente invención se relaciona con miméticos homo- y heterodiméricos restringidos conformacionalmente de Smac (Segundo activador derivado de mitocondrias de caspasas) con función como inhibidores de proteína inhibidora de la apoptosis (IAPs). La invención también se relaciona con el uso de estos compuestos, solos o en combinación con otros ingredientes activos, en el tratamiento de cáncer, en donde la inducción de la muerte celular por apoptosis es beneficiosa.

Antecedentes técnicos

10 La apoptosis es absolutamente necesaria para el desarrollo humano y la supervivencia, con millones de células que se suicidan diariamente como una manera de prevenir el crecimiento descontrolado. Los defectos en la apoptosis, junto con las señales de crecimiento amplificadas, a menudo conducen al cáncer. La orientación de los defectos de la apoptosis en el cáncer tiene un enorme potencial.

15 La primera proteína de apoptosis humana identificada fue BCL-2, como inhibidor de la apoptosis, en 1984. El papel de las proteasas caspasas que actúan como ejecutores directos de la célula por escisión de otras proteínas celulares se reveló en los seres humanos a comienzos de 1993. En la célula lista para morir, los miembros de la familia BCL-2 pro-apoptóticos, como BAX, interrumpen las mitocondrias, causando la liberación de otras proteínas que conducen a la liberación de caspasa y la muerte celular. La activación de esta denominada ruta apoptótica "intrínseca" es el objetivo de muchos de los nuevos fármacos contra el cáncer.

20 Una segunda ruta de muerte celular, "extrínseca", también es una diana importante, y el primer denominado receptor de muerte, DR4, fue descubierto alrededor de 1996.

25 La mayoría de las terapias actuales contra el cáncer, incluyendo agentes quimioterapéuticos, radiación e inmunoterapia, trabajan mediante la inducción de la apoptosis indirectamente en las células cancerosas. La incapacidad de las células cancerosas para ejecutar un programa de apoptosis debido a defectos en la maquinaria apoptótica normales, por lo tanto, a menudo se asocia con un aumento en la resistencia a la quimioterapia, radiación o apoptosis inducida por la inmunoterapia.

A este respecto, los reguladores negativos cruciales de orientación que juegan un papel central en la inhibición directamente de apoptosis en células de cáncer representa una estrategia terapéutica muy prometedora para el nuevo diseño de fármacos contra el cáncer.

30 Se han identificado dos clases de reguladores negativos centrales de apoptosis. La primera clase es la familia de BCL-2 de proteínas. Los productos biológicos anti-BCL-2 (antisentido, anticuerpos, etc.) se pusieron a prueba en ensayos clínicos de fase III para el tratamiento de tumores sólidos y no sólidos, mientras que recientemente varias moléculas pequeñas (obatoclax, gossypol, ABT-763) también han entrado en ensayos clínicos de fase II para las mismas indicaciones.

35 La segunda clase de reguladores negativos centrales de la apoptosis es la proteína inhibidora de la apoptosis (IAP). Las IAP suprimen potentemente la apoptosis inducida por una gran variedad de estímulos apoptóticos, incluyendo agentes quimioterapéuticos, radiación e inmunoterapia en células de cáncer.

40 La IAP unida a X (XIAP) es el miembro de la familia de IAP más estudiado, y uno de los inhibidores más potentes en la supresión de la apoptosis entre todos los miembros de la IAP. XIAP juega un papel clave en la regulación negativa de la apoptosis en las rutas de la muerte tanto mediadas por el receptor como mediadas por las mitocondrias. XIAP funciona como un potente inhibidor de la apoptosis endógena mediante la unión directa e inhibe potentemente tres miembros de las enzimas de la familia de la caspasa, caspasa-3, -7 y -9. XIAP contiene tres dominios de repetición de la apoptosis de inhibidores de baculovirus (BIR). El tercer dominio BIR (BIR3) se dirige selectivamente a la caspasa-9, la caspasa iniciadora en la ruta mitocondrial, mientras que la región enlazante entre BIR1 y BIR2 inhibe tanto la caspasa-3 y caspasa-7. Mientras que la unión a XIAP previene la activación de las tres caspasas, es evidente que la interacción con la caspasa-9 es la más crítica para su inhibición de la apoptosis. Debido a que XIAP bloquea la apoptosis en la fase efectora en dirección 3', un punto donde múltiples rutas de señalización convergen, las estrategias orientadas a XIAP pueden demostrar que son especialmente eficaces para superar la resistencia de las células cancerosas a la apoptosis.

50 Más recientemente, también se identificaron IAP celulares 1 y 2 (cIAP-1 y cIAP-2) y se caracterizaron como potentes inhibidores de la supresión de la apoptosis a través de dos rutas diferentes. La inhibición de la caspasa directa pasa a

través de la unión a los mismos dominios BIR como XIAP, pero también se observa la inhibición de la apoptosis inducida por TNF- α y la inducción de la activación de NF- κ B no canónica.

Un equilibrio entre la supervivencia de las células endoteliales y la apoptosis contribuye a la integridad de la pared del vaso sanguíneo durante el desarrollo vascular y la angiogénesis patológica.

5 Se ha demostrado que tanto la cIAP-1 como la cIAP-2 son esenciales para mantener este equilibrio. Por lo tanto, ambas cIAP pueden desempeñar un papel importante en el control de la angiogénesis y la homeostasis de los vasos sanguíneos en varias patologías que implican la regeneración y la tumorigénesis.

10 Hay evidencia para indicar que XIAP y cIAP se sobreexpresan ampliamente en muchos tipos de cáncer y pueden desempeñar un papel importante en la resistencia de las células cancerosas a una variedad de agentes terapéuticos actuales. Por lo tanto, existe una fuerte razón fundamental para los inhibidores de IAP-pan como agentes pro-apoptóticos potentes y eficaces en oncología.

15 Recientemente, Smac/DIABLO (segundo activador de mitocondrias derivadas de las caspasas) se identificó como una proteína liberada de las mitocondrias en el citosol en respuesta a los estímulos apoptóticos. Smac se sintetiza con una secuencia de direccionamiento mitocondrial terminal N que se elimina proteolíticamente durante la maduración al polipéptido maduro. Se demostró que Smac interactúa directamente con XIAP, cIAP-1, cIAP-2 y otras IAP, para interrumpir su unión a caspasas y facilitar la activación de caspasas. Smac es un potente inhibidor endógeno de XIAP.

20 Smac/DIABLO interactúa con los dominios tanto BIR2 y BIR3 de XIAP. La estructura cristalina de Smac/DIABLO revela que forma un homodímero través de una interfaz grande, hidrófobo, y que la homodimerización es esencial para su unión al dominio BIR2, pero no BIR3, de XIAP. Los cuatro residuos amino-terminal de Smac/DIABLO (Ala-Val-Pro-Ile, AVPI) hacen contacto específico con una ranura de superficie de los dominios BIR2 y BIR3, pero no con el dominio BIR1, de XIAP. Significativamente, el motivo tetrapéptido conservado tiene notable homología con el motivo que interactúa con IAP encontrado en la secuencia amino-terminal p12 de la caspasa-9 (Ala-Thr-Pro-Phe) y las proteínas de *Drosophila* Hid (Ala-Val-Pro-Phe), Reaper (Ala-Val-Ala-Phe) y Grim (Ala-Ile-Ala-Tyr).

25 El valor K_d de unión de péptido de Smac AVPI con XIAP ($K_d = 0.4 \mu\text{M}$) es esencialmente el misma que el de la proteína Smac madura ($K_d = 0.42 \mu\text{M}$).

No se reportaron complejos de dominio de Smac-BIR de longitud completa de cIAP-1 o cIAP-2. Se informó de un complejo entre el dominio BIR3 de cIAP-1 y secuencias de Smac terminal N, que muestra modos y fuerza de unión similares en comparación con XIAP.

Objetos de la invención

30 Objeto de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos no peptídicos y un procedimiento para su preparación.

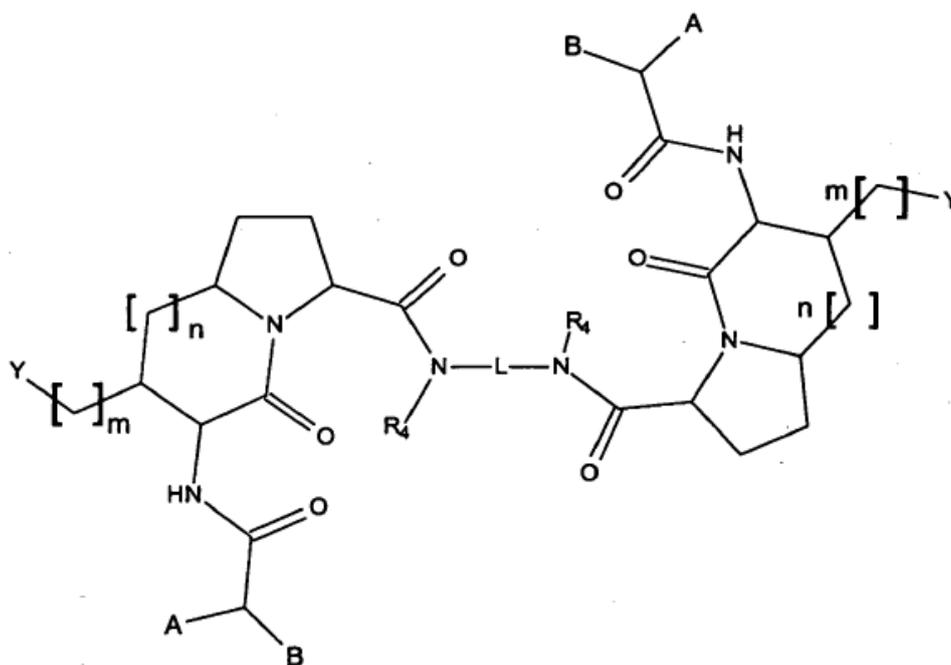
Aún otro objeto de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos no peptídicos que muestran actividad como inhibidores de aquellas sustancias que actúan como proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP), siendo así capaces de restablecer el proceso de apoptosis espontánea humana.

35 Un objeto adicional de la presente invención es superar las limitaciones intrínsecas de los inhibidores de IAP basados en péptidos, proporcionando compuestos no peptídicos.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar moléculas pequeñas homo- y heterodiméricas, no peptídicas, capaces de imitar la unión de Smac con XIAP, con cIAP-1 y con cIAP-2.

Descripción de la invención

40 Estos y también otros aspectos de la invención se alcanzan mediante un compuesto homodimérico de fórmula (I)



(I)

en donde:

n es 1 o 2

m es un número entero desde 0 a 3

5 A es

✓ NR_1R_2 , o

✓ $N+R_1R_2R_3$ donde

• R_1 , R_2 y R_3 son, cada uno independientemente,

- hidrógeno;

10 - alquilo C_{1-8} o heteroalquilo alquenilo C_{2-8} o heteroalquenilo; alquinilo C_{2-8} o heteroalquinilo;

- arilo, alquilarilo, heteroarilo, alquilheteroarilo opcionalmente sustituido;

o

15 - dos cualesquiera de R_1 , R_2 , y R_3 tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un grupo heterocíclico, opcionalmente sustituido por uno o más oxo, tioxo, y que comprende opcionalmente un heteroátomo seleccionado de O, S, y N, a condición de que el heteroátomo se separe del átomo de nitrógeno por al menos dos átomos de carbono;

R_4 es

✓ hidrógeno;

✓ alquilo C_{1-18} o heteroalquilo alquenilo C_{2-18} o heteroalquenilo; alquinilo C_{2-18} o heteroalquinilo opcionalmente sustituido;

20 ✓ arilo, alquilarilo, heteroarilo, o alquilheteroarilo opcionalmente sustituido;

B es

- ✓ alquilo C₁₋₄; alquenilo C₂₋₄; alquinilo C₂₋₄;
- ✓ arilo, alquilarilo, heteroarilo o alquilheteroarilo;

todos opcionalmente sustituidos por uno o más halógeno;

5 Y se selecciona entre:

- ✓ OR₅,
- ✓ NHR₅,
- ✓ NR₅R₆,
- ✓ NH-S(O)₂-R₅,

10

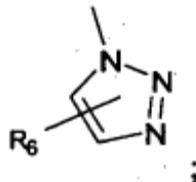
- ✓ N⁺(R₅)₃,
- ✓ SR₅,
- ✓ N₃,
- ✓ C(O)OR₅,
- ✓ CN,

15

- ✓ C(S)OR₅,
- ✓ C(S)NHR₅,
- ✓ C(NH)NHR₅,
- ✓ NH(CNH)NHR₅,
- ✓ NH(CS)NHR₅,

20

- ✓ NH(CO)NHR₅



donde

• R₅ es

- hidrógeno;

25

- alquilo C₁₋₈; alquenilo C₂₋₈; alquinilo C₂₋₈ opcionalmente sustituido;

- arilo; alquilarilo; heteroarilo opcionalmente sustituido;

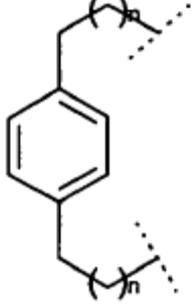
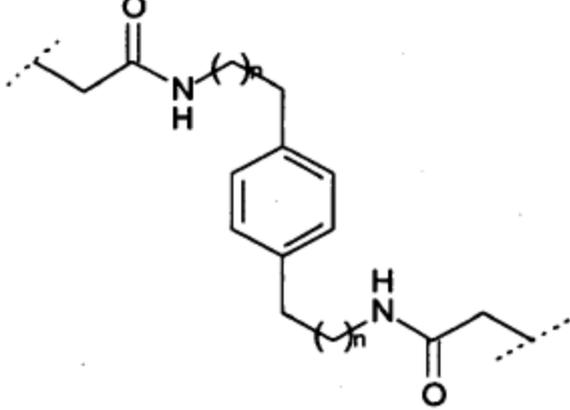
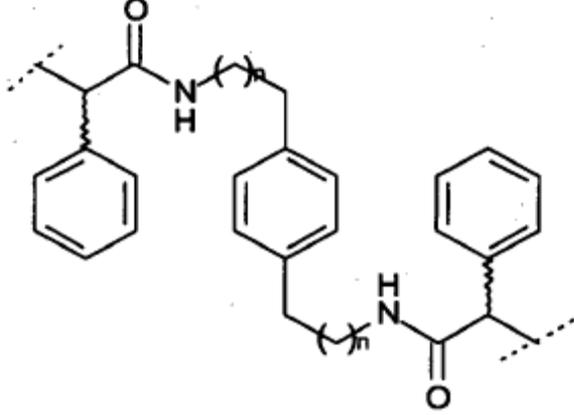
• R₆ es

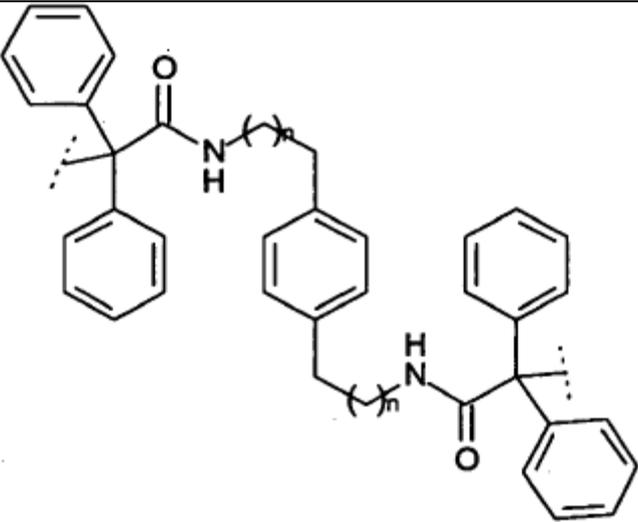
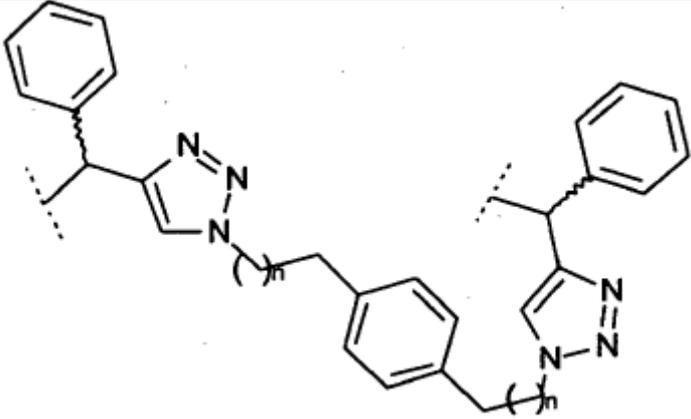
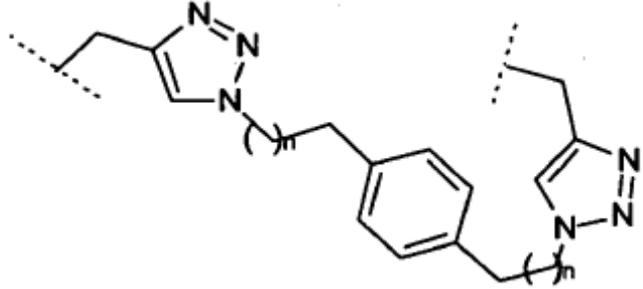
- alquilo C₁₋₈; alquenilo C₂₋₈; o alquinilo C₂₋₈ opcionalmente sustituido;

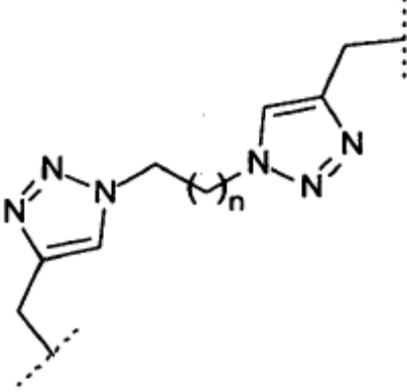
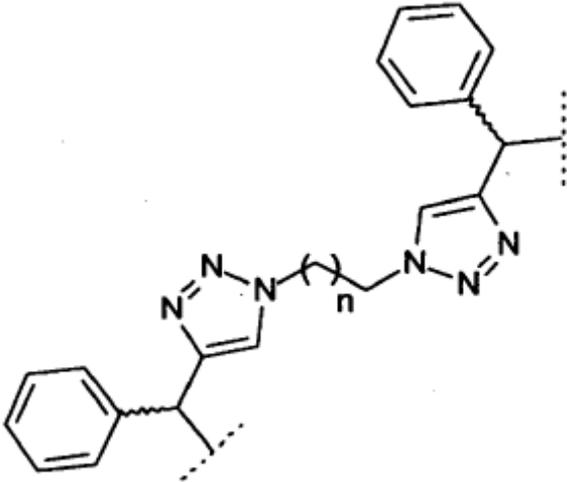
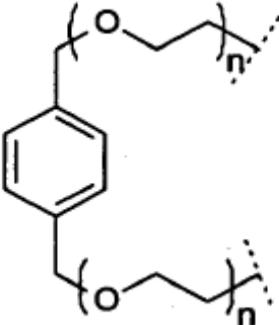
- arilo; alquilarilo; o heteroarilo opcionalmente sustituido;

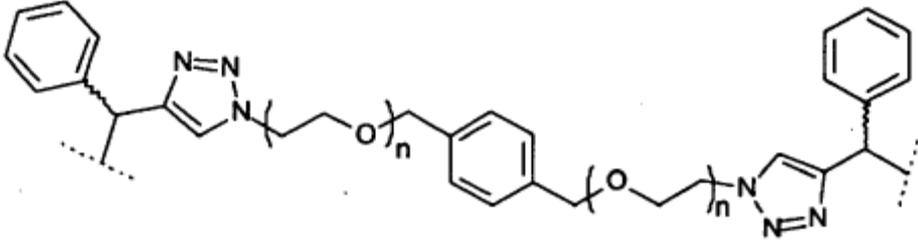
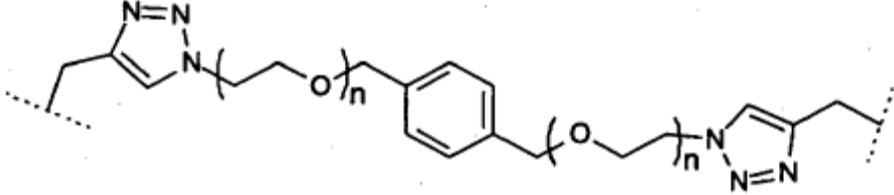
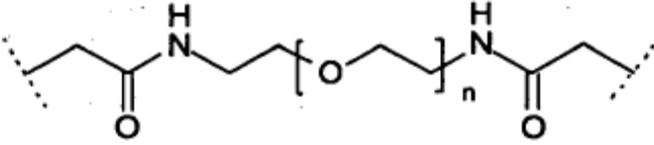
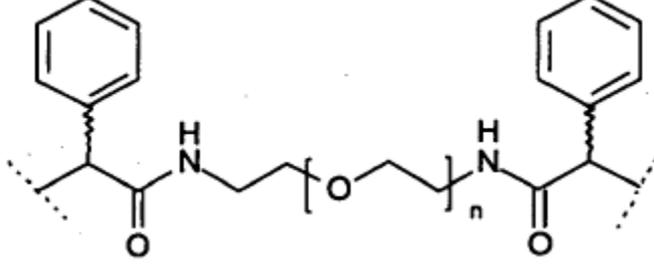
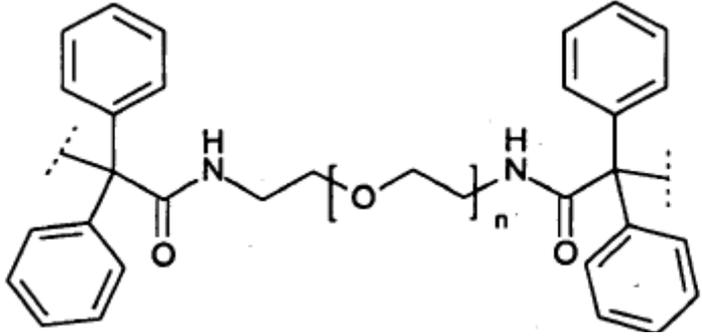
L es un "enlazante" seleccionado entre los enumerados en la siguiente Tabla I.

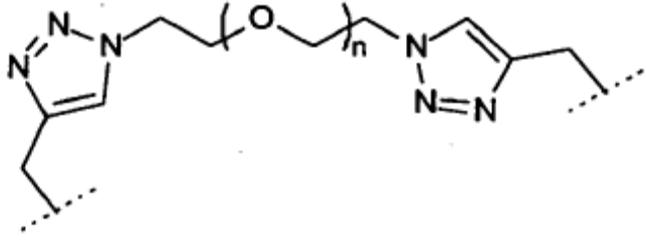
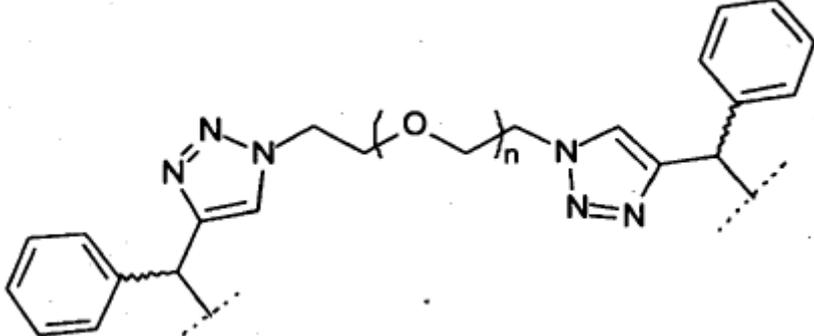
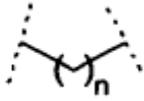
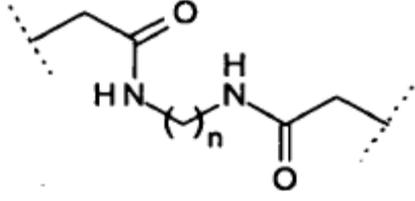
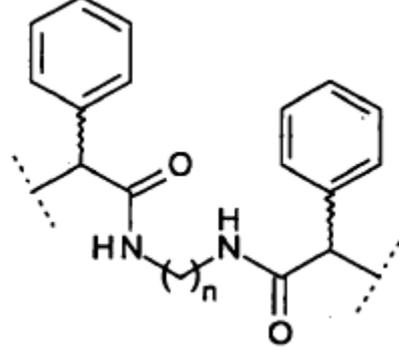
Tabla 1

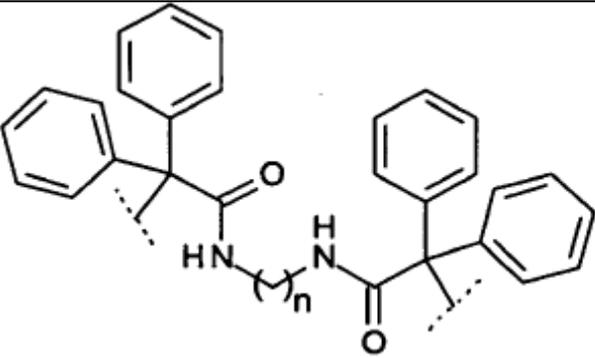
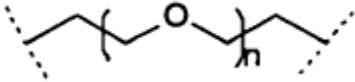
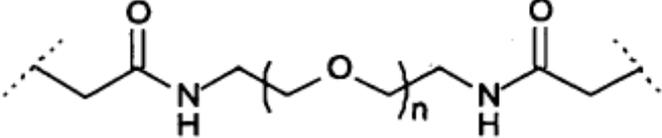
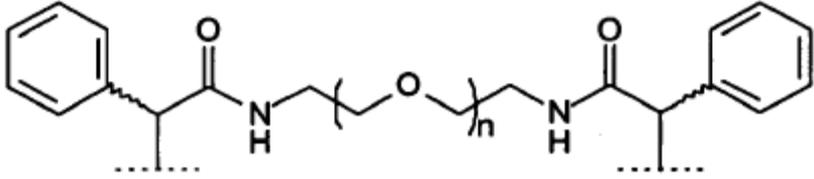
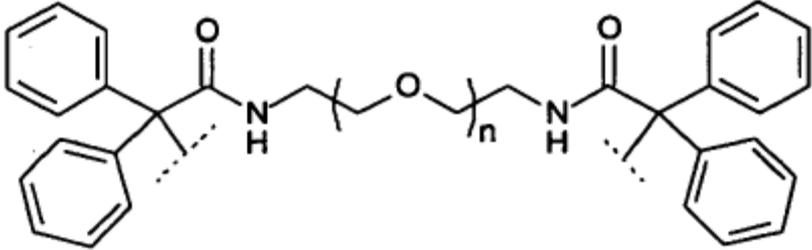
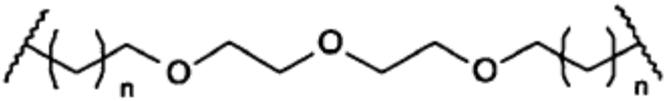
ENLAZANTE L	
L1	 <p data-bbox="411 779 831 813">n = 1-6, cada uno independientemente</p>
L2	 <p data-bbox="411 1283 831 1317">n = 1-6, cada uno independientemente</p>
L3	 <p data-bbox="411 1787 831 1821">n = 1-6, cada uno independientemente</p>

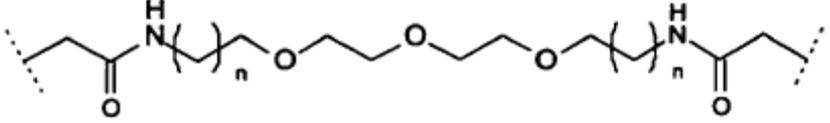
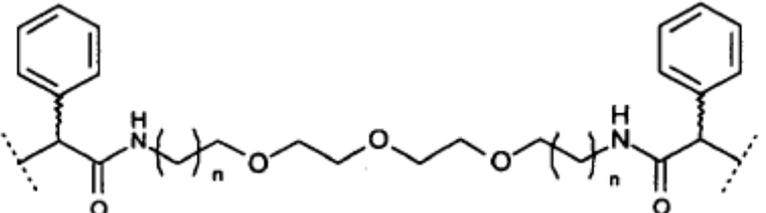
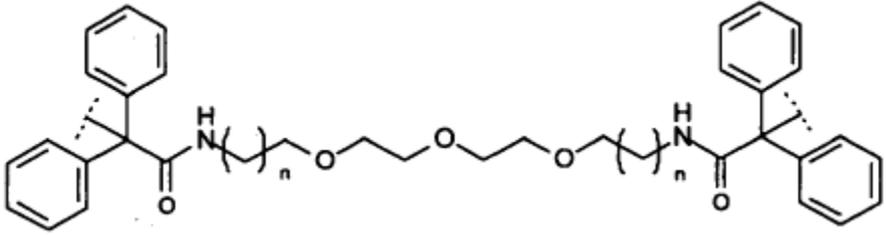
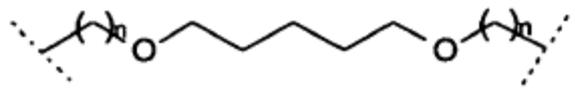
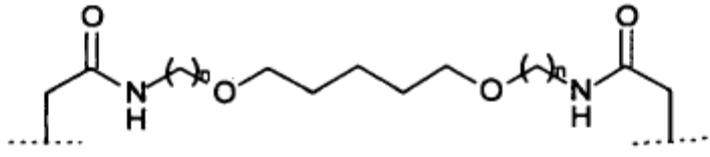
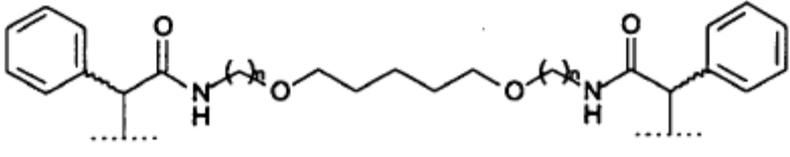
<p>L4</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L5</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L6</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

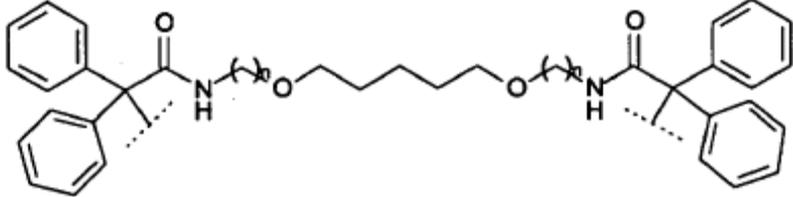
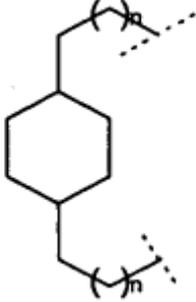
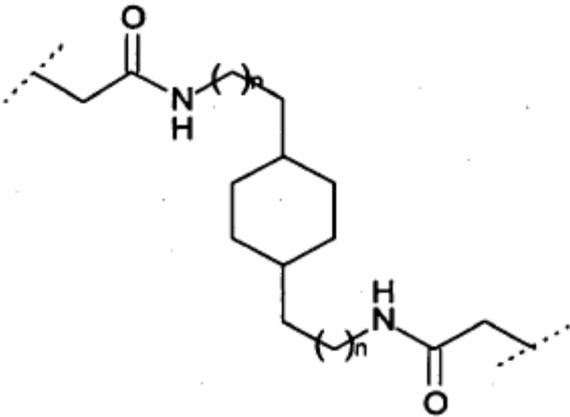
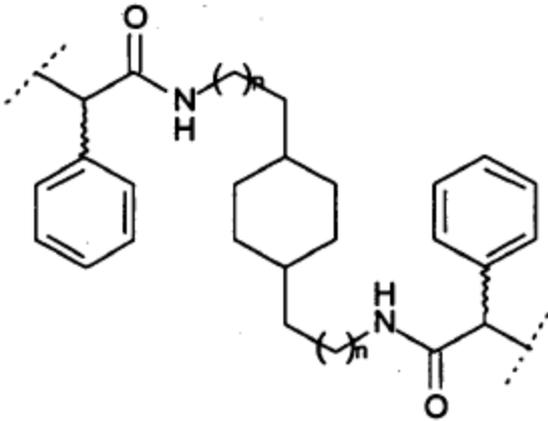
<p>L7</p>	 <p>n = 1-10</p>
<p>L8</p>	 <p>n = 1-10</p>
<p>L9</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>

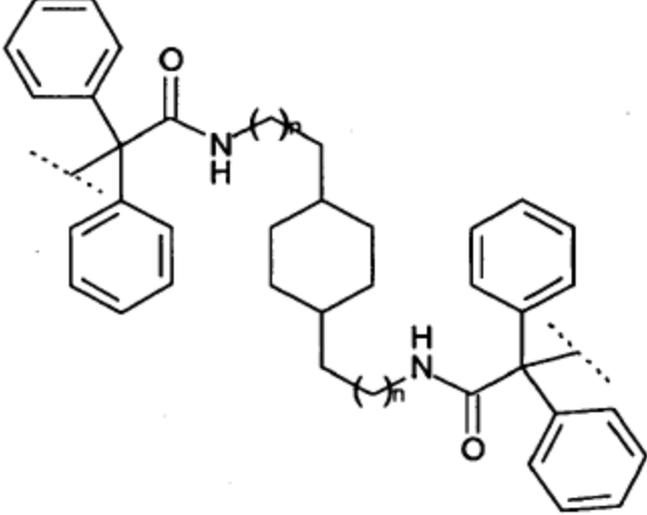
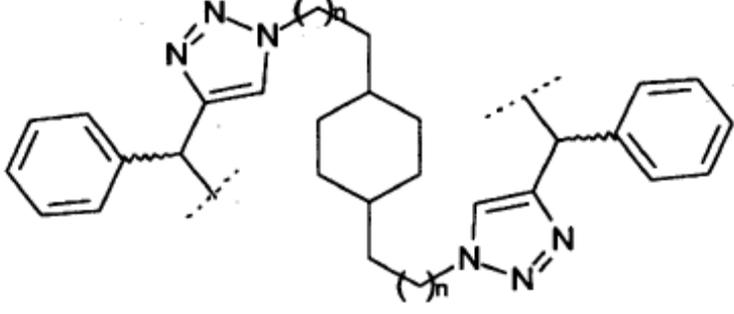
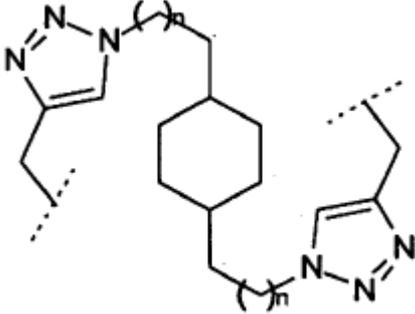
<p>L10</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L11</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L12</p>	 <p>n = 1-4</p>
<p>L13</p>	 <p>n = 1-4</p>
<p>L14</p>	 <p>n = 1-4</p>

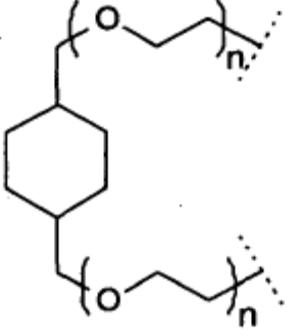
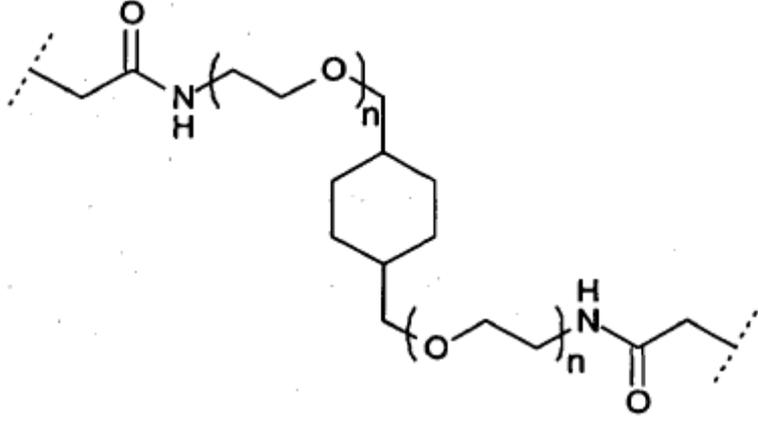
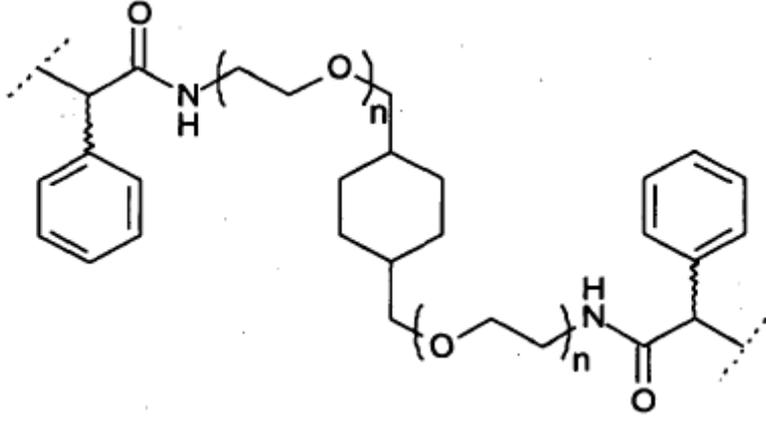
<p>L15</p>	 <p>n = 1-4</p>
<p>L16</p>	 <p>n = 1-4</p>
<p>L17</p>	 <p>n = 2-12</p>
<p>L18</p>	 <p>n = 2-12</p>
<p>L19</p>	 <p>n = 2-12</p>

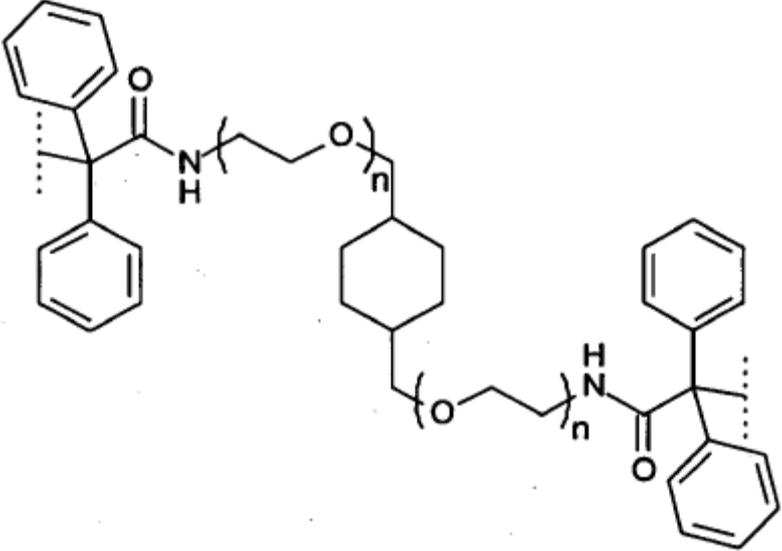
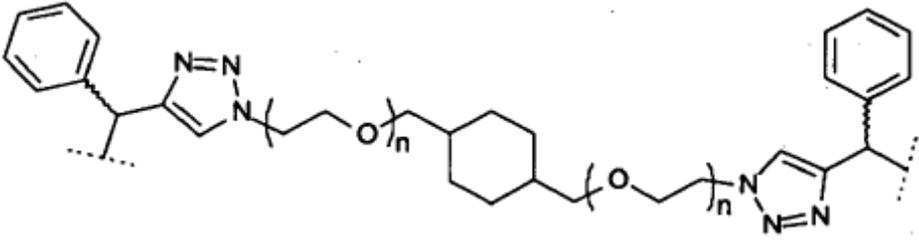
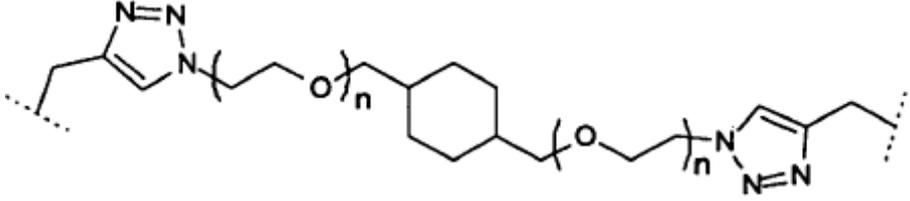
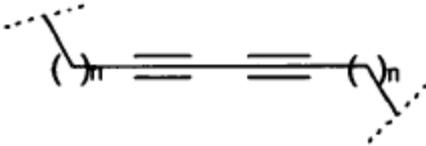
<p>L20</p>	 <p>n = 2-12</p>
<p>L21</p>	 <p>n = 1-5</p>
<p>L22</p>	 <p>n = 1-5</p>
<p>L23</p>	 <p>n = 1-5</p>
<p>L24</p>	 <p>n = 1-5</p>
<p>L25</p>	 <p>n = 1-3</p>

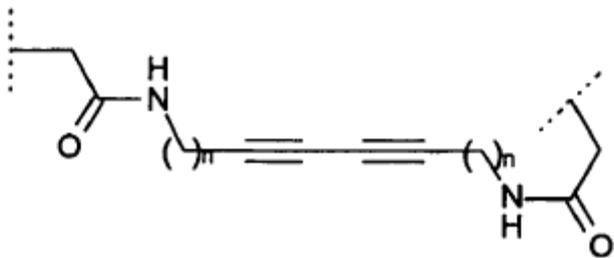
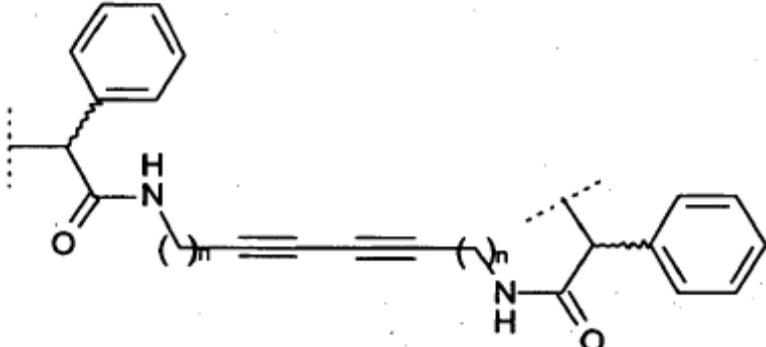
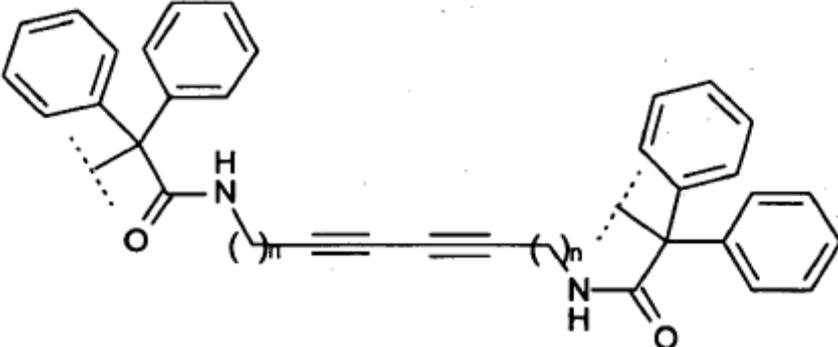
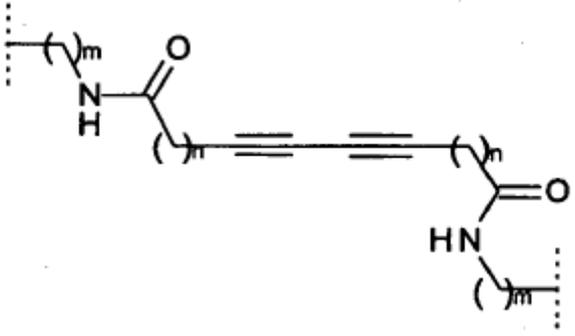
<p>L26</p>	 <p>$n = 1-3$</p>
<p>L27</p>	 <p>$n = 1-3$</p>
<p>L28</p>	 <p>$n = 1-3$</p>
<p>L29</p>	 <p>$n = 1-3$</p>
<p>L30</p>	 <p>$n = 1-3$</p>
<p>L31</p>	 <p>$n = 1-3$</p>

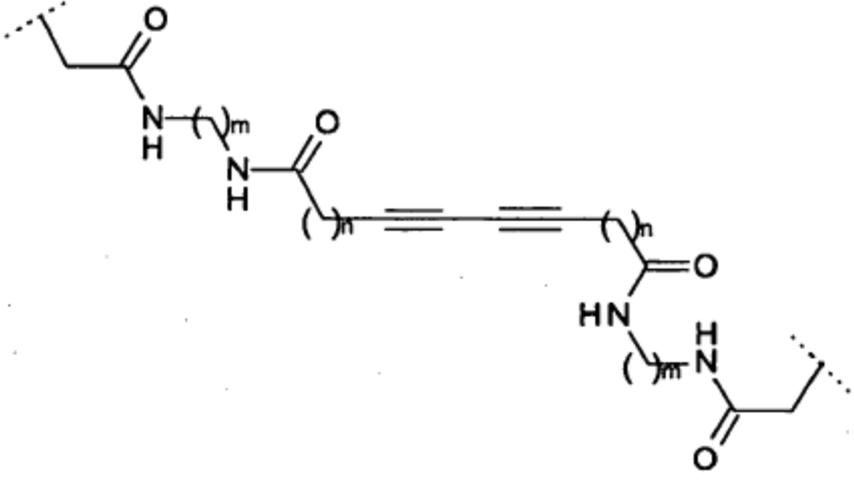
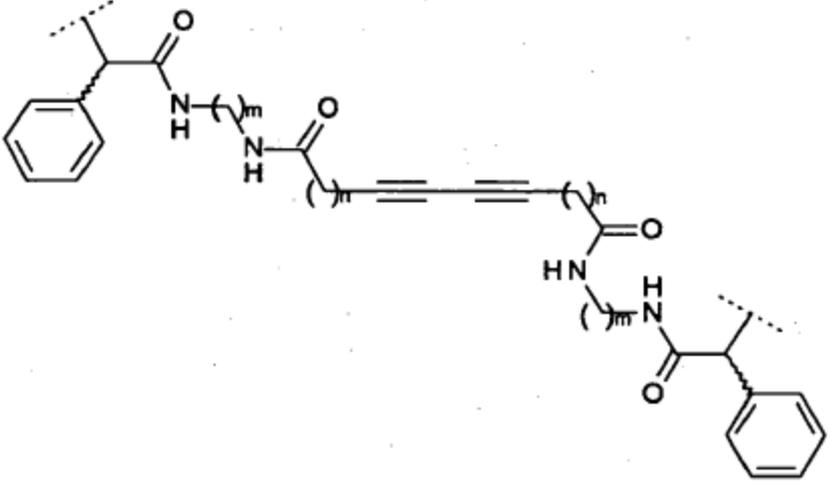
<p>L32</p>	 <p>n = 1-3</p>
<p>L33</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L34</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L35</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

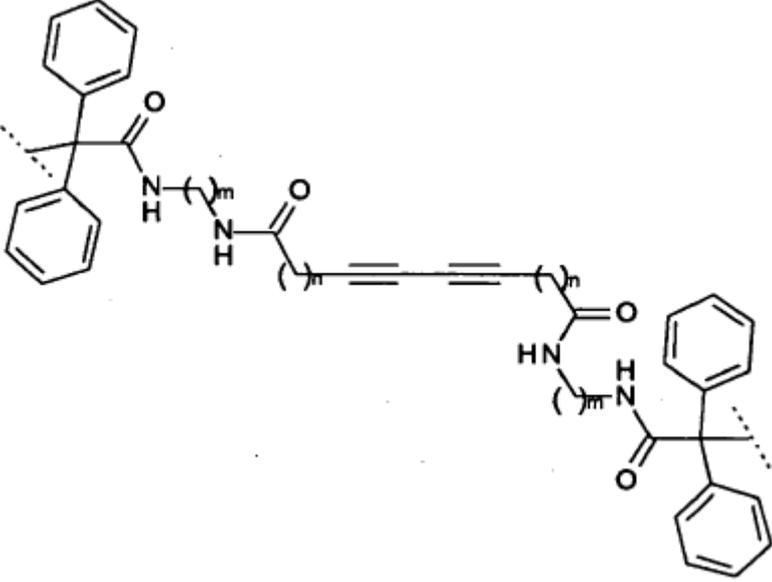
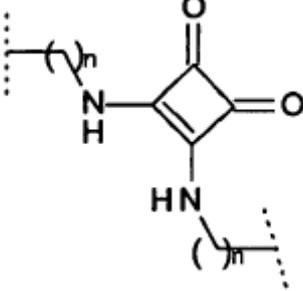
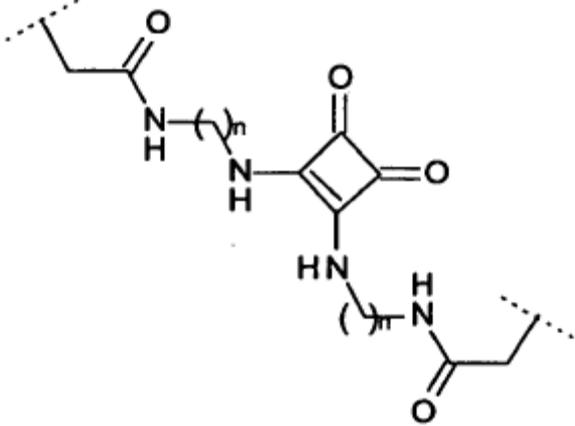
<p>L36</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L37</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L38</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

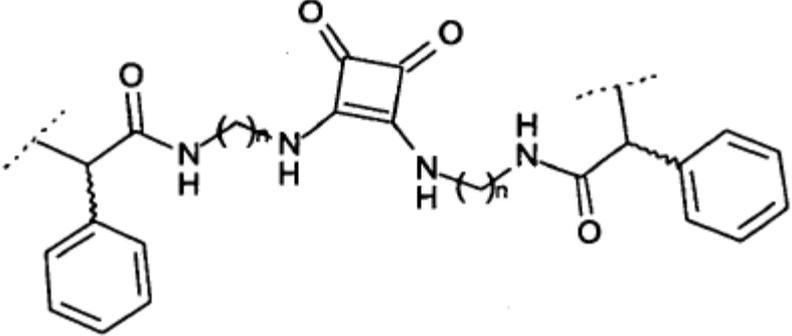
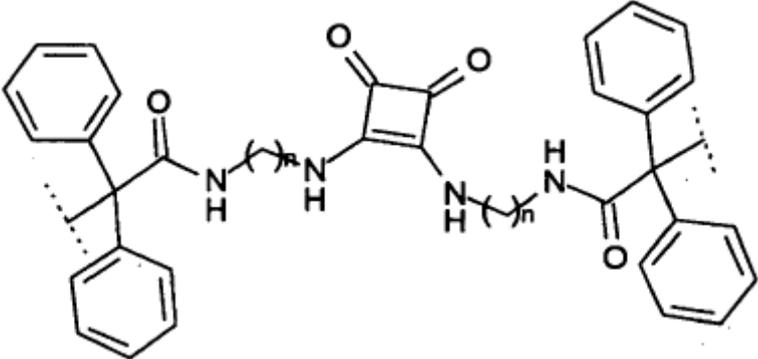
<p>L39</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L40</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L41</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>

<p>L42</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L43</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L44</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L45</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

<p>L46</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L47</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L48</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L49</p>	 <p>n, m = 1-6, cada uno independientemente</p>

<p>L50</p>	 <p>n, m = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L51</p>	 <p>n, m = 1-6, cada uno independientemente</p>

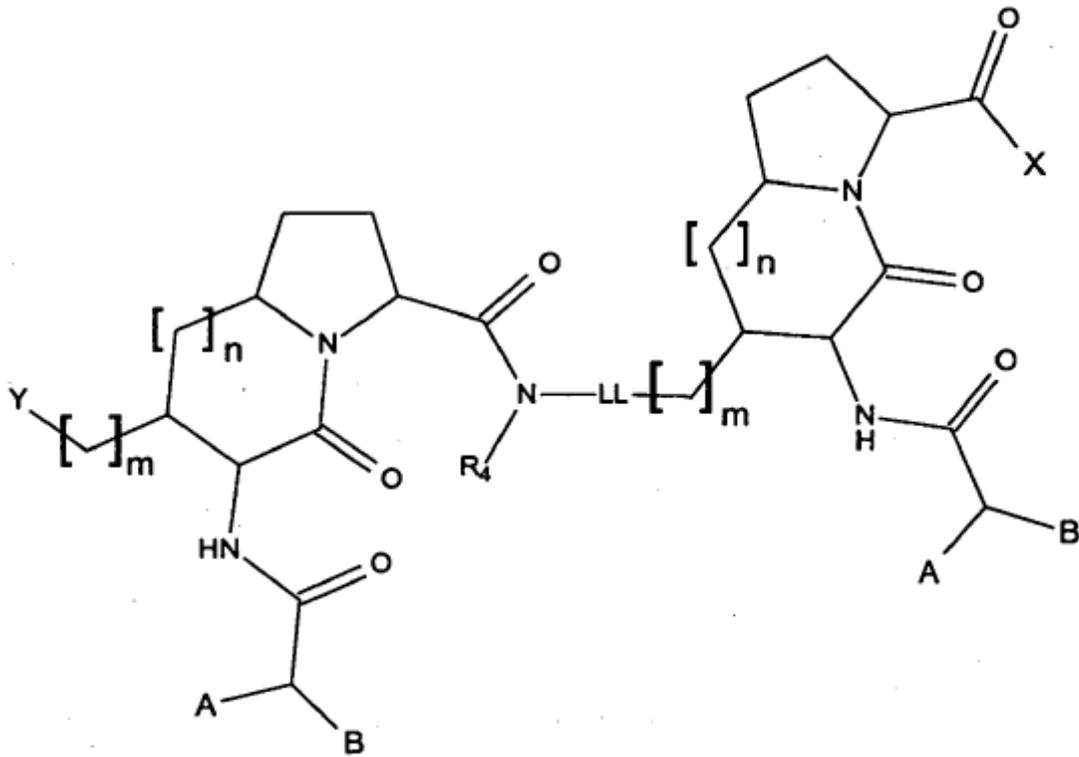
<p>L52</p>	 <p>n, m = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L53</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L54</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

L55	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
L56	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

dicho R₄, A, B e Y se seleccionan independientemente como se indica anteriormente.

La mayoría de los enlazantes de la Tabla 1 son bien conocidos y disponibles comercialmente de, por ejemplo, los catálogos de Aldrich Neosystem y Peptides International. Cualquier otro enlazante se puede preparar fácilmente de acuerdo con métodos conocidos. Por ejemplo, el enlazante 21 se puede preparar de acuerdo con Tetrahedron Lett. 1998, 39, 6277; Makromol. Chem. 1979, 180, 2539. Los detalles se dan en la sección experimental de esta descripción.

Siempre de acuerdo con la presente invención son compuestos heterodiméricos de fórmula (II)



en donde:

- n, m, A, R₄, B, Y se definen como se indica anteriormente (definiciones iguales como en la fórmula (I)) mientras que:

5 X es

- ✓ alquilo C₁₋₁₈ opcionalmente sustituido,
- ✓ alquenilo C₂₋₁₈,
- ✓ alquinilo C₂₋₁₈,
- ✓ arilo,

10 ✓ heteroarilo,

y uno o más hidrógenos en los grupos CH, CH₂ o CH₃ se pueden reemplazar por

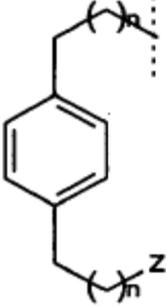
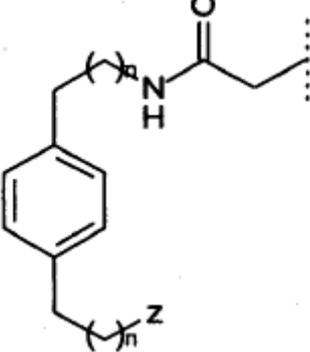
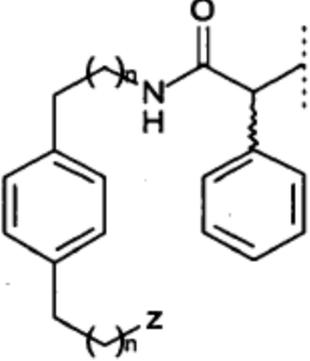
- un alquilo o cicloalquilo ramificado o sin ramificar,
- arilo, alquilarilo, heteroarilo, o alquilheteroarilo opcionalmente sustituido,
- OR₇,

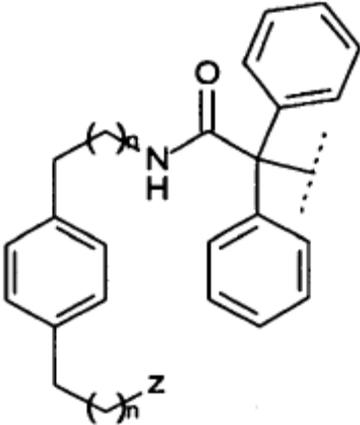
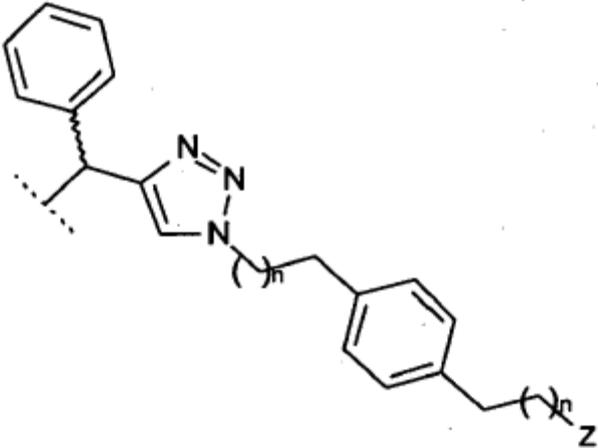
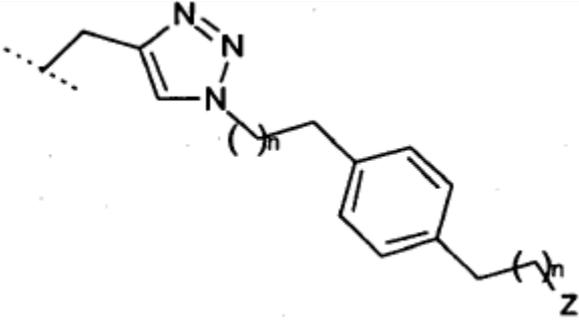
15 • SR₇,

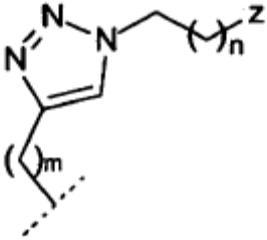
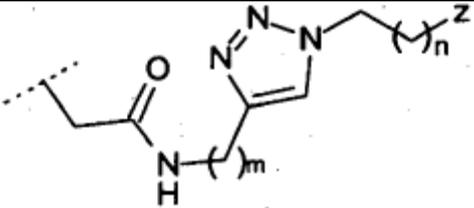
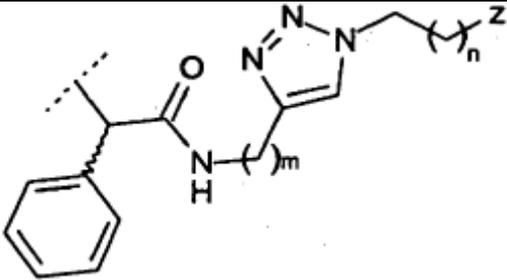
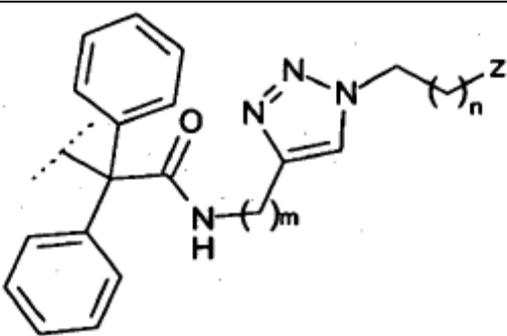
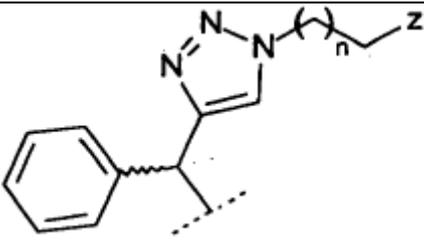
- NR₇R₈;

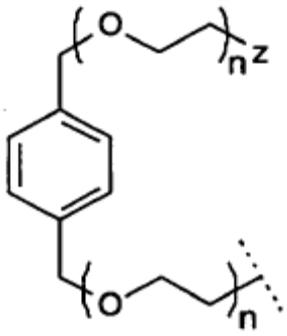
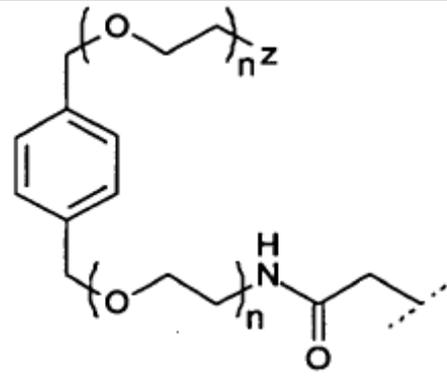
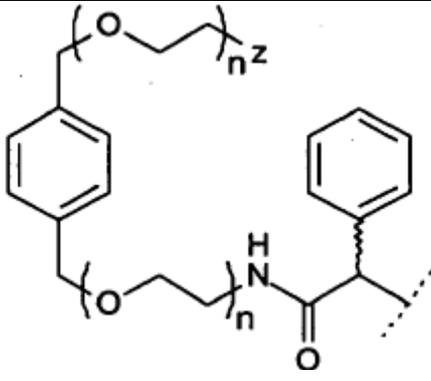
LL es un "enlazante", seleccionado entre los enumerados en la siguiente Tabla II.

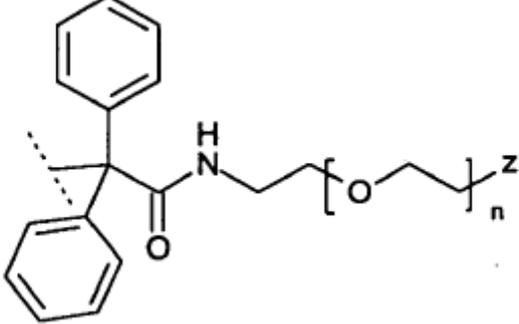
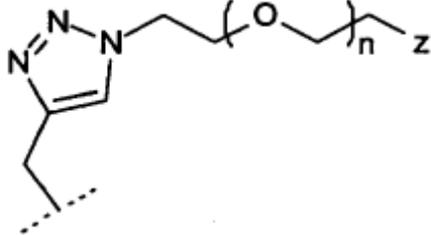
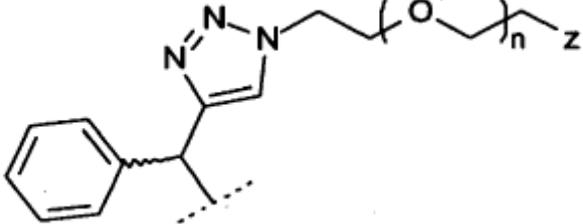
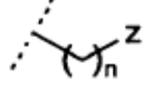
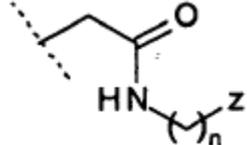
Tabla II

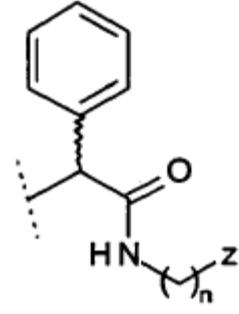
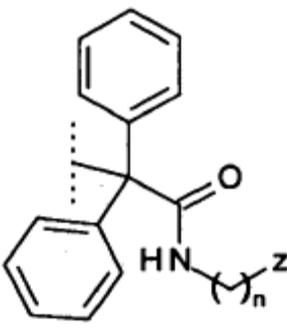
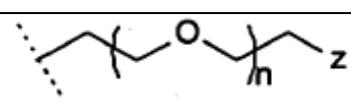
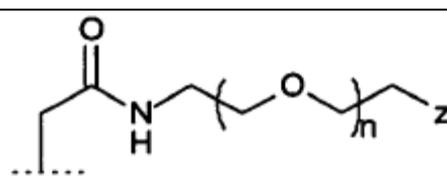
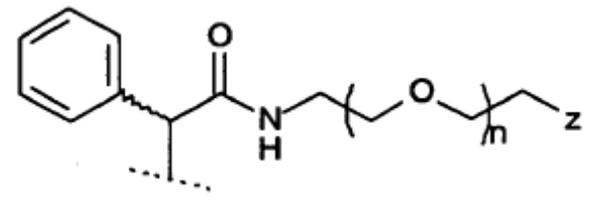
ENLAZANTE LL	
L57	 <p data-bbox="438 667 858 698">n = 1-6, cada uno independientemente</p>
L58	 <p data-bbox="438 1122 858 1153">n = 1-6, cada uno independientemente</p>
L59	 <p data-bbox="438 1574 858 1606">n = 1-6, cada uno independientemente</p>

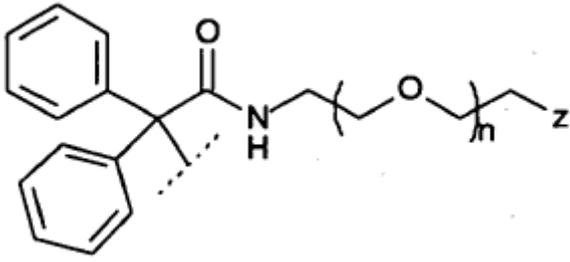
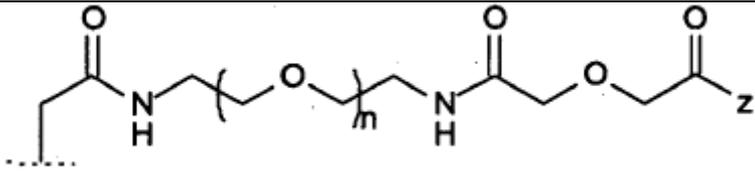
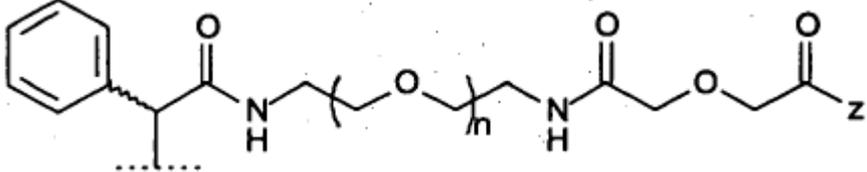
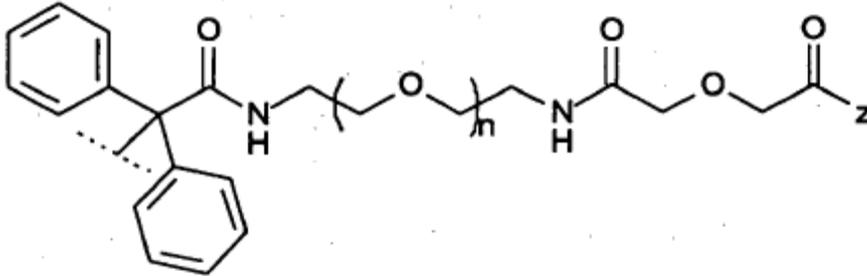
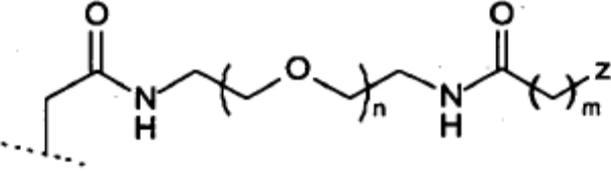
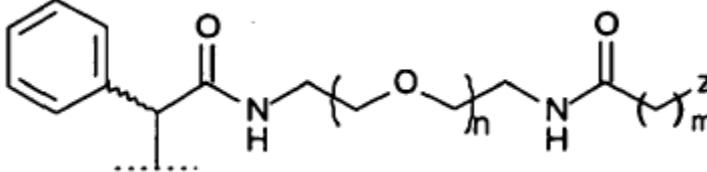
<p>L60</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L61</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L62</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

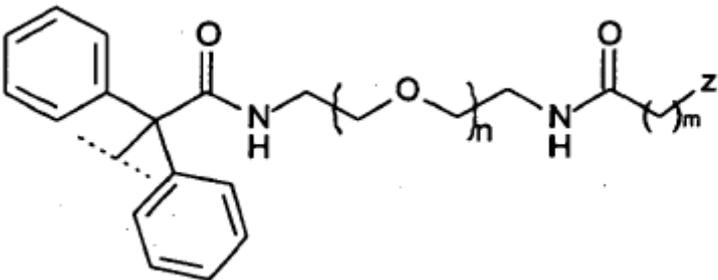
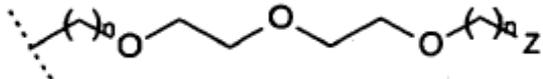
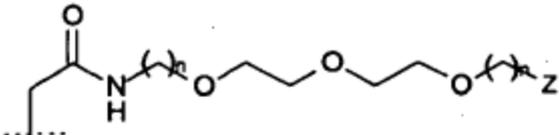
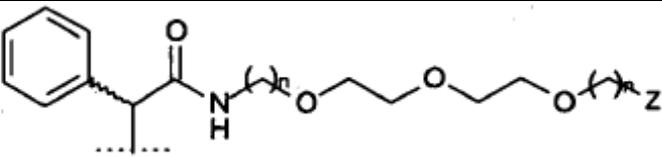
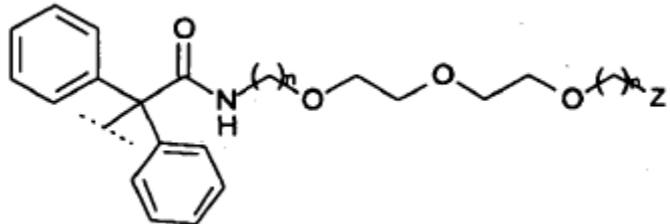
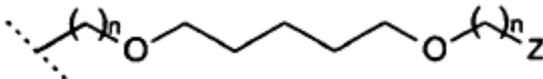
<p>L63</p>	 <p>n, m = 1-10 cada uno independientemente</p>
<p>L64</p>	 <p>n, m = 1-10 cada uno independientemente</p>
<p>L65</p>	 <p>n, m = 1-10 cada uno independientemente</p>
<p>L66</p>	 <p>n, m = 1-10 cada uno independientemente</p>
<p>L67</p>	 <p>n = 1-10</p>

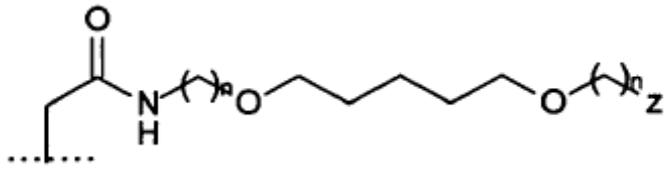
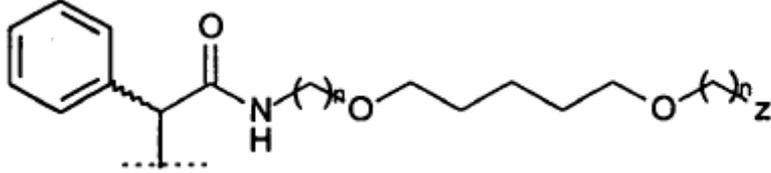
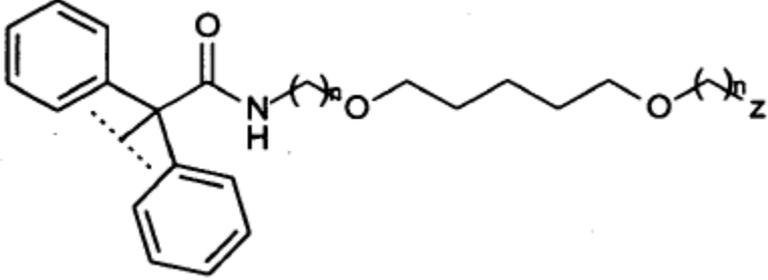
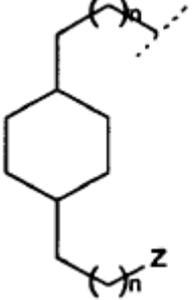
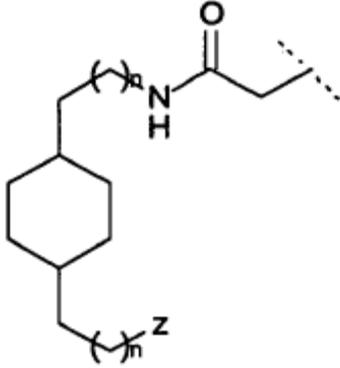
<p>L68</p>	 <p>$n = 1-3$, cada uno independientemente</p>
<p>L69</p>	 <p>$n = 1-3$, cada uno independientemente</p>
<p>L70</p>	 <p>$n = 1-3$, cada uno independientemente</p>

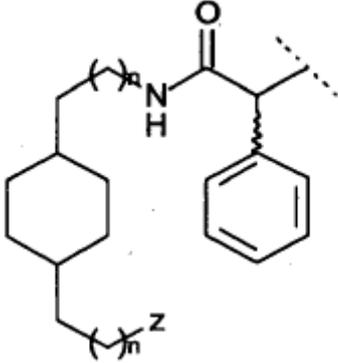
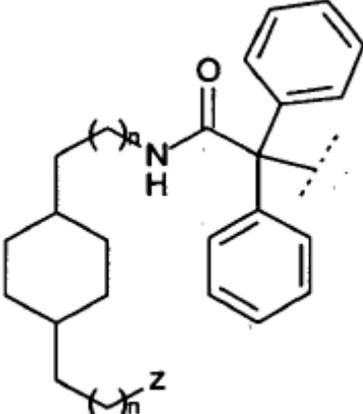
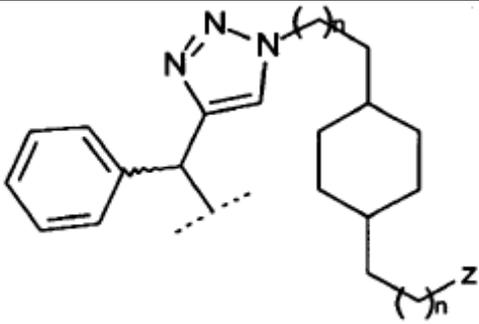
<p>L76</p>	 <p>$n = 1-4$, cada uno independientemente</p>
<p>L77</p>	 <p>$n = 1-4$</p>
<p>L78</p>	 <p>$n = 1-4$</p>
<p>L79</p>	 <p>$n = 2-12$</p>
<p>L80</p>	 <p>$n = 2-12$</p>

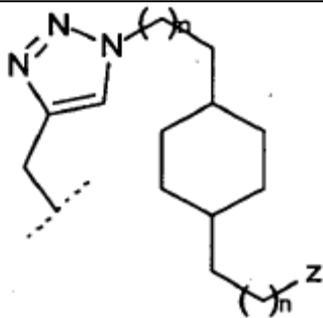
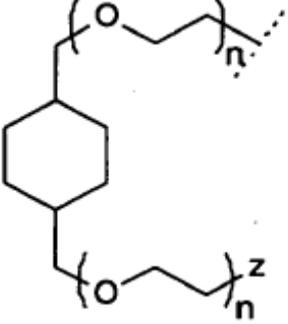
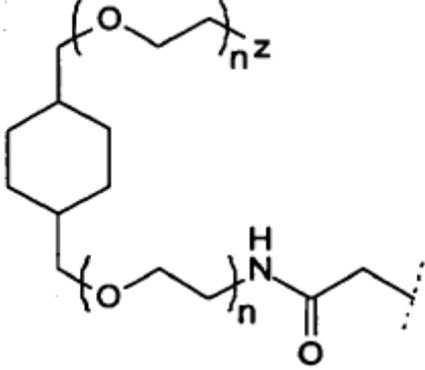
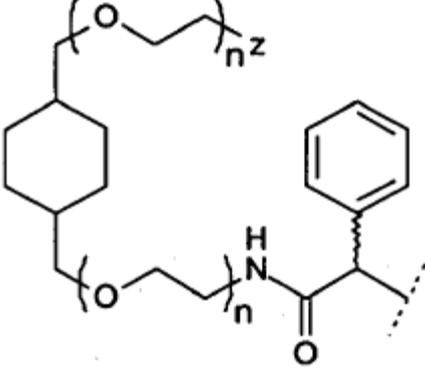
<p>L81</p>	 <p>$n = 2-12$</p>
<p>L82</p>	 <p>$n = 2-12$</p>
<p>L83</p>	 <p>$n = 1-5$</p>
<p>L84</p>	 <p>$n = 1-5$</p>
<p>L85</p>	 <p>$n = 1-5$</p>

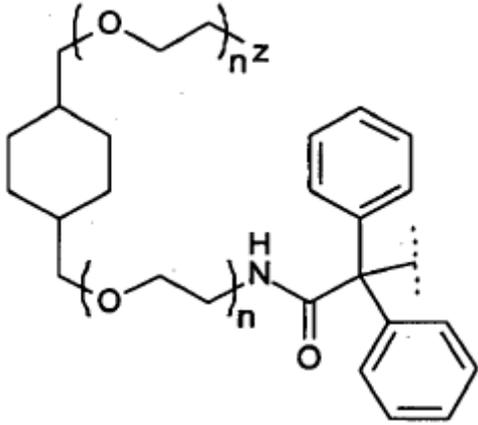
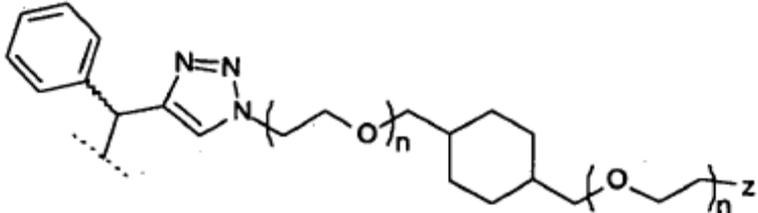
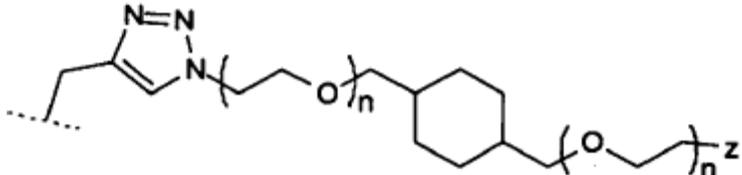
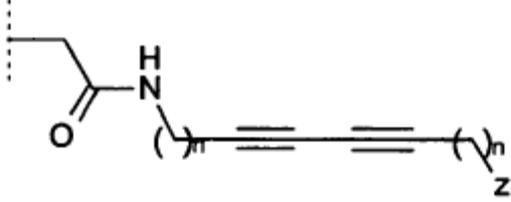
<p>L86</p>	 <p>$n = 1-5$</p>
<p>L87</p>	 <p>$n = 1-5$</p>
<p>L88</p>	 <p>$n = 1-5$</p>
<p>L89</p>	 <p>$n = 1-5$</p>
<p>L90</p>	 <p>$n = 1-5$; $m = 1-12$ cada uno independientemente</p>
<p>L91</p>	

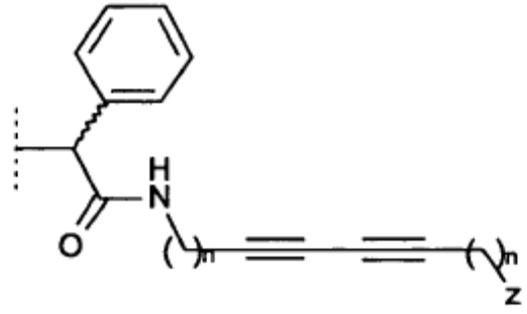
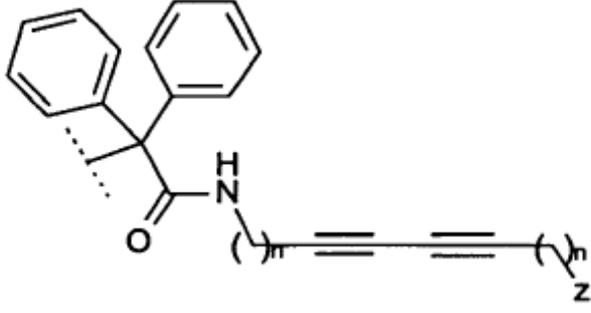
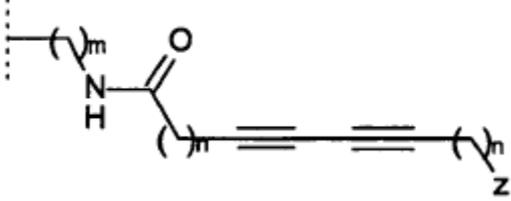
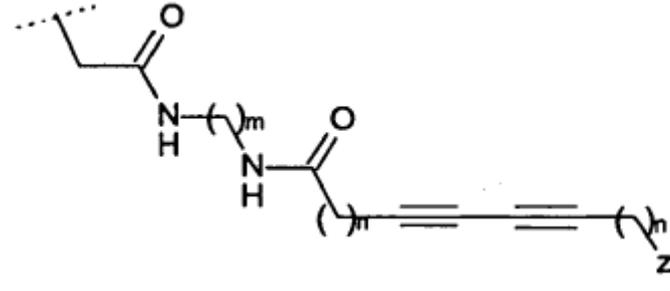
	n = 1-5; m = 1-12 cada uno independientemente
L92	 <p>n = 1-5; m = 1-12 cada uno independientemente</p>
L93	 <p>n = 1-5 cada uno independientemente</p>
L94	 <p>n = 1-5 cada uno independientemente</p>
L95	 <p>n = 1-5 cada uno independientemente</p>
L96	 <p>n = 1-5 cada uno independientemente</p>
L97	 <p>n = 1-5 cada uno independientemente</p>

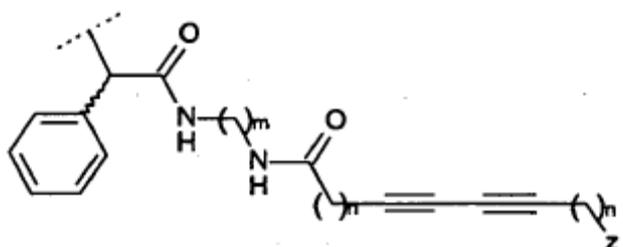
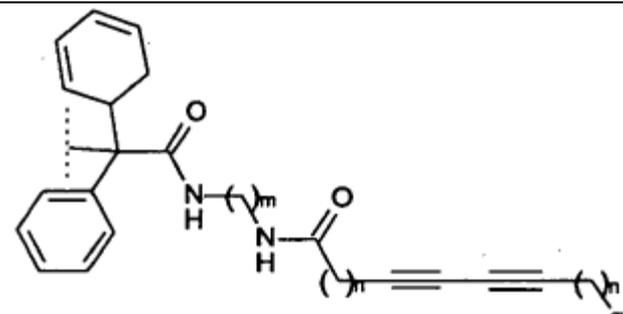
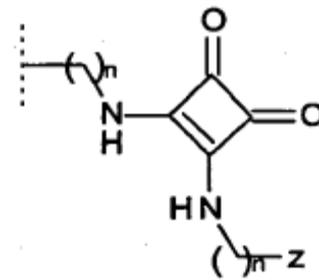
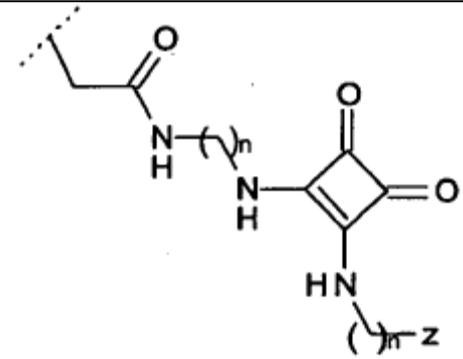
<p>L98</p>	 <p>n = 1-5 cada uno independientemente</p>
<p>L99</p>	 <p>n = 1-5 cada uno independientemente</p>
<p>L100</p>	 <p>n = 1-5 cada uno independientemente</p>
<p>L101</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L102</p>	

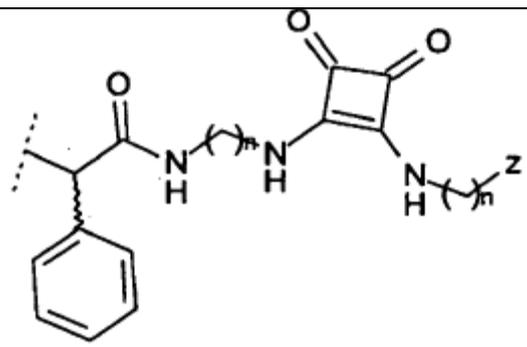
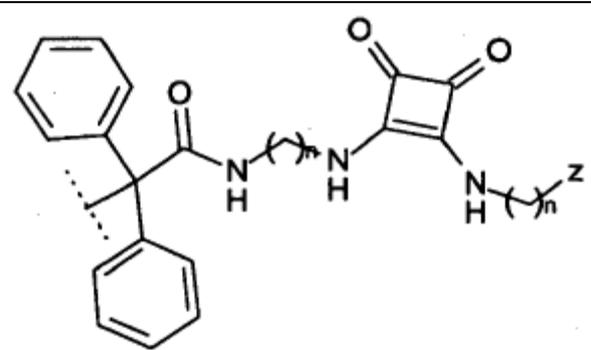
	<p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L103</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L104</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L105</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

<p>L106</p>	 <p>$n = 1-6$, cada uno independientemente</p>
<p>L107</p>	 <p>$n = 1-3$, cada uno independientemente</p>
<p>L108</p>	 <p>$n = 1-3$, cada uno independientemente</p>
<p>L109</p>	 <p>$n = 1-3$, cada uno independientemente</p>

<p>L110</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L111</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L112</p>	 <p>n = 1-3, cada uno independientemente</p>
<p>L113</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L114</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

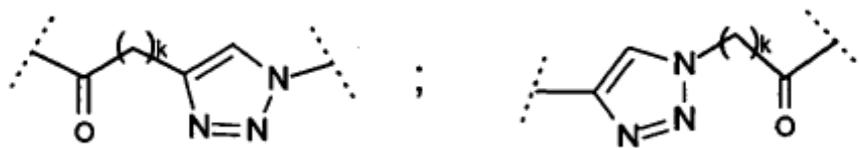
<p>L115</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L116</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L117</p>	 <p>n, m = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L118</p>	 <p>n, m = 1-6, cada uno independientemente</p>

<p>L119</p>	 <p>n, m = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L120</p>	 <p>n, m = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L121</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L122</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

<p>L123</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>
<p>L124</p>	 <p>n = 1-6, cada uno independientemente</p>

Z se selecciona entre

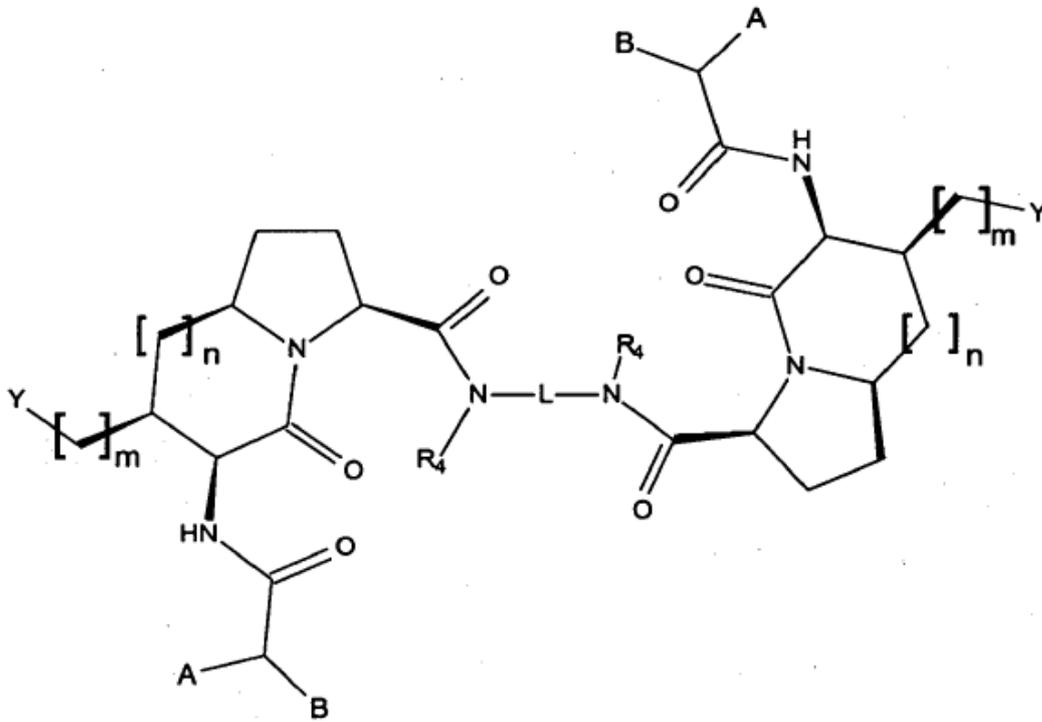
- ✓ CR₇R₈,
- ✓ O,
- 5 ✓ NR₇,
- ✓ NR₇C(O),
- ✓ C(O)NR₇,
- ✓ S,
- ✓ C(O)O,
- 10 ✓ C(S)O,
- ✓ C(S)NR₇,
- ✓ C(NR₈)NR₇,
- ✓ NR₇C(NR₈)NR₉,
- ✓ NR₇C(O)NR₈,
- 15 ✓ NR₇C(S)NR₈



donde

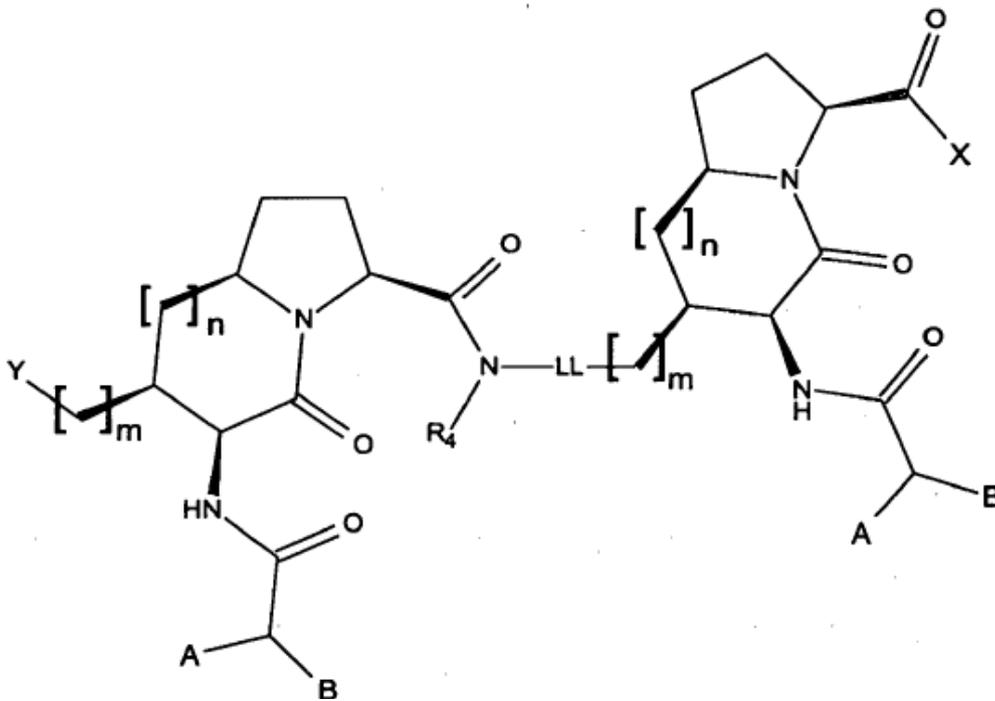
$k = 1-10$ cada uno independientemente;

- 5 - R_7 , R_8 , R_9 son independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-5} , o alquinilo C_{2-5} opcionalmente sustituido, en el cual uno o más carbonos se pueden reemplazar por un heteroátomo seleccionado de O, S, y N, o arilo, alquilarilo, heteroarilo, o alquilheteroarilo opcionalmente sustituido; o dos cualesquiera de R_7 , R_8 , y R_9 tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un grupo heterocíclico, en el cual uno o más átomos de carbono se pueden reemplazar por C=O, C=S, o un heteroátomo seleccionado de O, S, y N, con la condición de que el heteroátomo se separe del átomo de nitrógeno por al menos dos carbonos;
- 10 La mayoría de los enlazantes de la Tabla 2 son bien conocidos y disponibles comercialmente de, por ejemplo, los catálogos de Aldrich Neosystem y Peptides International. Cualquier otro enlazante se puede preparar fácilmente de acuerdo con métodos conocidos. Por ejemplo, el enlazante 83 se puede preparar de acuerdo con Tetrahedron Lett. 1998, 39, 6277; Makromol. Chem. 1979, 180, 2539. Los detalles se dan en la sección experimental de esta descripción. De acuerdo con la presente invención y con referencia a los compuestos que pertenecen a la fórmula (I) y (II), los
- 15 términos "heteroalquilo", "heteroalquenilo", "heteroalquinilo" y "heteroarilo" definen grupos alquilo, alquenilo, alquinilo y arilo, respectivamente, en donde uno o más átomos de carbono están reemplazados por un heteroátomo seleccionado entre O, S y N. De acuerdo con la presente invención, los grupos alquilo, alquenilo, alquinilo pueden ser lineales o ramificados; tales grupos, por ejemplo, pueden ser seleccionados como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, tert-butilo, etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo, hexenilo, etinilo, propinilo, butinilo.
- 20 A menos que se indique lo contrario, los grupos alquilo son grupos alquilo inferior, i.e., que tienen 1 a 6 átomos de carbono y grupos alquenilo y alquinilo son grupos alquenilo y alquinilo inferiores, i.e., que tienen 2 a 6 átomos de carbono.
- De acuerdo con la presente invención, el término "opcionalmente sustituido", si no se define explícitamente, significa que cualquier sustitución es posible, a condición de que la molécula resultante es estable químicamente.
- 25 Preferiblemente, a menos que se indique lo contrario, la expresión "opcionalmente sustituido" significa que los grupos designados pueden estar opcionalmente sustituidos por ejemplo por alquilo, cicloalquilo, arilo, alquilarilo, heteroarilo, alquilheteroarilo opcionalmente sustituidos, OR_4 , SR_4 , NR_4R_5 o $COOR_4$.
- Siempre de acuerdo con la invención, una realización preferida es la que donde los grupos alquilo, heteroalquilo, alquenilo, heteroalquenilo, alquinilo, heteroalquinilo, alquilarilo o alquilheteroarilo opcionalmente sustituidos son
- 30 sustituidos en las cadenas alifáticas por grupos oxo o tioxo.
- De acuerdo con otra realización preferida, A es NH_2 o $-NH$ -alquilo o $-N$ (alquilo) $_2$. De acuerdo con otra realización preferida, B es un grupo alquilo, más preferiblemente metilo, etilo o un grupo alquilarilo opcionalmente sustituido, tal como un grupo bencilo. De acuerdo con otra realización preferida, n es 2.
- De acuerdo con otra realización preferida, m es 1.
- 35 De acuerdo con otra realización preferida, m es 2.
- La expresión "cada uno independientemente" significa que cada uno de los grupos designados representa cualquiera de las definiciones dadas y por lo tanto puede ser igual o diferente a los otros. De acuerdo con otra realización preferida, NR_4 es un NH , por lo tanto, siendo R_4 preferiblemente seleccionado como hidrógeno.
- 40 Los compuestos de la invención presentan algunos carbonos quirales y por lo tanto pueden existir en la forma de racematos o diastereoisómeros, siendo todos abarcados por el alcance de la invención.
- De acuerdo con una realización preferida, la presente invención se relaciona con los compuestos homodiméricos de fórmula (I) que tienen la siguiente configuración estereoquímica



en donde los sustituyentes son como se definen anteriormente y los enlaces en forma de cuña indican que los sustituyentes están situados por encima del plano.

5 De acuerdo con otra realización preferida, la presente invención se relaciona con compuestos heterodiméricos de fórmula (II) que tienen la siguiente configuración

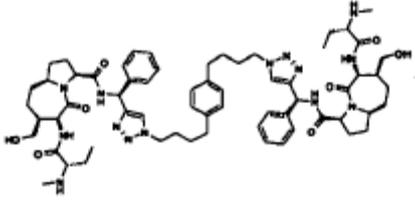
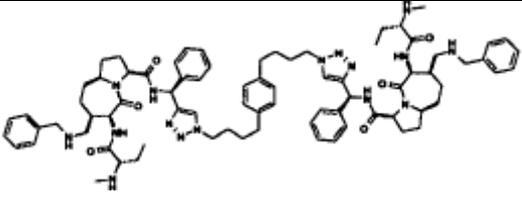
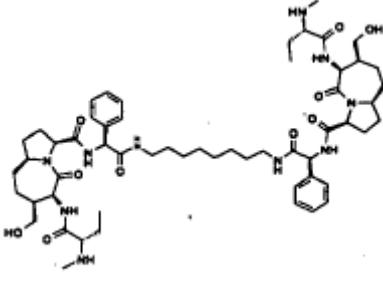
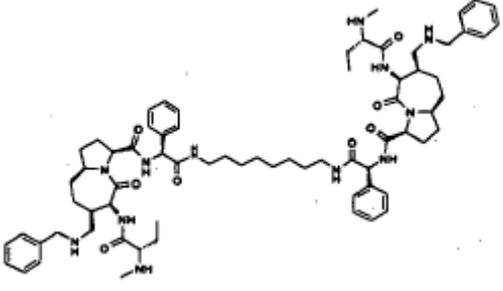
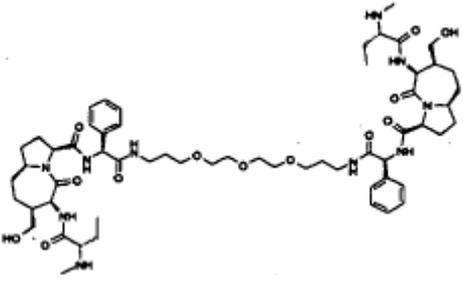


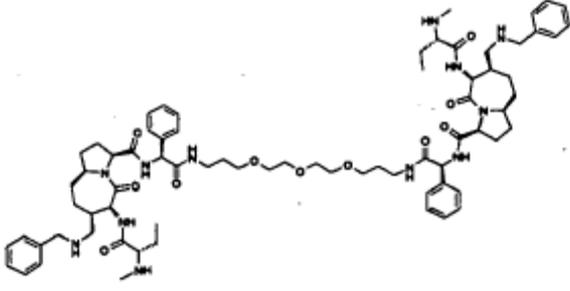
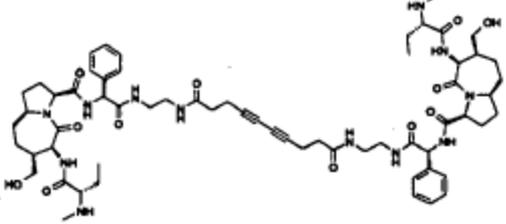
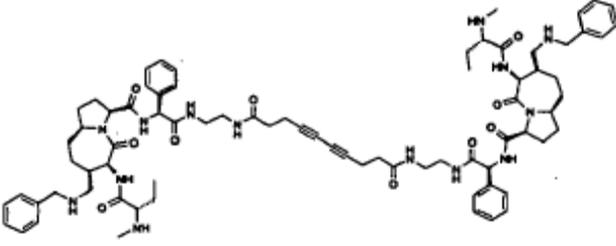
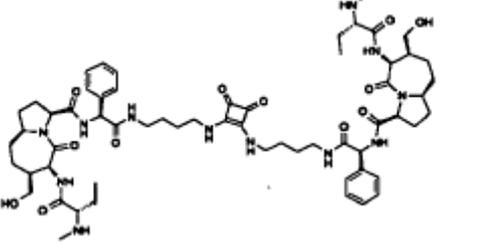
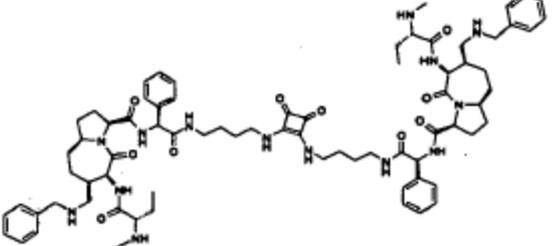
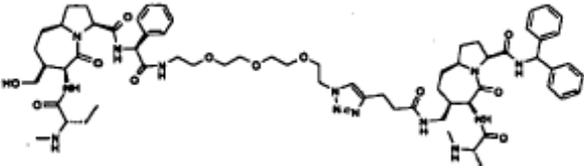
en donde los sustituyentes son como se definen anteriormente y los enlaces en forma de cuña indican que los sustituyentes están situados por encima del plano.

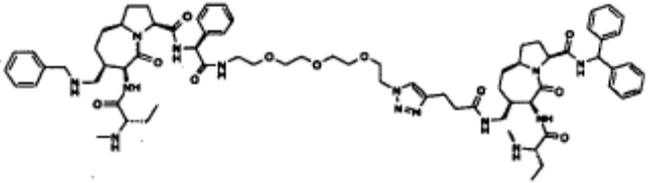
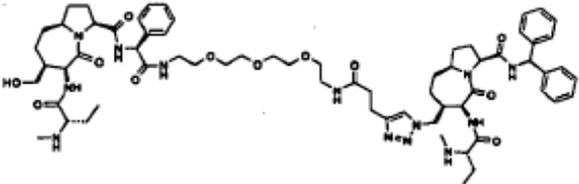
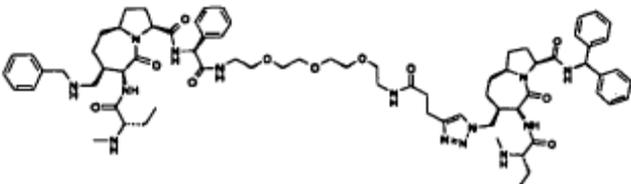
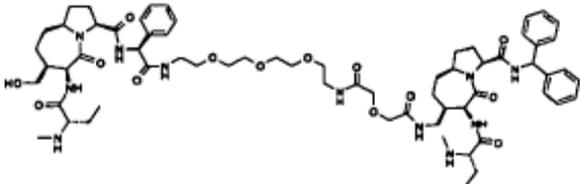
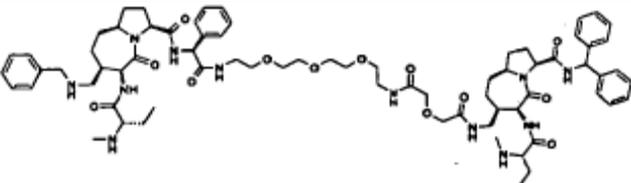
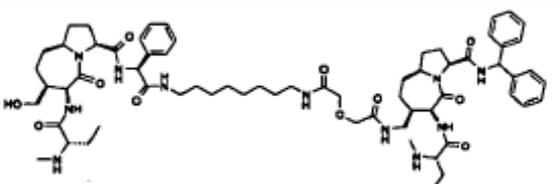
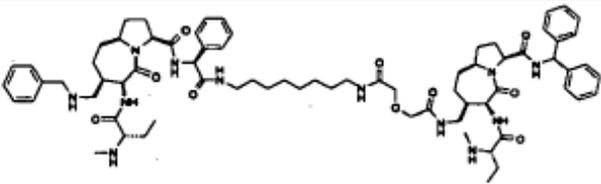
Cada uno de los compuestos descrito anteriormente se puede obtener como tal, como su forma salina o como una sal farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con la presente invención, el término "profármaco" significa que los compuestos de la invención están en la forma de un precursor del ingrediente activo, siendo dicho precursor metabolizado, después de la administración, en el compuesto activo de fórmula (I).

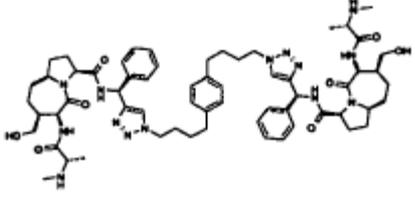
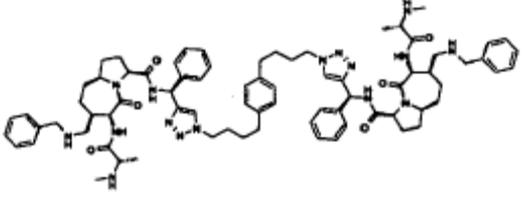
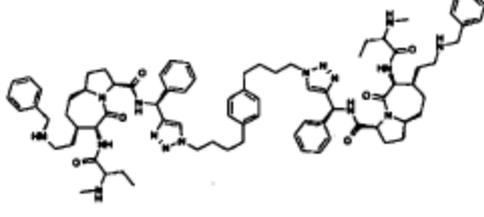
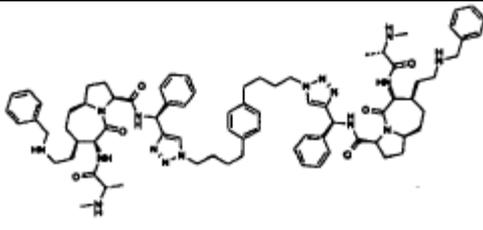
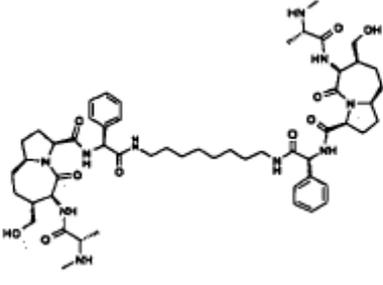
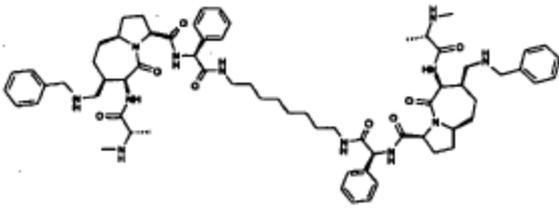
Realizaciones preferidas ilustrativas de la invención son compuestos de la siguiente tabla:

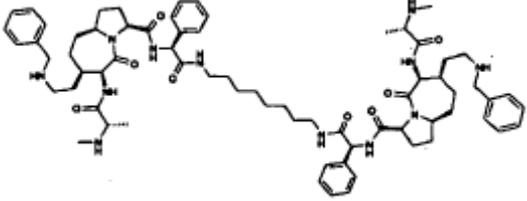
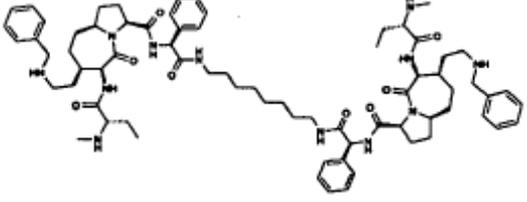
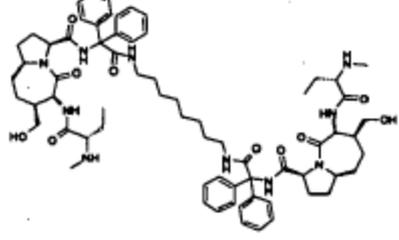
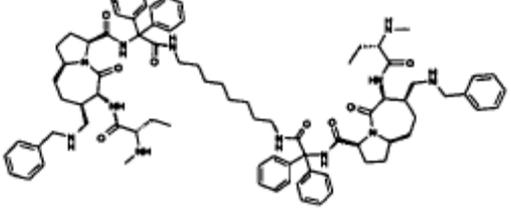
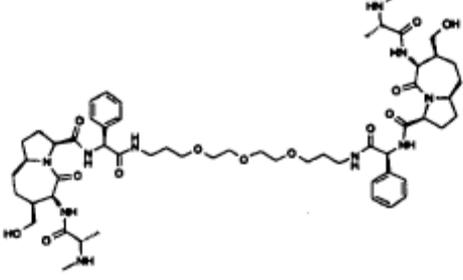
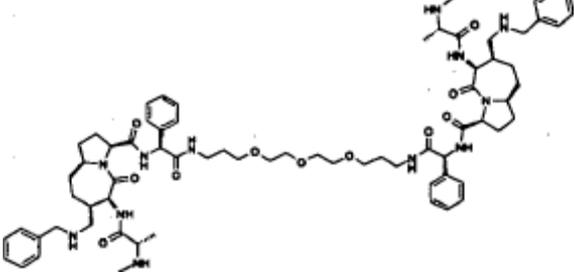
<p>Compuesto 28a P1</p>	
<p>Compuesto 29a P2</p>	
<p>Compuesto 30a P3</p>	
<p>P4</p>	
<p>Compuesto 30d P5</p>	

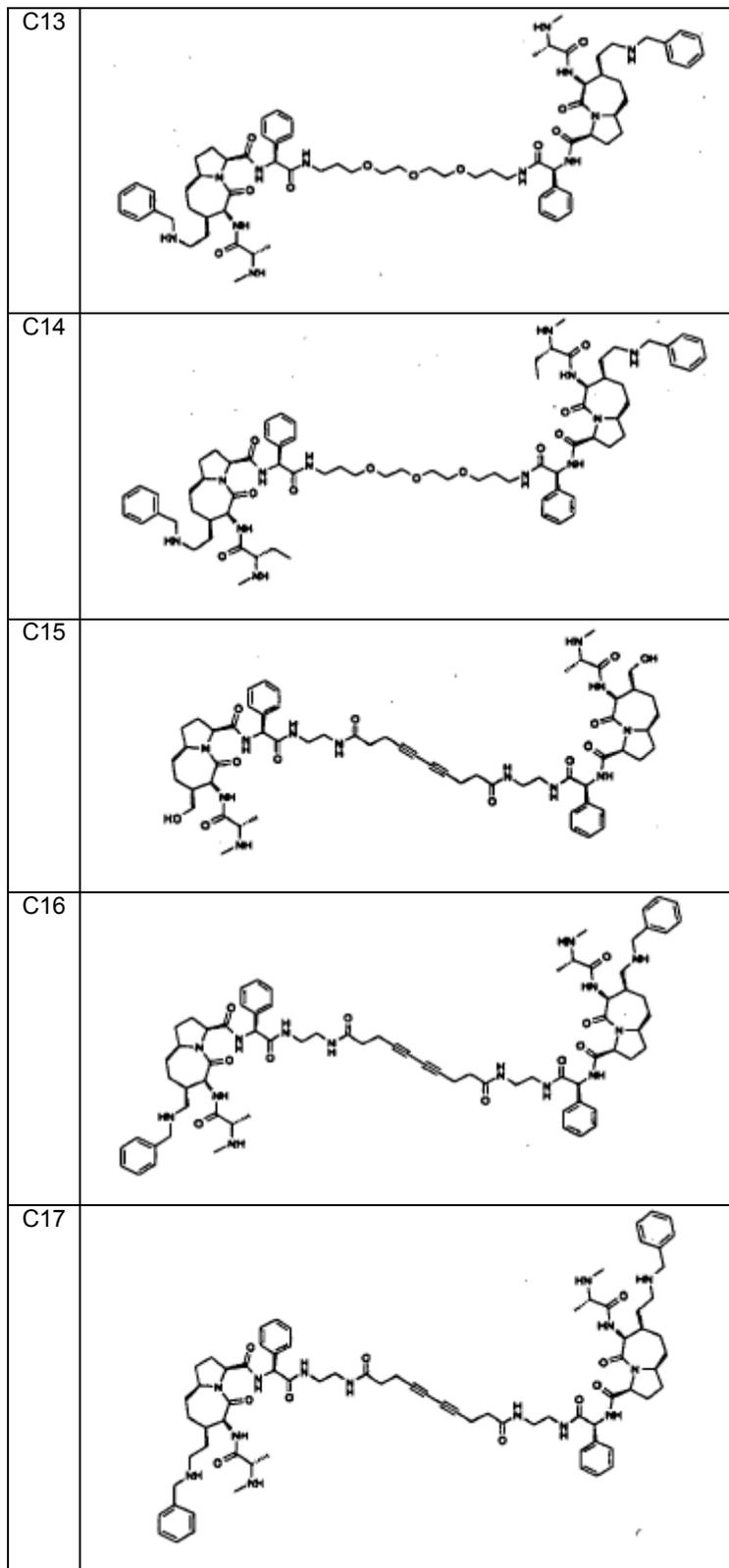
P6	
Compuesto 30c P7	
P8	
Compuesto 30b P9	
P10	
Compuesto 34a P11	

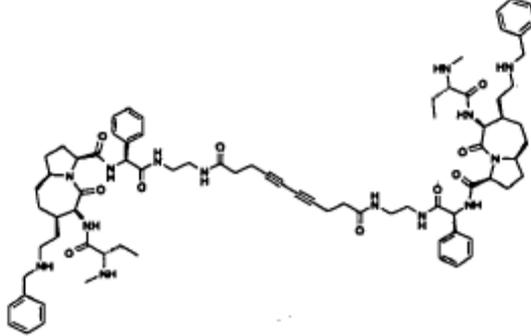
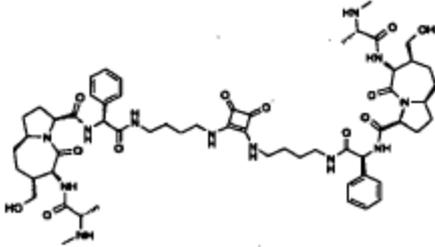
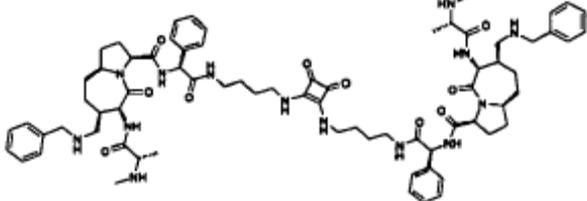
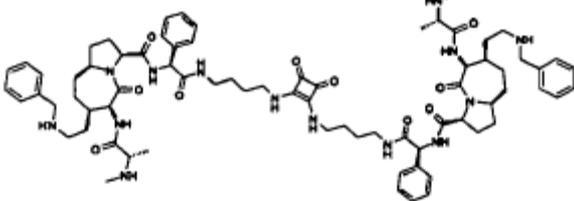
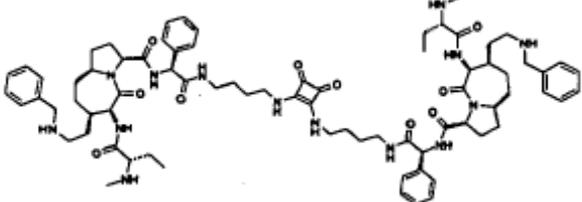
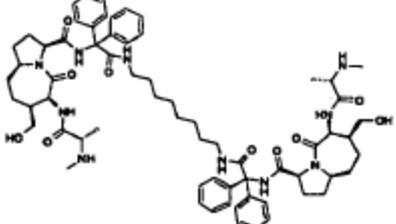
P12	
Compuesto 35a P13	
P14	
Compuesto 36a P15	
P16	
P17	
P18	

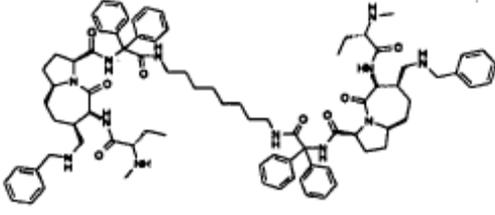
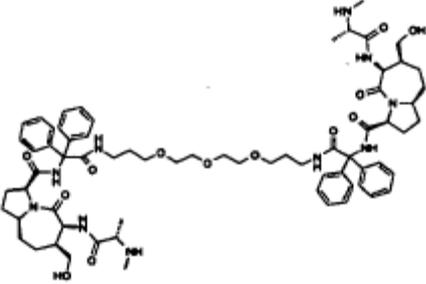
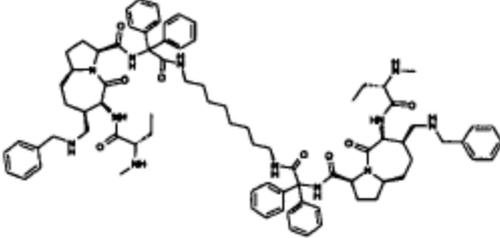
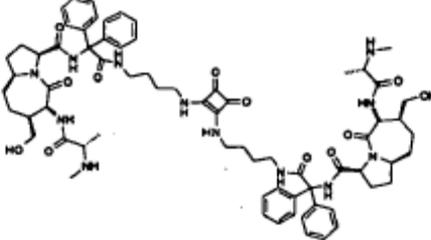
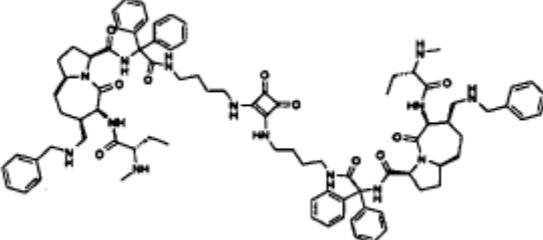
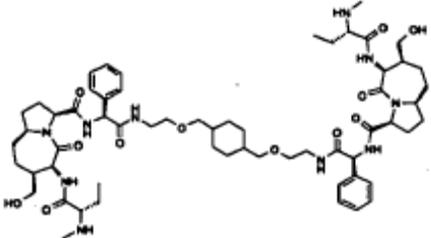
Otros compuestos homodiméricas preferidos son los de la siguiente tabla:

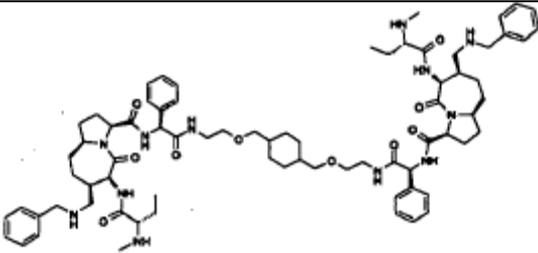
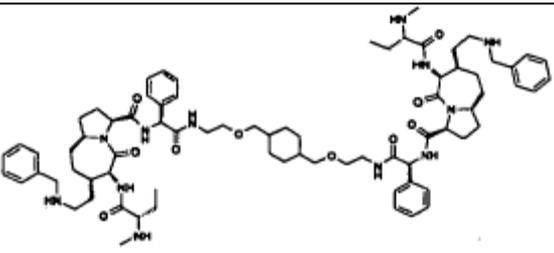
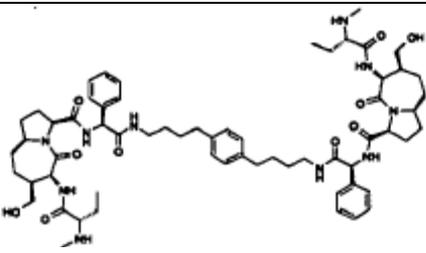
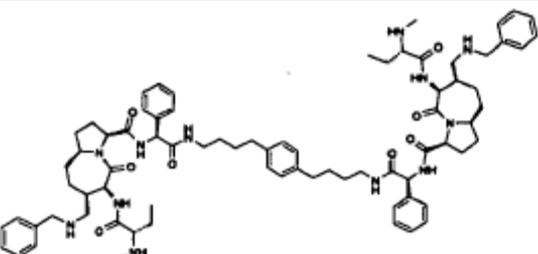
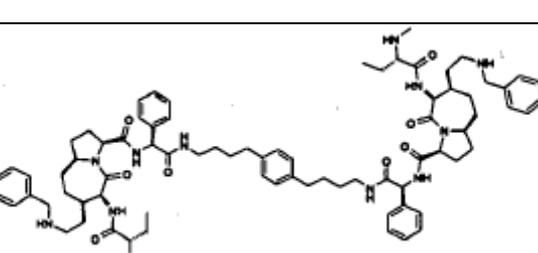
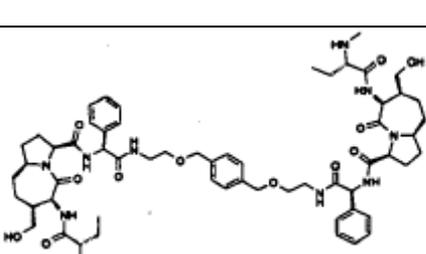
C1	
C2	
C3	
C4	
C5	
C6	

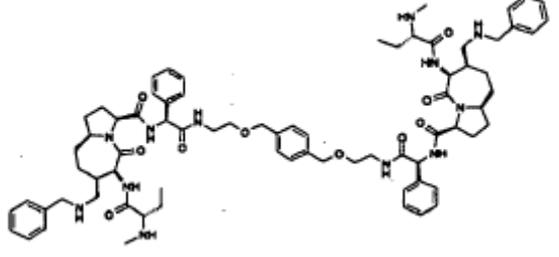
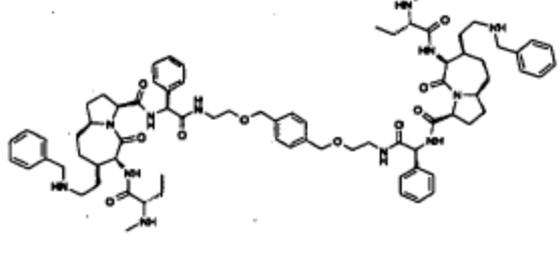
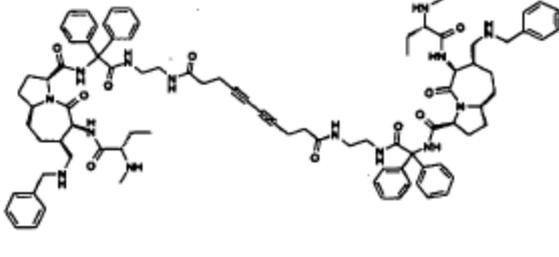
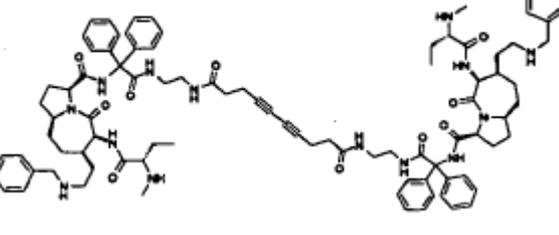
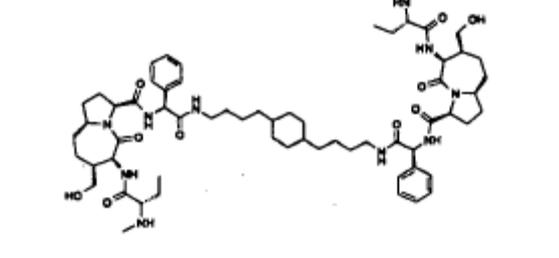
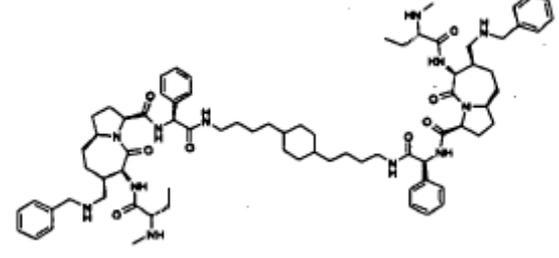
C7	
C8	
C9	
C10	
C11	
C12	

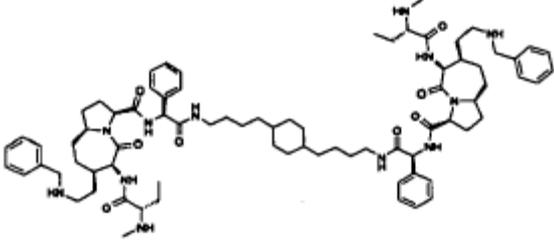
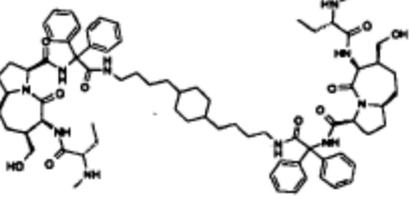
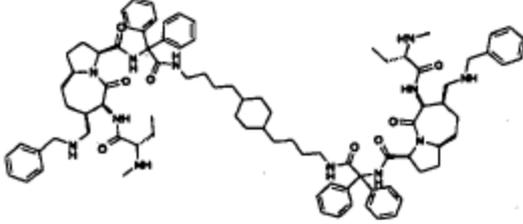
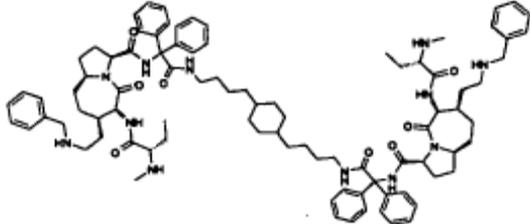
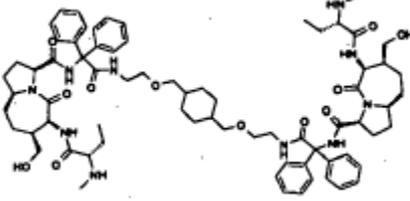
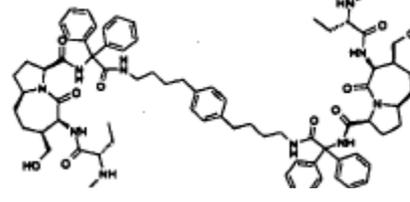


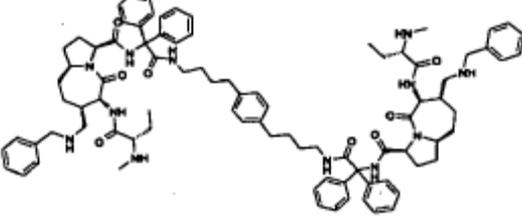
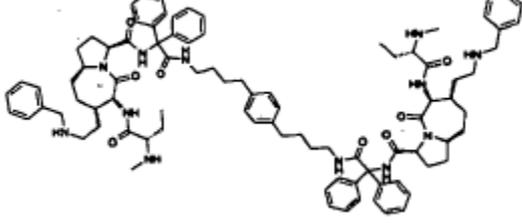
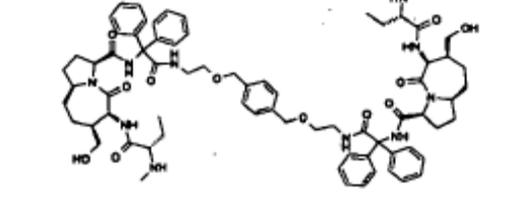
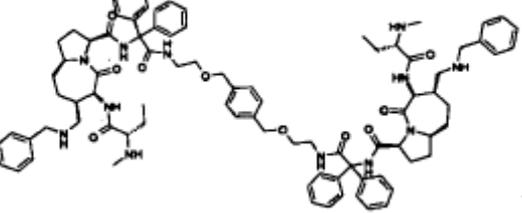
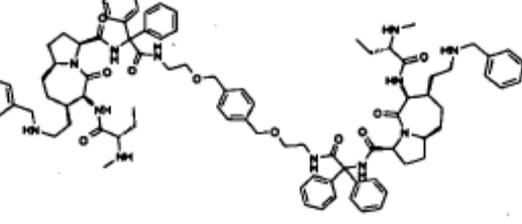
C18	
C19	
C20	
C21	
C22	
C23	

C24	
C25	
C26	
C27	
C28	
C29	

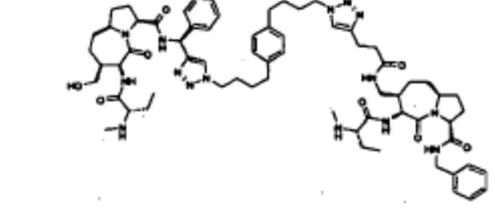
C30	
C31	
C32	
C33	
C34	
C35	

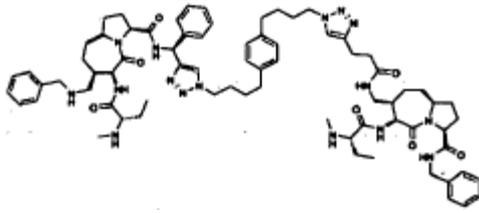
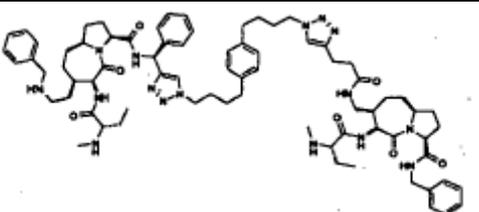
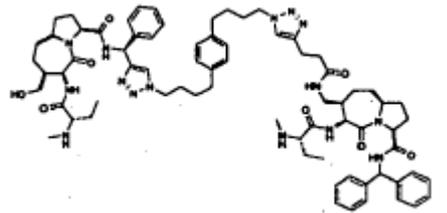
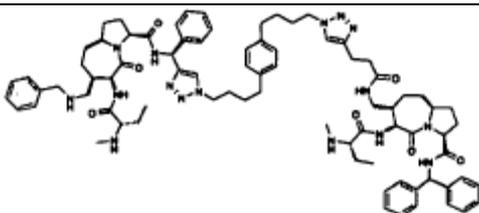
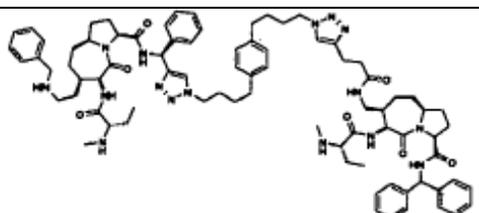
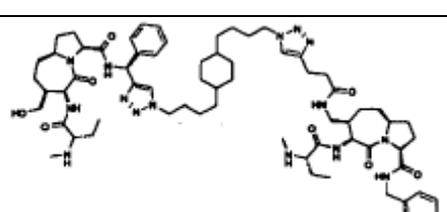
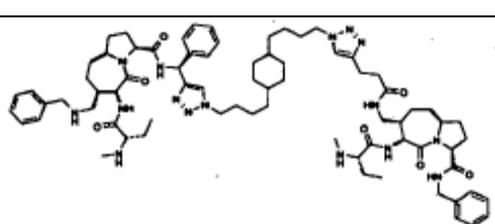
C36	
C37	
C38	
C39	
C40	
C41	

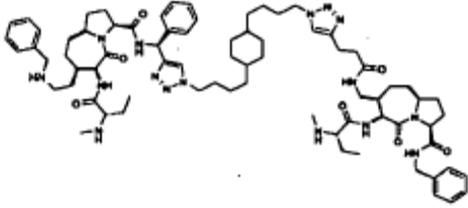
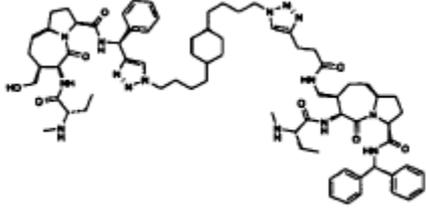
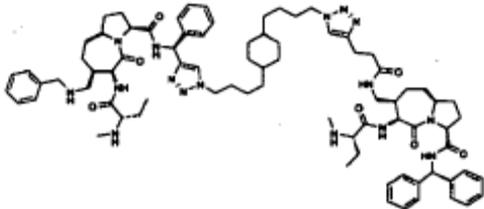
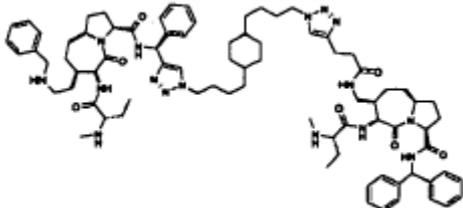
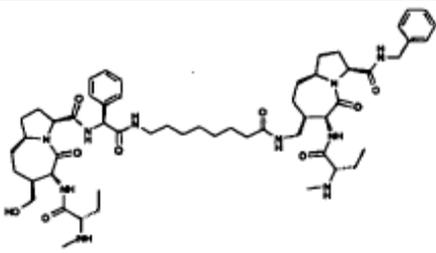
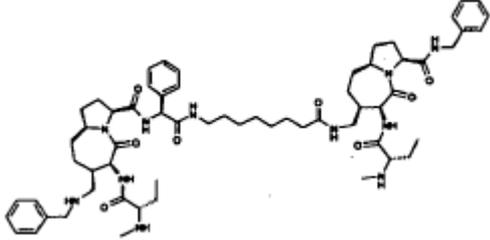
C42	
C43	
C44	
C45	
C46	
C47	

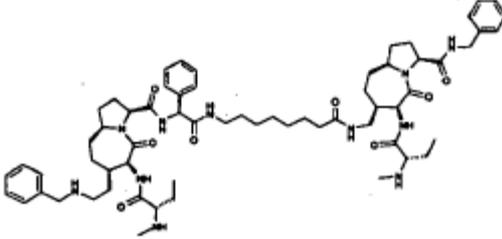
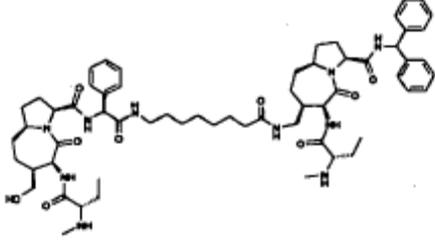
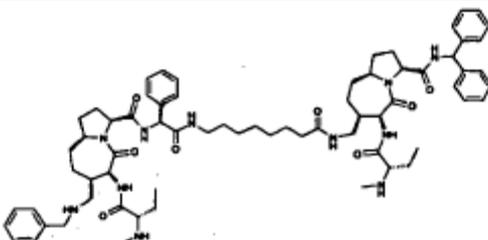
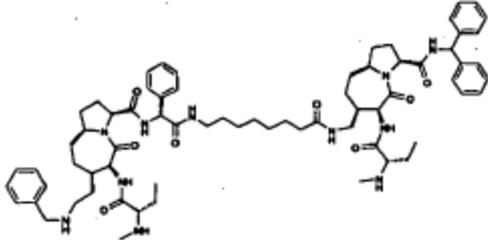
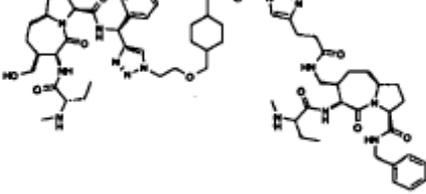
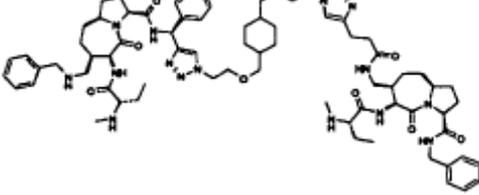
C48	
C49	
C50	
C51	
C52	

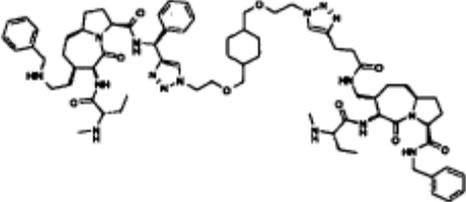
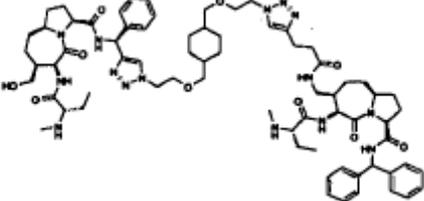
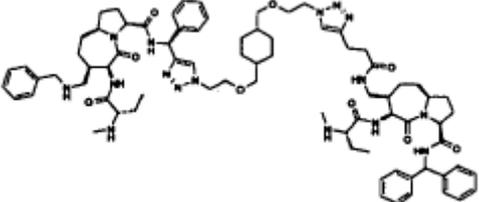
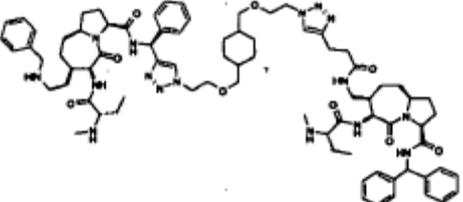
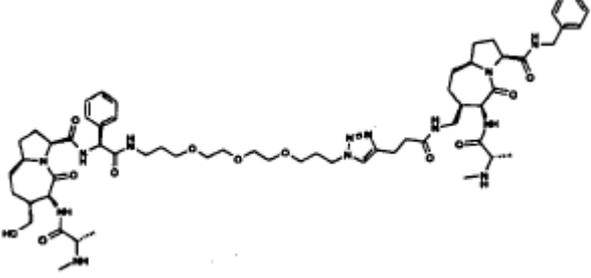
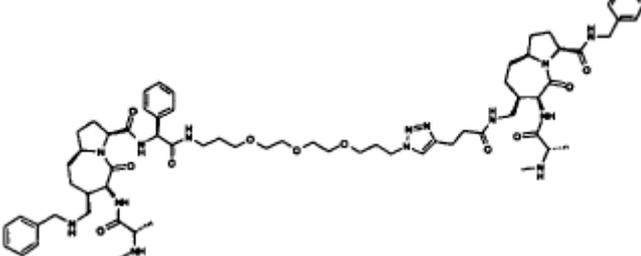
Otros compuestos heterodiméricos de la invención son los siguientes:

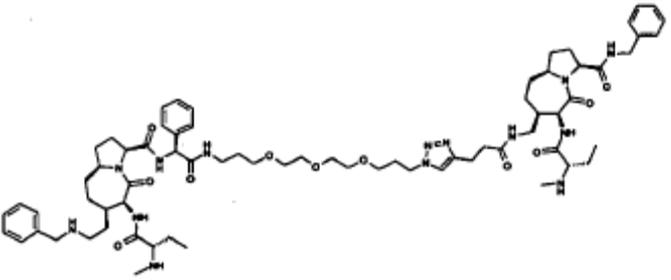
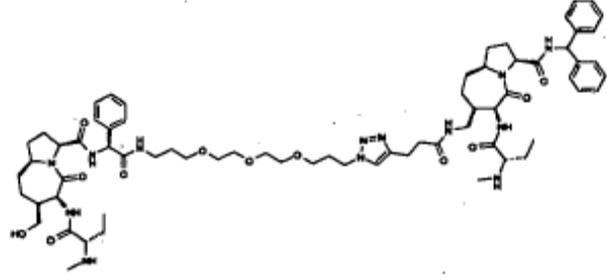
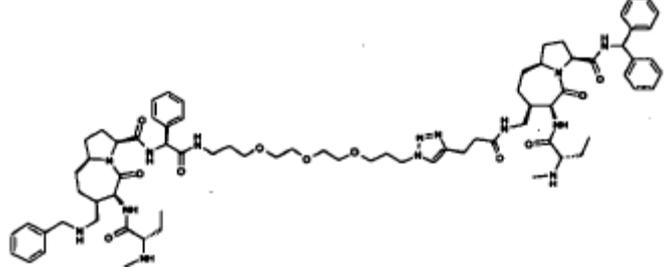
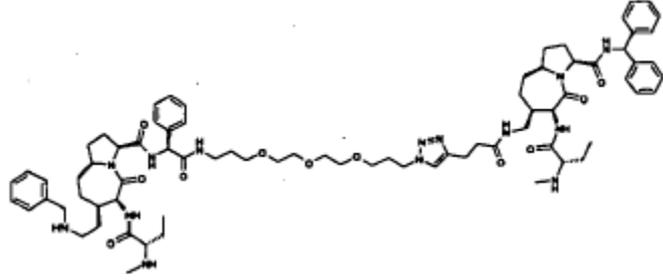
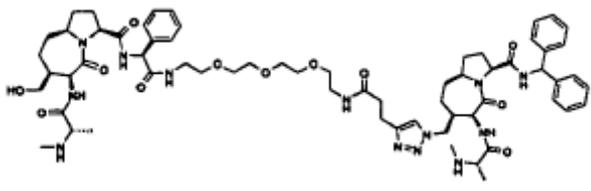
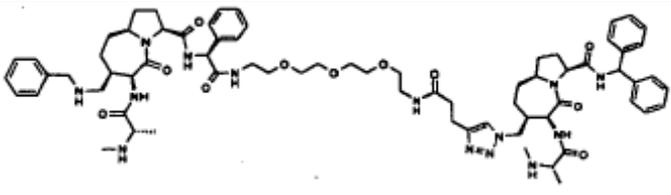
C53	
-----	--

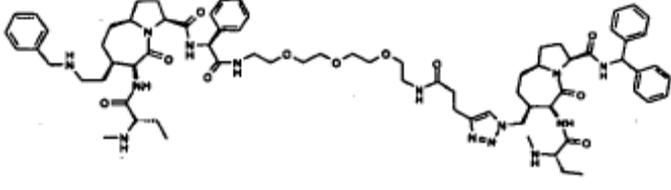
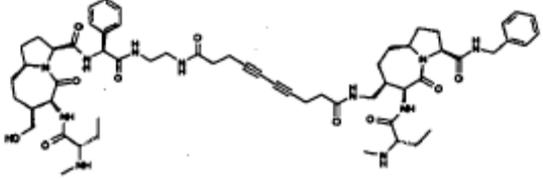
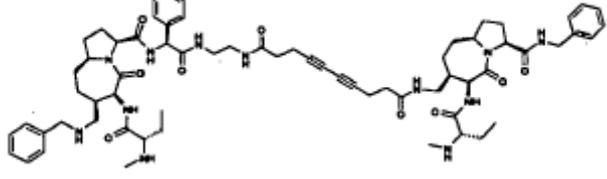
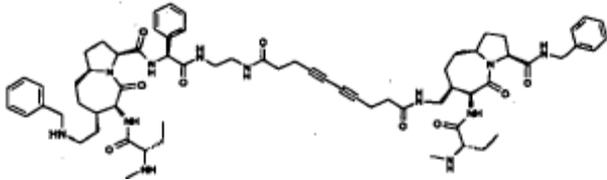
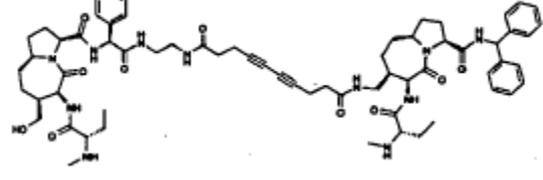
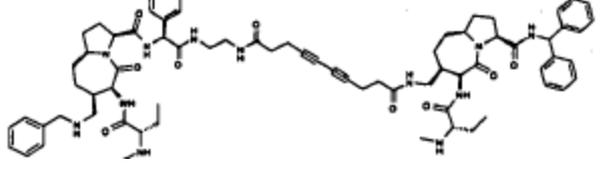
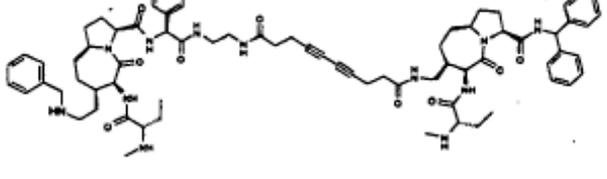
C54	
C55	
C56	
C57	
C58	
C59	
C60	

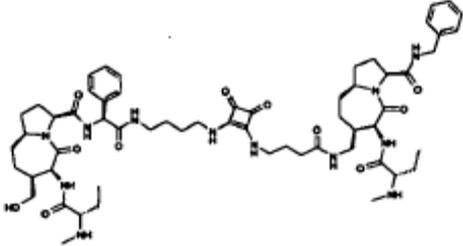
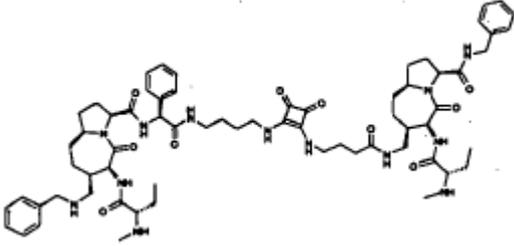
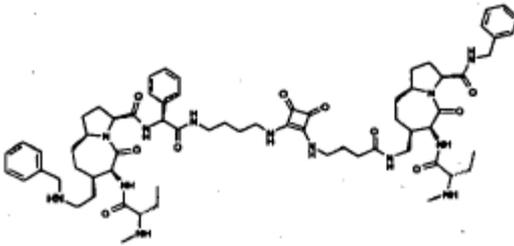
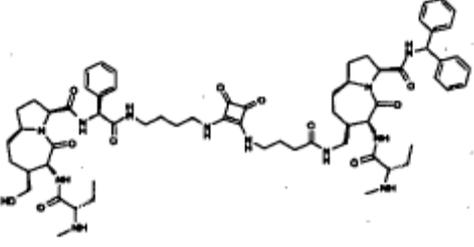
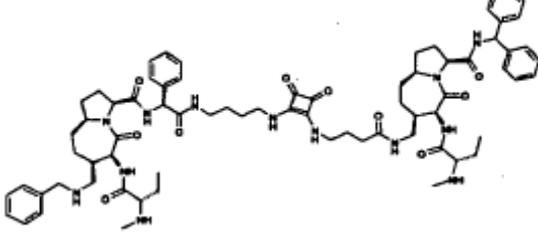
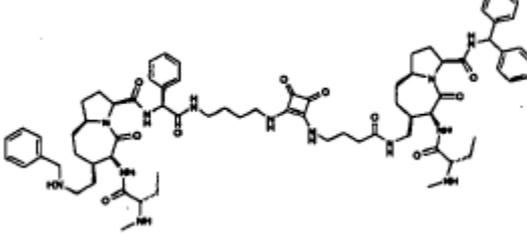
C61	
C62	
C63	
C64	
C65	
C66	

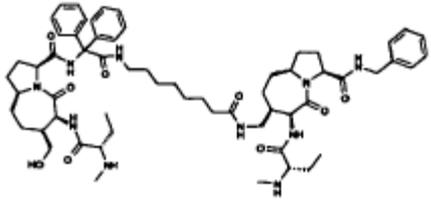
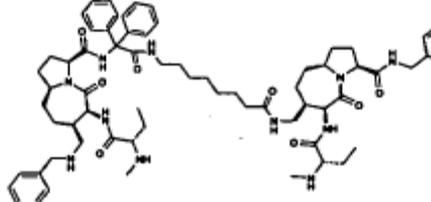
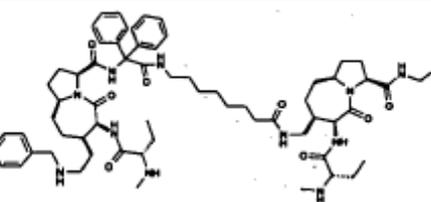
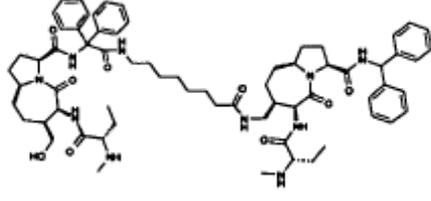
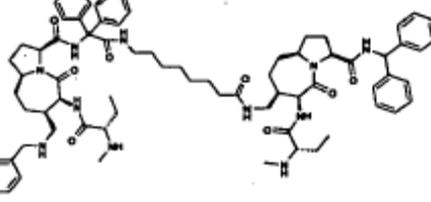
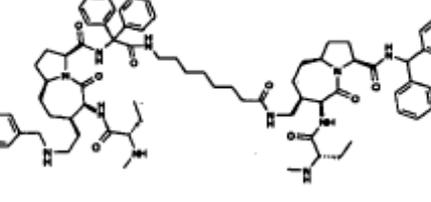
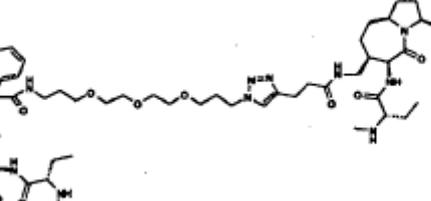
C67	
C68	
C69	
C70	
C71	
C72	

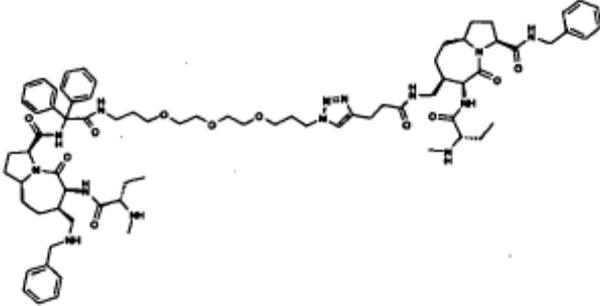
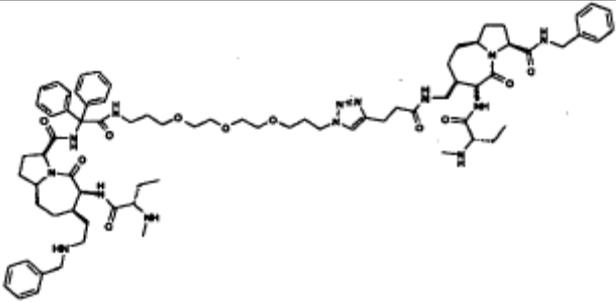
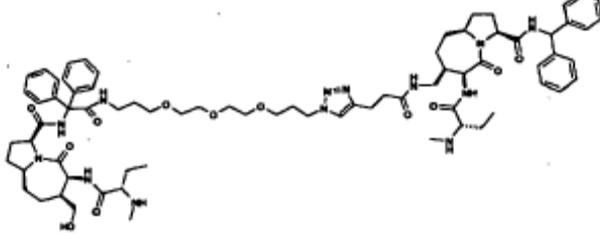
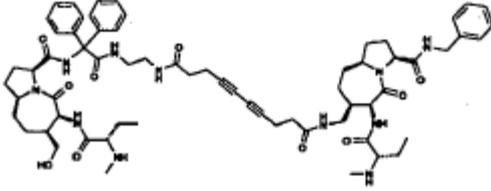
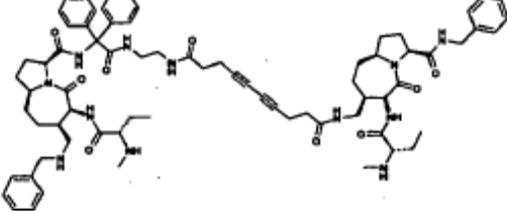
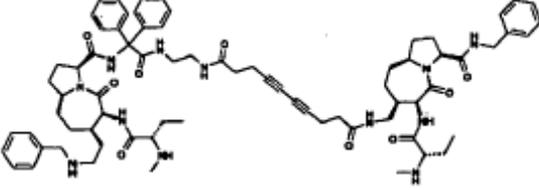
C73	
C74	
C75	
C76	
C77	
C78	

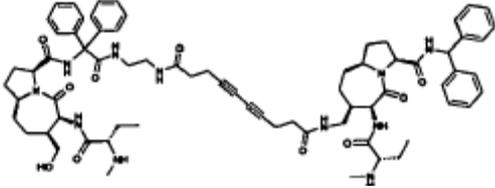
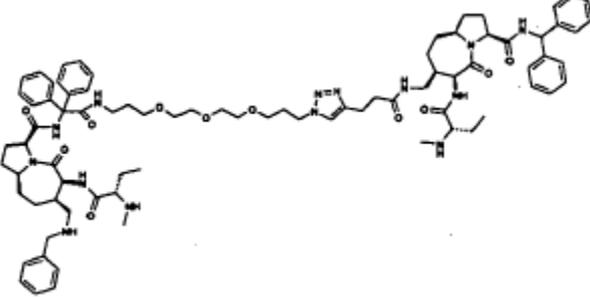
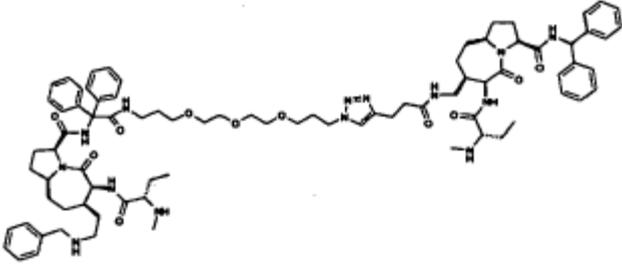
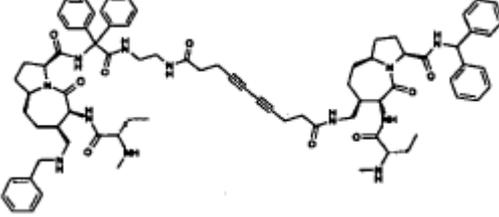
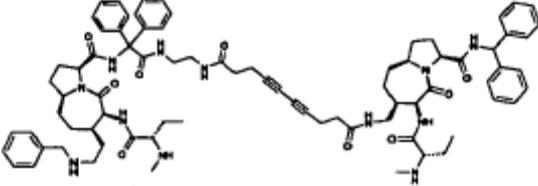
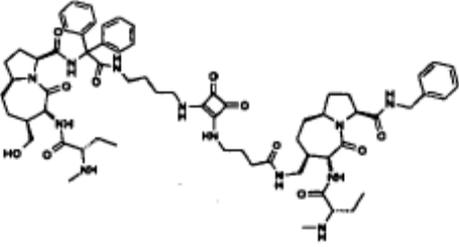
C79	
C80	
C81	
C82	
C83	
C84	

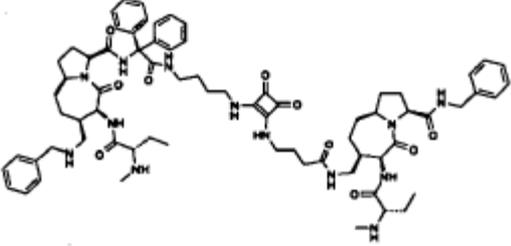
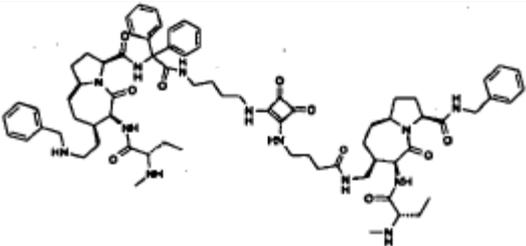
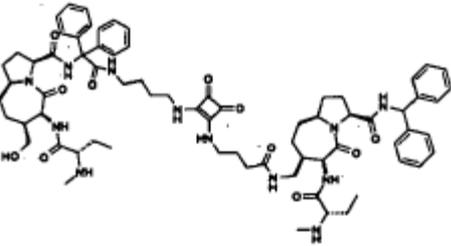
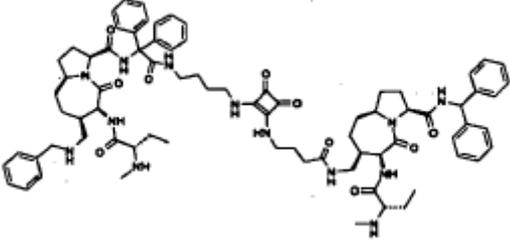
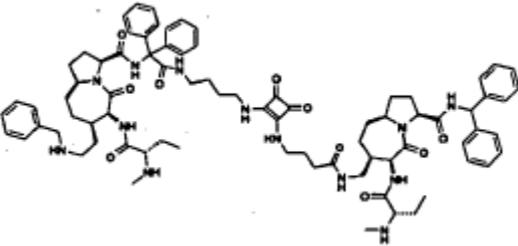
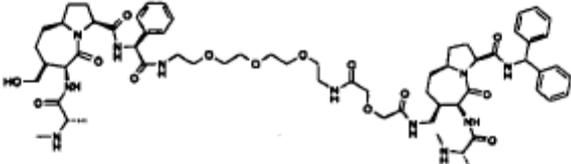
C85	
C86	
C87	
C88	
C89	
C90	
C91	

C92	
C93	
C94	
C95	
C96	
C97	

C98	
C99	
C100	
C101	
C102	
C103	
C104	

C105	
C106	
C107	
C108	
C109	
C110	

C111	
C112	
C113	
C114	
C115	
C116	

C117	
C118	
C119	
C120	
C121	
C122	

C123	
C124	
C125	
C126	
C127	

Los compuestos preferidos de la invención en este documento, se indican a continuación y también se revelan en los ejemplos.

Compuesto 28a (P1) donde:

- 5 L se selecciona como el enlazante L5 con $n=2$ tomado de la Tabla 1
 R_4 se selecciona como hidrógeno
 $m=1$, $n=2$
Y se selecciona como OH
A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1
- 10 B se selecciona como alquilo C_2 .

Compuesto 29a (P2) donde:

- L se selecciona como el enlazante L5 con $n=2$ tomado de la Tabla 1
 R_4 se selecciona como hidrógeno
 $m=1$, $n=2$

Y se selecciona como NR_5R_6 donde R_5 es hidrógeno y R_6 es CH_2Phe

A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1

B se selecciona como alquilo C_2 .

Compuesto 30a (P3) donde:

5 L se selecciona como el enlazante L19 tomado de la Tabla 1

R_4 se selecciona como hidrógeno

$m=1, n=2$

Y se selecciona como OH

A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1 (CH_3)

10 B se selecciona como alquilo C_2 .

Compuesto 30b (P9) donde:

L se selecciona como el enlazante L55 tomado de la Tabla 1

R_4 se selecciona como hidrógeno

$m=1, n=2$

15 Y se selecciona como OH

A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1 (CH_3)

B se selecciona como alquilo C_2 .

Compuesto 30c (P7) donde:

L se selecciona como el enlazante L51 tomado de la Tabla 1

20 R_4 se selecciona como hidrógeno

$m=1, n=2$

Y se selecciona como OH

A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1 (CH_3)

B se selecciona como alquilo C_2 .

25 Compuesto 30d (P5) donde:

L se selecciona como el enlazante L27 con $n=2$ tomado de la Tabla 1

R_4 se selecciona como hidrógeno

$m=1, n=2$

Y se selecciona como OH

30 A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1 (CH_3)

B se selecciona como alquilo C_2 .

Compuesto 34a (P11) donde:

- LL se selecciona como L95
- A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 se selecciona como hidrógeno y R_2 se selecciona como alquilo C_1 (CH_3)
- B se selecciona como alquilo C_2
- R_4 se selecciona como hidrógeno
- 5 Y se selecciona como OH
- $m=1, n=2$
- X se selecciona como NR_7R_8 con R_7 se selecciona como hidrógeno y R_8 se selecciona como sustituido alquilo C_1 con dos grupos arilo
- Z se selecciona como
- 10 Compuesto 35a (P13) donde:
- LL se selecciona como L95
- A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 se selecciona como hidrógeno y R_2 se selecciona como alquilo C_1 (CH_3)
- B se selecciona como alquilo C_2
- R_4 se selecciona como hidrógeno
- 15 Y se selecciona como OH
- $m=1, n=2$
- X se selecciona como NR_7R_8 con R_7 se selecciona como hidrógeno y R_8 se selecciona como alquilo C_1 sustituido con dos grupos arilo
- Z se selecciona como
- 20 Compuesto 36a (P15) donde:
- LL se selecciona como L88 donde $n=3$
- A se selecciona como NR_1R_2 donde R_1 se selecciona como hidrógeno y R_2 se selecciona como alquilo C_1 (CH_3)
- B se selecciona como alquilo C_2
- R_4 se selecciona como hidrógeno
- 25 Y se selecciona como OH
- $m=1, n=2$
- X se selecciona como NR_7R_8 con R_7 se selecciona como hidrógeno y R_8 se selecciona como sustituido alquilo C_1 con dos grupos arilo
- Z se selecciona como NR_7 con R_7 seleccionado como hidrógeno.
- 30 Los compuestos de esta invención se pueden preparar utilizando métodos experimentales conocidos para los expertos en el arte, y de acuerdo con los métodos y las reacciones descritas en detalle en la sección experimental de la presente descripción.
- Los compuestos de fórmula (I) y (II) inducen la apoptosis como tratamientos independientes, y también potencian la inducción de la apoptosis como respuesta a las señales proapoptóticas. Por lo tanto, los compuestos pueden sensibilizar células a inductores de la apoptosis, incluyendo las células que son resistentes a estos inductores.
- 35

Estos compuestos se pueden usar para inducir o restaurar la apoptosis en cualquier enfermedad que se puede prevenir, mejorar o tratar totalmente por inducción o restauración de la apoptosis. Por lo tanto, la presente invención también proporciona composiciones y métodos para la orientación mamíferos caracterizados como que sobreexpresan un miembro de la proteína de la familia IAP. En algunas realizaciones, las células enfermas (tales como células cancerosas) muestran elevados niveles de expresión de proteínas IAP en comparación con homólogos no patológicos (tales como las células no cancerosas).

En otras realizaciones, las células operacionalmente confirman que poseen elevados niveles de expresión de proteínas IAP debido a su entrada en el programa de la apoptosis y la muerte en respuesta a una cantidad eficaz inhibitoria de un compuesto de la invención, siendo dicha respuesta al menos en parte debido a su supervivencia dependiente de la función proteína IAP. En otra realización, la invención se relaciona con la modulación de un estado asociado a la apoptosis que está conectada con uno o más moduladores de la apoptosis. Ejemplos de agentes de modulación de la apoptosis incluyen, pero no se limitan a, Fas/CD95, TRAMP, TNF R1, DR1, DR2, DR3, DR4, DR5, DR6, FADD, RIP, TNFa, ligando Fas, TRAIL, anticuerpos para TRAILR1 o TRAILR2, BCL-2, p53, BAX, BAD, Akt, CAD, PI3 quinasa, PP1, y proteínas caspasa en general. Los moduladores de la apoptosis preferidos son inductores de la apoptosis tales como TNF o un ligando relacionado con TNF, en particular un ligando TRAMP, un ligando Fas/CD95, un ligando TNFR-1, o TRAIL.

Los compuestos de fórmula (I) y (II) previene o inhibe la angiogénesis y perturba la homeostasis de vasos sanguíneos durante el desarrollo vascular en condiciones patológicas como tratamientos independientes.

Así que de acuerdo con otro de sus aspectos, la presente invención se relaciona con el uso de los compuestos de la fórmula para la preparación de fármacos para el tratamiento de células, tejidos, órganos enfermos, o condiciones patológicas y/o estados de enfermedad en un animal (por ejemplo, un sujeto mamífero, incluyendo, pero no limitando a, seres humanos y mamíferos veterinarios), más específicamente para el tratamiento y/o profilaxis del cáncer y condiciones relacionadas, tales como linfoma, melanoma, glioma, glioblastoma, mieloma, insulinoma, hipercalcemia, leucemia, neuroblastoma, sarcoma, policitemia, trombocitosis, enfermedad de Hodgkin, macroglobulinemia; enfermedades autoinmunes; enfermedades inflamatorias; infecciones; enfermedades hiperproliferativas; SIDA; enfermedades neurodegenerativas; enfermedades vasculares. En algunas realizaciones, las células cancerosas tratadas son metastásicas.

En otras realizaciones, las células cancerosas tratadas son resistentes a los agentes anticancerosos comunes. Las infecciones apropiadas para el tratamiento con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, infecciones causadas por virus, bacterias, hongos, micoplasmas, priones. Las enfermedades asociadas a células endoteliales apropiadas para el tratamiento con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, degeneración macular, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes, rechazo del injerto de retinopatía corneal, angiogénesis miocárdica, telangiectasia, angiofibroma, granulación de heridas, aterosclerosis, esclerodermia y cicatrices hipertróficas.

De acuerdo con otro de sus aspectos, la presente invención se relaciona con composiciones farmacéuticas que comprenden al menos uno de los compuestos de fórmula (I) y (II). De acuerdo con otro de sus aspectos, la presente invención se relaciona con combinaciones de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) y (II) y al menos un agente terapéutico adicional (incluyendo, pero no limitando a, agentes quimioterapéuticos, moduladores de la apoptosis, agentes antiangiogénicos, antimicrobianos, antivirales, antifúngicos y antiinflamatorios).

Un número de agentes contra el cáncer apropiados se contemplan para uso en el método de la presente invención. Los ejemplos de los compuestos quimioterapéuticos y terapias anticancerosas apropiadas para la coadministración con los compuestos de fórmula (I) y (II) son conocidos para los expertos en el arte.

En realizaciones preferidas, los agentes contra el cáncer comprenden agentes que inducen o estimulan la apoptosis. Incluyen, pero no se limitan a, terapias de radiación; factores relacionados con el TNF; inhibidores de la quinasa; moléculas antisentido; anticuerpos; anti-estrógenos; antiandrógenos; inhibidores de la COX-2; fármacos antiinflamatorios; fármacos quimioterapéuticos contra el cáncer; moléculas de señalización celular; ceramidas y citoquinas; estaurosporina, y similares. Los ejemplos específicos de agentes contra el cáncer apropiados para la coadministración con los compuestos de Fórmula (I) y (II) son conocidos para los expertos en el arte.

En todavía otras realizaciones, la composición y métodos de la presente invención proporcionan un compuesto de Fórmula (I) y (II) y al menos un agente antihiperproliferativo o antineoplásico seleccionado entre agentes alquilantes, antimetabolitos, y productos naturales (por ejemplo, compuestos derivados de plantas y/o animales).

En algunas realizaciones, los agentes alquilantes apropiados para uso en las presentes composiciones y métodos incluyen, pero no están limitados a, mostazas de nitrógeno; etileniminas y metilmelaminas; sulfonatos de alquilo; nitrosoureas; triazenos. Los ejemplos específicos de agentes alquilantes apropiados para la coadministración con compuestos de Fórmula (I) y (II) son conocidos para los expertos en el arte.

En otras realizaciones, antimetabolitos apropiados para uso en las presentes composiciones y métodos incluyen, pero no se limitan a, análogos de ácido fólico; análogos de pirimidina; análogos de la purina. Los ejemplos específicos de antimetabolitos apropiados para la coadministración con los compuestos de Fórmula (I) y (II) son conocidos para los expertos en el arte.

5 En incluso otras realizaciones adicionales, los agentes quimioterapéuticos apropiados para uso en las presentes composiciones y métodos incluyen, pero no se limitan a, alcaloides de la vinca; epipodofilotoxinas; antibióticos; enzimas; modificadores de respuesta biológica; complejos de coordinación de platino; antracenedionas; derivados de metilhidrazina; supresores adrenocorticales; adrenocorticosteroides; progestinas; estrógenos; andrógenos; antiandrógenos; análogos de la hormona liberadora de gonadotropina. Los ejemplos específicos de agentes quimioterapéuticos apropiados para la coadministración con los compuestos de Fórmula (I) y (II) son conocidos para los expertos en el arte.

15 Cualquier agente oncolítico que se utiliza rutinariamente en un contexto de terapia del cáncer encuentra uso en la composición y métodos de la presente invención. U.S. FDA y agencias de contraparte internacional a la U.S. FDA mantienen formularios de agentes oncolíticos aprobados para su uso, cuyos miembros enumerados son por ejemplo apropiados para la coadministración con los compuestos de Fórmula (I) y (II). Los expertos en el arte apreciarán que las "etiquetas de los productos" requeridas en todos los productos quimioterapéuticos aprobados describen las indicaciones aprobadas, información sobre la dosificación, los datos de toxicidad y similares, por los agentes.

20 Para una descripción más detallada de agentes contra el cáncer y otros agentes terapéuticos apropiados, por ejemplo, que se coadministran o asocian con los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) y (II) de la presente invención, los expertos en el arte se refieren a cualquier número de manuales instructivos, incluyendo, pero no limitando a, the Physician's Desk Reference and to Goodman and Gilman's "Pharmaceutical Basis of Therapeutics" 11th Edition, Eds. Hardman et al., 2005.

25 De acuerdo con otro de sus aspectos, la presente invención se relaciona con una combinación de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) y (II) y al menos un tratamiento para el cáncer, por ejemplo, intervención quirúrgica o radioterapia.

Por lo tanto, la presente invención también proporciona métodos para administrar un compuesto de fórmula (I) y (II) con la terapia de radiación. La invención no está limitada por el tipo, cantidad, o sistemas de entrega y de administración utilizados para administrar la dosis terapéutica de radiación a un animal.

30 La fuente de radiación puede ser externa o interna para el animal. La radioterapia externa es más común e implica dirigir un haz de radiación de alta energía a un sitio del tumor a través de la piel utilizando, por ejemplo, un acelerador lineal. La radioterapia interna implica implantar una fuente de emisión de radiación dentro del cuerpo en o cerca del sitio del tumor, incluyendo el uso de sistemas de administración que se dirigen específicamente a las células cancerosas.

El animal puede recibir opcionalmente radiosensibilizadores o radioprotectores. Los radiosensibilizadores aumentan la destrucción de células tumorales. Los radioprotectores protegen los tejidos sanos de los efectos nocivos de la radiación.

35 Cualquier tipo de radiación se puede administrar a un paciente, siempre y cuando que su dosis se tolere sin efectos secundarios inaceptables. Las radioterapias apropiadas incluyen radioterapia ionizante/electromagnética y radioterapia de haz de partículas.

40 La dosis total de radiación administrada a un animal es preferiblemente de aproximadamente 0.01 Gray (Gy) a aproximadamente 100 Gy. Más preferiblemente, aproximadamente 10 Gy a aproximadamente 65 Gy se administran durante el curso del tratamiento. Mientras que en algunas realizaciones una dosis completa de radiación se puede administrar en el transcurso de un día, la dosis total es idealmente fraccionada y administrada durante varios días. Deseablemente, la radioterapia se administra a intervalos de al menos aproximadamente 3 días, en un periodo de 1 a 8 semanas. De acuerdo con lo anterior, una dosis diaria de radiación comprenderá aproximadamente 1-5 Gy, y preferiblemente 1-2 Gy. La dosis diaria de radiación debería ser suficiente para inducir la destrucción de las células diana, pero días de descanso de la terapia deben ser incluidos. Por ejemplo, la radiación se administra de forma deseable en 5 días consecutivos, y no se administra durante 2 días, por cada semana de tratamiento, permitiendo así 2 días de descanso a la semana. Estos esquemas de administración de radioterapia a modo de ejemplo no pretenden, sin embargo, limitar la presente invención.

50 En algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto de Fórmula (I) y (II) y uno o más agentes terapéuticos o contra el cáncer se administran a un animal en una o más de las siguientes condiciones: a diferentes periodicidades, a diferentes duraciones, en diferentes concentraciones, por diferentes rutas de administración, y así sucesivamente. En algunas realizaciones, el compuesto se administra antes que el agente terapéutico o contra el cáncer, i. e. 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 12, o 18 horas, 1, 2, 3, 4, 5, o 6 días, 1, 2, 3 o 4 semanas antes de la administración del agente terapéutico o

5 contra el cáncer. En otras realizaciones, el compuesto se administra después de que el agente terapéutico o contra el cáncer, i.e., 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 12, o 18 horas, 1, 2, 3, 4, 5, o 6 días, 1, 2, 3 o 4 semanas después de la administración del agente terapéutico o contra el cáncer. En algunas formas de realización, el compuesto y el agente terapéutico o contra el cáncer se administran al mismo tiempo, pero en diferentes horarios, i.e., el compuesto se administra diariamente, mientras que el agente terapéutico o contra el cáncer se administra una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, o una vez cada cuatro semanas. En otras realizaciones, el compuesto se administra una vez a la semana, mientras que el agente terapéutico o contra el cáncer se administra diariamente, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, o una vez cada cuatro semanas.

10 Las composiciones farmacéuticas dentro del alcance de esta invención incluyen todas las composiciones en donde los compuestos de la presente invención están comprendidos en una cantidad que es eficaz para conseguir su propósito previsto. Aunque las necesidades individuales varían, la determinación de los intervalos óptimos de cantidades eficaces de cada componente está dentro de la experiencia del arte. Por lo general, los compuestos se pueden administrar a mamíferos, y en particular los seres humanos, por vía oral a una dosis de 0.0025 a 50 mg/kg, o una cantidad equivalente de la sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, por día del peso corporal del mamífero en tratamiento por trastornos sensibles a la inducción o la restauración de la apoptosis. Preferiblemente, aproximadamente 0.01 a aproximadamente 10 mg/kg se administra por vía oral a tratar, mejorar o prevenir tales trastornos. Para las inyecciones intramoleculares, la dosis es generalmente la mitad de la dosis oral. Por ejemplo, una dosis i.m. apropiada sería de aproximadamente 0.0025 a aproximadamente 25 mg/kg, y más preferiblemente, de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 5 mg/kg. En una formulación tópica, el compuesto puede estar presente en una concentración de aproximadamente 0.01 a 100 mg por gramo de portador. En una realización preferida, el compuesto está presente a una concentración de aproximadamente 0.07-1.0 mg/mL, más preferiblemente, aproximadamente 0.1-0.5 mg/mL, más preferiblemente, aproximadamente 0.4 mg/mL.

25 Además de administrar el compuesto como producto químico en bruto, los compuestos de la invención se pueden administrar como parte de una preparación farmacéutica que contiene portadores farmacéuticamente aceptables apropiados que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos en preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. Preferiblemente, las preparaciones, particularmente aquellas preparaciones que se pueden administrar por vía oral o por vía tópica y que se pueden usar para el tipo preferido de administración, tales como comprimidos, grageas, comprimidos para deshacerse en la boca de liberación lenta y cápsulas, enjuagues bucales y lavados, geles, suspensiones líquidas, enjuagues de pelo, geles para el pelo, champús y otras preparaciones que se pueden administrar por vía rectal, tales como supositorios, así como soluciones apropiadas para administración por inyección, por vía tópica o por vía oral, contienen de aproximadamente 0.01 a 99 porcentaje, preferiblemente de 0.25 a 75 porcentaje de compuesto(s) activo(s), junto con el excipiente.

35 Los compuestos y composiciones farmacéuticas de los mismos se pueden administrar por cualquier medio que consiga su propósito previsto. Por ejemplo, la administración puede ser por vía parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, transdérmica, bucal, intratecal, intracraneal, intranasal o tópica. Alternativamente, o simultáneamente, la administración puede ser por vía oral. La dosificación administrada será dependiente de la edad, salud, y peso del receptor, tipo de tratamiento en cuestión, si lo hay, frecuencia de tratamiento, y la naturaleza del efecto deseado.

40 Las preparaciones farmacéuticas de la presente invención se fabrican de una manera que es en sí misma conocida, por ejemplo, por medio de procesos convencionales de mezcla, granulación, elaboración de grageas, disolución, o liofilización. Así, las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener combinando los compuestos activos con excipientes sólidos, opcionalmente moliendo la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de adicionar auxiliares apropiados, si se desea o es necesario, para obtener comprimidos o núcleos de grageas.

45 Los excipientes apropiados son, en particular, filtros tales como sacáridos, preparaciones de celulosa y/o fosfatos de calcio, así como aglutinantes como pasta de almidón, utilizando, por ejemplo, almidón, gelatina, celulosa, y/o polivinil pirrolidona. Si se desea, agentes desintegrantes se pueden adicionar, tales como los almidones mencionados anteriormente, polivinilpirrolidona reticulada, agar, o ácido algínico o una sal del mismo. Los auxiliares son, sobre todo, agentes reguladores de flujo y lubricantes, por ejemplo, sílica, talco, ácido esteárico o sales de los mismos, y/o polietilenglicol. Los núcleos de grageas se proporcionan con recubrimientos apropiados que, si se desea, son resistentes a los jugos gástricos. Con el fin de producir recubrimientos resistentes a los jugos gástricos, se utilizan soluciones de celulosa apropiadas.

50 Otras preparaciones farmacéuticas que se pueden utilizar oralmente incluyen cápsulas duras hechas de gelatina, así como cápsulas blandas, selladas hechas de gelatina y un plastificante tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los compuestos activos en forma de gránulos que se pueden mezclar con agentes de carga, aglutinantes y/o lubricantes y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos se disuelven o suspenden en líquidos apropiados, tales como aceites grasos, o parafina líquida. Además, se pueden adicionar estabilizantes.

Las posibles preparaciones farmacéuticas que se pueden utilizar por vía rectal incluyen, por ejemplo, supositorios, que consisten en una combinación de uno o más compuestos activos con una base de supositorio. Bases para supositorios apropiadas son, por ejemplo, triglicéridos naturales o sintéticos, o hidrocarburos de parafina.

5 Las formulaciones apropiadas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Además, se pueden administrar las suspensiones de los compuestos activos como suspensiones de inyección oleosas apropiadas. Solventes o vehículos lipófilos apropiados incluyen aceites grasos o ésteres de ácidos grasos sintéticos. Las inyecciones acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como sorbitol y/o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes.

10 Las composiciones tópicas de esta invención se formulan preferiblemente en forma de aceites, cremas, lociones, ungüentos y similares mediante la elección de portadores apropiados. Los portadores apropiados incluyen aceites vegetales o minerales, parafina blanda de color blanco, grasas y alcohol de alto peso molecular. Los portadores preferidos son aquellos en los que el ingrediente activo es soluble. Las cremas se formulan preferiblemente a partir de una mezcla de aceite mineral, cera de abejas autoemulsionante y agua en las que se mezcla el ingrediente activo
15 mezclado, disuelto en una pequeña cantidad de un aceite. Un ejemplo típico incluye aproximadamente 40 partes de agua, aproximadamente 20 partes de cera de abeja, aproximadamente 40 partes de aceite mineral y aproximadamente 1 parte de aceite de almendras.

20 Los ungüentos se pueden formular mezclando una solución del ingrediente activo en un aceite vegetal con parafina blanda caliente y dejar que la mezcla se enfríe. Un ejemplo típico de dicho ungüento incluye aproximadamente 30% de aceite de almendra y aproximadamente 70% de parafina blanda de color blanco en peso.

Las lociones se pueden preparar convenientemente disolviendo el ingrediente activo, en un alcohol de alto peso molecular apropiado.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos del método y composiciones de la presente invención.

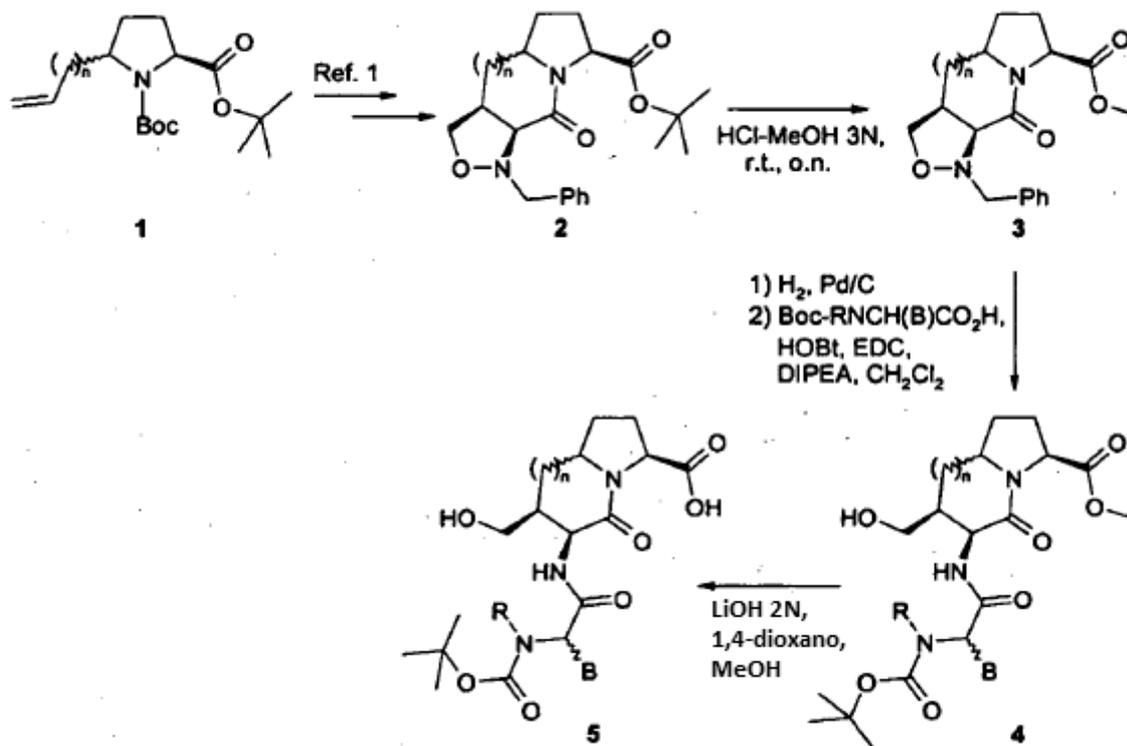
La invención se revela ahora por medio de ejemplos.

25 Sección experimental

Ejemplo 1

Síntesis de intermedios de monómeros con sistemas bicíclicos lactámicos [4.3.0] y [5.3.0]

Intermedios de base, en general, se pueden preparar de acuerdo con un proceso de síntesis descrito en el Esquema 1.



Esquema 1

Los intermedios 2 se preparan fácilmente utilizando un procedimiento ya descrito en la literatura (Leonardo Manzoni, et. al., J. Org. Chem. 2005, 70, 4124). Los compuestos de estructura general 5, fueron preparados de manera eficiente utilizando métodos estándar, que comprende las siguientes etapas:

- 5 a) trans-esterificación de tert-butil-éster a éster de metilo, compuestos 3;
- b) hidrogenación del anillo de isoxazolidina y acoplamiento con el derivado de aminoácido protegido apropiado, compuestos 4;
- c) hidrólisis del éster metílico, compuestos 5.

10 Los intermedios 5 son la puerta de entrada de síntesis para miméticos de Smac homodiméricas y heterodiméricas bivalentes funcionalizado.

1.1 Métodos generales:

15 Los espectros de $^1\text{H-RMN}$ se registraron en Bruker Avance en CDCl_3 , CD_3OD o D_2O como solvente a 400 MHz o 600 MHz. Los espectros $^{13}\text{C-RMN}$ se registraron en CDCl_3 , CD_3OD o D_2O como solvente a 100 MHz o 125 MHz. Las constantes de acoplamiento se dan en hercios y se redondean al 0.1 Hz más cercano. Las purificaciones se llevaron a cabo ya sea mediante cromatografía instantánea en sílica gel (tamaño de partícula 60 μm , malla 230-400), Kieselgel, o por cromatografía instantánea Biotage™ [columnas Biotage Si-12-M (150X12 mm; sílica gel (40-63 μm), velocidad de flujo 12 mL/min; y columnas Si-25-M (150X25 mm; sílica gel (40-63 μm), velocidad de flujo 25 mL/min], o por cromatografía de fase reversa C_{18} Biotage™ [columnas Biotage C_{18}HS (150X12 mm; KP- $\text{C}_{18}\text{-HS}$ (35-70 μm), velocidad de flujo 25 ml/min]. Los productos finales se purificaron por HPLC semipreparativa de fase reversa C_{18} utilizando ya sea una columna X-Terra RP $_{18}$ ODB columna Waters (19 mm x 10.0 cm, 5 μm) o una columna C_{18} Supelco Ascentis (21.2 mm x 15.0 cm, 5 μm). Los solventes se separaron por destilación y se secaron de acuerdo con procedimientos estándar, y las reacciones que requieren condiciones anhidras se llevaron a cabo en atmósfera de nitrógeno o argón. Los solventes para las reacciones se utilizaron directamente desde la botella si no se especifica. Las rotaciones ópticas

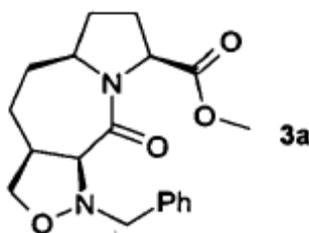
20 $[\alpha]_D^{20}$ se midieron en celdas de longitud de trayectoria de 1dm y 1 mL de capacidad con polarímetro Perkin Elmer 241.

Los datos de LC-MS se recogieron con un Agilent 1100 HPLC conectado a un espectrómetro de masas de trampa de iones Bruker Esquire 3000+ mediante una interfaz ES.

1.2 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 3

5 Los compuestos 2 (5.3 mmol) se disolvieron en 26.5 mL de una solución 3N de HCl metanólico. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente, durante 48 horas y luego se condensó a presión reducida. El producto en bruto se disolvió de nuevo en CH₂Cl₂ y se lavó una vez con una solución saturada de NaHCO₃. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el solvente se eliminó a presión reducida. Por último, el producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea.

El compuesto 3a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente.



10

3a. Condiciones de eluyente de fase reversa C₁₈ Biotage™: de 90% de H₂O y 10% de CH₃CN a 100% de CH₃CN. Rendimiento 90% (1.65 g, MW 344.17, 4.79 mmol) de 3a puro como un sólido de color blanco amorfo. Caracterización

15 analítica: $[\alpha]_D^{20}$ - 142.0 (c 1.15, MeOH); ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.44 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.35-7.23 (m, 3H), 4.74 (dd, J = 7.2, 4.4 Hz, 1H), 4.46 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 4.13 (dd, J = 9.2, 7.6 Hz, 1H), 3.87 (m, 1H), 3.74, (s, 3H), 3.65 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 3.52 (dd, J = 7.6, 6.0 Hz, 1H), 3.18 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 2.78 (m, 1H), 2.30 (m, 1H), 2.14-2.01 (m, 3H), 1.95-1.63 (m, 4H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 172.6, 168.8, 137.4, 129.0, 128.2, 127.2, 73.2, 71.4, 61.4, 59.9, 58.8, 52.4, 44.9, 33.9, 33.3, 32.2, 27.4; ESI-MS : m/z 344.9 [M+H]⁺, 711.0 [M+Na]⁺.

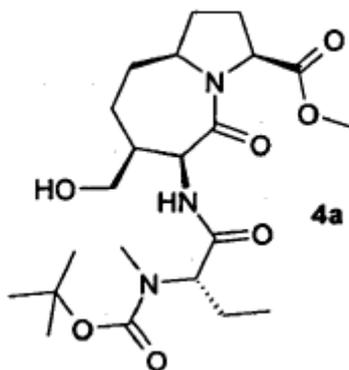
1.3 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 4

20 La escisión hidrogenolítica N-O y la desprotección de bencilo simultánea en los compuestos 3 se llevó a cabo utilizando reactor de hidrogenación de flujo continuo HCube™. El éster metílico 3 (4.8 mmol) se disolvió en EtOH/H₂O 85:15 (190 mL, concentración final ~0.025 M) y se redujo sobre catalizador Pd/C al 10% (presión de hidrógeno: 10 bar, T = 85°C, flujo: 0.7 mL/min). La reacción se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción el solvente se evaporó a presión reducida. Se obtuvo el aminoalcohol en bruto con un rendimiento cuantitativo y se utilizó sin ninguna otra purificación.

25 Se adicionó DIPEA seca (2 equiv) a una solución de aminoácido protegido con N-Boc (1.2 equiv), EDC·HCl (1.2 equiv) y HOBt (1.2 equiv) en CH₂Cl₂ seco a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La solución se agitó durante 10 min antes de adicionar una solución del aminoalcohol (1 equiv) en CH₂Cl₂ (concentración final de aminoalcohol: 0.1 M). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción, la solución se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó una vez con ácido cítrico 5% y NaHCO₃ saturado. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea.

30

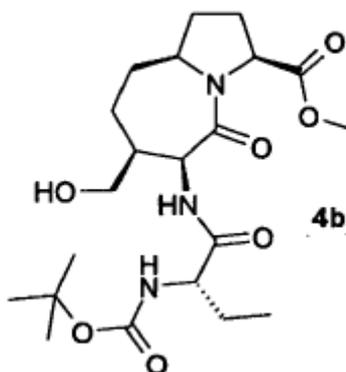
Se sintetizó el compuesto 4a por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 3a (1.65 g, 4.79 mmol) y N-Boc, N-Me etilglicina.



4a. Condiciones eluyente fase reversa C₁₈ Biotage™: de 90% de H₂O y 10% de CH₃CN a 100% de CH₃CN. Rendimiento 82% (1.78 g, MW 455.55, 3.91 mmol) de 4a puro, como un sólido de color blanco amorfo. Caracterización

5 analítica: $[\alpha]_D^{20}$ - 88.2 (c 0.5, CHCl₃). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.51 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.62 (dd, J = 3.8, 4.1 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 4.42 (bs, 1H), 3.92 (dd, J = 6.6, 14.5 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.70 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 3.39 (dd, J = 3.2, 12.3 Hz, 1H), 2.86 (s, 3H), 2.30 (m, 1H), 2.14 - 1.73 (m, 9H), 1.63 (m, 1H), 1.49 (s, 9H), 0.94 (t, J = 7.3 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.1, 172.4, 170.3, 80.5, 64.4, 60.9, 60.6, 58.8, 54.0, 52.4, 41.6, 33.6, 32.8, 31.3, 30.4, 28.4, 27.7, 21.6, 10.7; ESI-MS : m/z 456.6 [M+H]⁺, 478.5 [M+Na]⁺.

10 Compuesto 4b se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 3a (1.65 g, 4.79 mmol) y N-Boc etilglicina.



4b. Condiciones eluyente de fase reversa C₁₈ Biotage™: de 90% de H₂O y 10% de CH₃CN a 100% de CH₃CN. Rendimiento 70% (1.48 g, MW 441.25, 3.35 mmol) de 4b puro como un sólido de color blanco amorfo. Caracterización

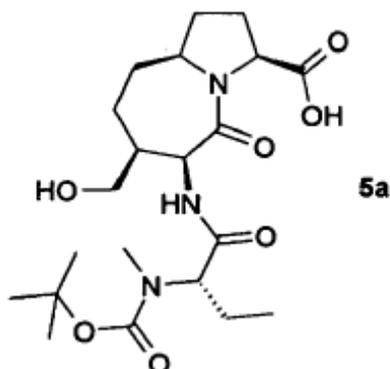
15 analítica: $[\alpha]_D^{20}$ - 146.5 (c 0.71, MeOH); ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.53 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 5.07 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.56 (dd, J = 8.5, 4.0 Hz, 1H), 4.48 (dd, J = 10.0 Hz, 7.5, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.89 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.66 (m, 1H), 3.31 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H), 2.30-2.23 (m, 1H), 2.15-1.97 (m, 4H), 1.90-1.75 (m, 4H), 1.69-1.58 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.95 (t, 7.5 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.9, 172.4, 170.2, 155.6, 80.2, 64.3, 60.6, 58.8, 56.6, 54.1, 52.3, 41.5, 32.8, 28.2, 25.7, 10.1; ESI-MS : m/z 441.9 [M+H]⁺, 463.9 [M+Na]⁺.

1.4 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 5

20 Una solución acuosa 2N de LiOH (7.0 equiv) se adicionó lentamente a unas soluciones de éster metílico, agitadas enfriadas con hielo 4 (1.0 equiv) en 1,4-dioxano (concentración 0.25M para 4). A continuación, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta la hidrólisis completa del material de partida. Después de la terminación de la reacción, se concentró la solución turbia, el residuo se recogió en CH₂Cl₂ y agua, y se acidificó a pH ≈3 con solución 2N acuosa de HCl. La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂, la capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación

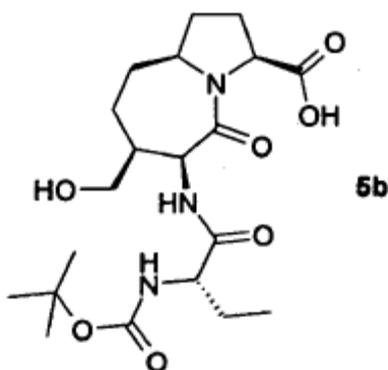
25 el solvente se eliminó a presión reducida. El ácido carboxílico en bruto, obtenido como sólidos de color blanco amorfo, no requería purificación adicional.

El compuesto 5a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 4a (4.55 g, 10.0 mmol).



5 5a. Rendimiento cuantitativo (4.41 g, MW 441.20, 10.0 mmol). Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -95.0 (c 0.50, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ : 7.59 (bs, 1H), 4.56 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 4.45 (m, 2H), 3.84 (dd, J = 8.2, 17.5 Hz, 1H), 3.59 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 3.35 (dd, J = 3.1, 11.8 Hz, 1H), 2.79 (s, 3H), 2.23-1.58 (m, 11H), 1.41 (s, 9H), 0.85 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ : 173.5, 173.0, 171.8, 80.8, 64.4, 61.1, 60.5, 59.2, 54.2, 41.2, 33.8, 33.0, 31.1, 27.0, 21.6, 10.7. ; ESI-MS : m/z 442.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 464.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

10 El compuesto 5b se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 4b (4.41 g, 10.0 mmol).



15 5b. Rendimiento cuantitativo (4.27 g, MW 427.23, 10.0 mmol). Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -123.0 (c 0.61, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ : 7.76 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 7.20 (bs, 1H), 5.33 (m, 1H), 4.56 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.91 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 3.43 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 2.26 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 2.12-1.62 (m, 10H), 1.42 (s, 9H), 0.95 (t, J = 6.5 Hz, 3H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ : 173.8, 173.5, 171.0, 156.0, 80.4, 64.3, 60.8, 60.4, 59.0, 56.5, 54.0, 41.2, 33.4, 32.9, 31.0, 28.2, 27.6, 25.7, 10.1; ESI-MS : m/z 427.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 877.8 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

Ejemplo 2

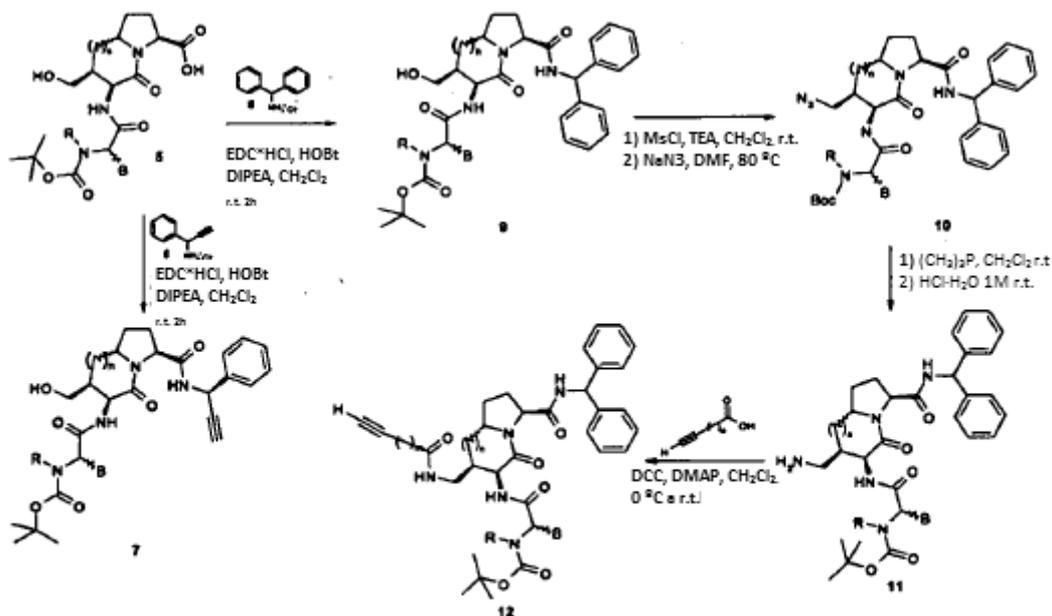
Síntesis de intermedios de lactama bicíclicos [4.3.0] y [5.3.0] funcionalizados de enlaces, monoméricos

20 Algunos intermedios base se pueden preparar de acuerdo con un proceso de síntesis descrito en el Esquema 2, que comprende las siguientes reacciones:

- acoplamiento del ácido libre de los compuestos 5 con aminas apropiadas;
- transformación del grupo 4-hidroxi en una azida, seguido por la reducción para proporcionar un compuesto 11 de 4-amino;

c) acoplamiento de los compuestos 11 con ácidos o aminoácidos N-protegidos.

La síntesis general de intermedios clave se muestra en el Esquema 2.

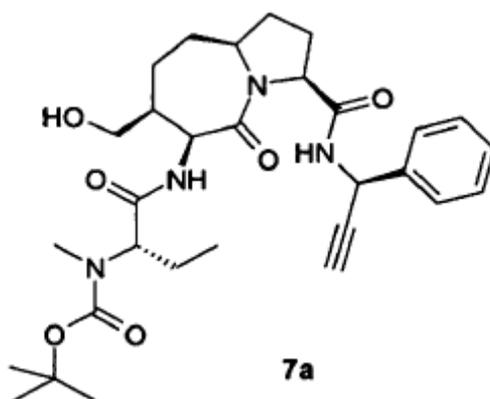


Esquema 2

2.1 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 7

- 5 Se adicionaron secuencialmente EDC·HCl (1.2 equiv), HOBT (1.2 equiv) y DIPEA (4.0 equiv) a una solución agitada de 5 (1 equiv) en CH₂Cl₂. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente, durante 15 min, y a continuación se adicionó a una solución agitada de 6 (1.25 equiv) en CH₂Cl₂ seco (concentración final de 5 ~0.05 M). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y, a continuación, después de la terminación de la reacción, el solvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se diluyó con EtOAc y se lavó secuencialmente con ácido cítrico acuoso al 5%, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.
- 10

El compuesto 7a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 5a (500 mg, 1.14 mmol).



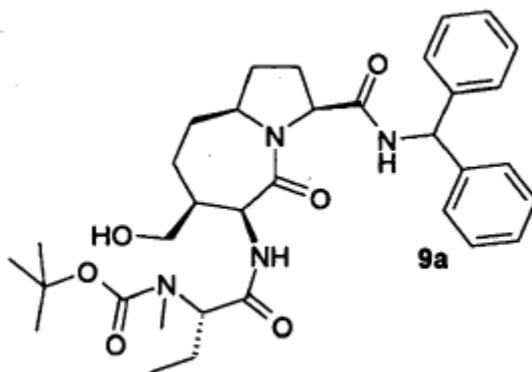
7a. Condiciones eluyente Biotage™: 50% de EtOAc y 50% de éter de petróleo a 100% de EtOAc. Rendimiento 94%

(592 mg, MW 554.69, 1.07 mmol) de 7a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -116 (c 1.5, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.65(d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.36 (m, 3H), 7.20 (m, 3H), 5.87 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 4.61 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.42-4.30 (m, 2H), 3.67 (m, 1H), 3.47 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.14 (d, J = 12.0, 1H), 2.78 (s, 3H), 2.42 (s, 1H), 2.36 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.00-1.70 (m, 4H), 1.70-1.55 (m, 3H), 1.44 (s, 9H), 0.97 (m, 1H), 0.84 (m, 4H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 171.7, 138.9, 128.9, 126.8, 73.0, 64.1, 60.8, 60.2, 58.7, 53.6, 44.4, 41.5, 34.6, 33.2, 31.0, 30.0, 28.4, 25.4, 21.4, 10.6. ESI-MS: m/z 555.4 [M+H]⁺, 577.3 [M+Na]⁺.

2.2 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 9

Se adicionaron secuencialmente EDC*HCl (1.2 equiv), HOBT (1.2 equiv) y DIPEA (4.0 equiv) a una solución agitada de 5 (1 equiv) en CH₂Cl₂. La mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente, durante 15 min, y a continuación se adicionó a una solución agitada de 8 (1.25 equiv) en CH₂Cl₂ seco (concentración final de 5~0.1 M). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y a continuación, después de la terminación de la reacción, el solvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se diluyó con EtOAc y se lavó secuencialmente con ácido cítrico acuoso al 5%, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

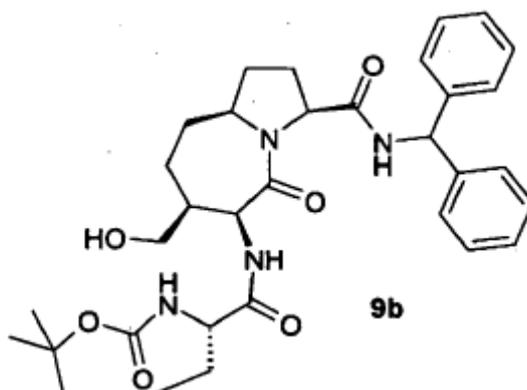
El compuesto 9a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 5a (4.41 g, 10.0 mmol).



9a condiciones de eluyente Biotage™: de 90% de H₂O y 10% de CH₃CN a 100% de CH₃CN. Rendimiento 83% (5.04 g,

MW 606.75, 8.30 mmol) de 9a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -85.3 (c 1.00, CHCl₃). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.87 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.45 (bs, 1H), 7.29-7.10 (m, 10H), 6.15 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 4.68 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.46 (bs, 1H), 4.39 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 3.71 (dd, J = 17.3, 8.6 Hz, 1H), 3.53 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 3.20 (dd, J = 3.2, 12.2 Hz, 1H), 2.79 (s, 3H), 2.38 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 1.98-1.67 (m, 7H), 1.42 (s, 9H), 1.10-1.02 (m, 2H), 0.85 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.1, 171.9, 169.5, 142.2, 141.2, 128.7, 128.5, 127.4, 127.3, 80.5, 64.2, 61.2, 60.2, 58.9, 56.8, 53.7, 41.7, 34.6, 33.2, 31.1, 30.2, 28.4, 25.6, 21.4, 10.7. ESI-MS: m/z 607.5 [M+H]⁺, 629.5 [M+Na]⁺.

El compuesto 9b se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 5b (4.27 g, 10.0 mmol).



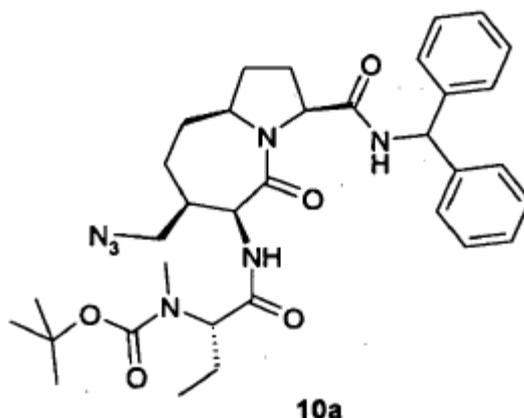
9b condiciones de eluyente Biotage™: de 90% de H₂O y 10% de CH₃CN a 100% de CH₃CN. Rendimiento 76% (4.5 g,

5 MW 592.73, 7.6 mmol) de 9b puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ - 125.0 (c 1.48, MeOH); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃):
 10 δ: 7.97 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.35-7.15 (m, 10H), 6.21 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.17 (d, J = 7.2 Hz, 1H),
 4.73 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.49 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.77 (dd, J = 17.6, 8.5 Hz, 1H), 3.67 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 3.28 (dd, J
 = 12.0, 3.2 Hz, 1H), 2.38 (dd, J = 12.0, 6.8 Hz, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.10-1.95 (m, 2H), 1.89-1.55 (m, 5H), 1.43 (s, 9H),
 1.30-1.10 (m, 2H), 0.96 (t, 7.2 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.9, 171.7, 171.1, 169.6, 155.8, 142.0, 141.2,
 128.6, 128.4, 127.4, 127.2, 126.9, 80.3, 64.2, 61.2, 58.9, 56.8, 53.9, 41.5, 34.0, 33.2, 31.1, 28.3, 25.8, 25.6, 21.0, 14.2,
 10.2. ESI-MS: m/z 593.1 [M+H]⁺, 615.1 [M+Na]⁺.

2.3 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 10

15 Se adicionaron secuencialmente TEA seca (4.0 equiv) y MsCl (4.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 9
 (1.0 equiv) en CH₂Cl₂ seco (concentración ≈0.25M para 9) en una atmósfera de argón a 0°C. La mezcla de reacción se
 20 agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de la terminación de la reacción, la mezcla resultante se diluyó
 con CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el
 solvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se disolvió en DMF seca (concentración ≈0.1 M) en una
 atmósfera de argón a temperatura ambiente, y a continuación se adicionó NaN₃ (10.0 equiv). La mezcla de reacción se
 agitó a 80°C, durante la noche. Después de la terminación de la reacción, el solvente se eliminó a presión reducida, el
 producto en bruto se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación,
 el solvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea.

El compuesto 10a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 9a (1.21 g, 2.0 mmol).

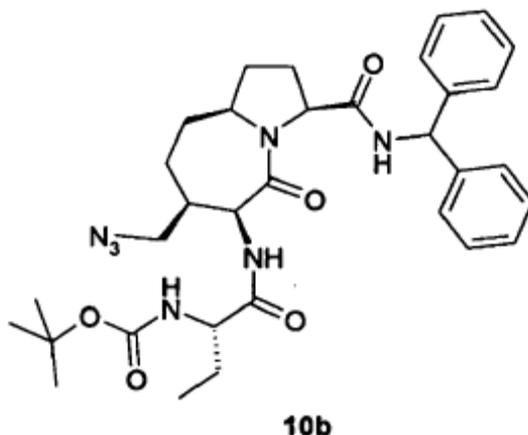


10a. Mezcla eluyente: Éter de petróleo/EtOAc 30:70. Rendimiento 64% (810 mg, MW 631.75, 1.28 mmol) de 10a puro.

25 Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ - 101.7 (c 0.75, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.86 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.30-7.13

(m, 10H), 7.00 (bs, 1H), 6.15 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.51 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 4.41 (bs, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.33 (bd, J = 11.2 Hz, 1H), 3.07 (dd, J = 11.2, 7.5 Hz, 1H), 2.78 (s, 3H), 2.37 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 1.95-1.75 (m, 4H), 1.50-1.20 (m, 3H), 1.45 (s, 9H), 1.30 (m, 1H), 1.05 (m, 1H), 0.84 (t, J = 7.5 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 171.3, 142.0, 141.1, 128.7, 128.6, 127.3, 127.2, 126.9, 80.3, 61.0, 60.2, 58.8, 56.8, 53.6, 53.3, 39.8, 34.3, 33.4, 32.1, 29.9, 28.4, 25.6, 21.2, 10.6. ESI-MS: m/z 632.5 [M+H]⁺, 654.5 [M+Na]⁺.

El compuesto 10b se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 9b (1.18 g, 2.0 mmol).



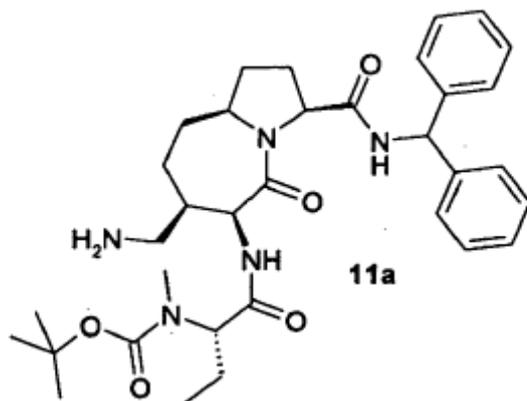
10b. Mezcla eluyente: Éter de petróleo/EtOAc 30:70. Rendimiento 51% (635 mg, MW 617.74, 1.02 mmol) de 10b puro.

10 Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ - 109.9 (c 0.62, MeOH); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.82 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.30-7.13 (m, 10H), 7.21 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 6.14 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.92 (bd, J = 7.2 Hz, 1H), 4.64 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.50 (dd, J = 10.0 Hz, 8.0, 1H), 3.96 (dd, J = 13.6, 7.2 Hz, 1H), 3.76 (dd, J = 17.6, 9.2 Hz, 1H), 3.45 (dd, J = 12.4, 3.6 Hz, 1H), 3.06 (dd, J = 12.4, 9.2 Hz, 1H), 2.36 (dd, J = 12.4, 6.8 Hz, 1H), 2.18 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.82-1.44 (m, 6H), 1.39 (s, 9H), 1.30-1.10 (m, 2H), 0.89 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 172.4, 171.3, 169.4, 155.8, 142.0, 141.1, 128.7, 128.6, 127.3, 127.2, 80.3, 61.0, 58.9, 56.8, 56.4, 53.6, 53.5, 40.0, 34.2, 33.3, 32.0, 28.3, 25.5, 21.0, 10.2. ESI-MS: m/z 618.1 [M+H]⁺, 640.1 [M+Na]⁺.

2.4 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 11

20 Una solución 1 N de (CH₃)₃P en tolueno (1.5 equiv) se adicionó a una solución agitada de azidas 10 (1.0 equiv) en CH₂Cl₂ seco (concentración ≈0.67 M para 10) en una atmósfera de argón a temperatura ambiente. Después de completar la conversión de la azida al correspondiente iminofosforano, se adicionó HCl 1N acuosa a la mezcla de reacción, que se agitó a temperatura ambiente durante 10-20 min adicionales. Después de la terminación de la reacción, la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂, la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y el solvente se eliminó a presión reducida. La sal clorhidrato en bruto se utilizó sin una purificación adicional.

25 El compuesto 11a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 10a (632 mg, 1.0 mmol).

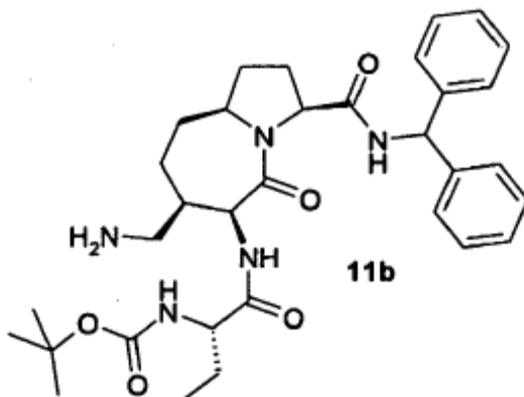


11a

11a. Rendimiento 50% (321 mg, MW 642.23, 0.50 mmol) de sal clorhidrato de 11a puro. Caracterización analítica:

$[\alpha]_D^{20}$ - 96.5 (c = 1.10, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.90 (bs, 1H), 7.64 (bs, 1H), 7.30-7.10 (m, 10H), 6.12 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.63 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 4.40 (bs, 1H), 4.34 (bs, 1H); 3.70 (m, 1H); 2.81 (bd, 5H); 2.31 (m, 1H), 2.17 (m, 1H), 1.95-1.60 (m, 7H), 1.45 (m, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.13 (m, 1H), 0.85 (m, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 174.3, 170.3, 169.5, 142.1, 141.4, 128.7, 128.6, 127.5, 127.4, 127.3, 80.7, 61.4, 61.0, 58.7, 57.0, 53.8, 42.3, 38.1, 34.0, 33.0, 31.8, 28.3, 25.9, 21.1, 10.6; ESI-MS: m/z 606.6 [M+H]⁺, 628.6 [M+Na]⁺.

El compuesto 11b se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 10b (617 mg, 1.0 mmol).



11b

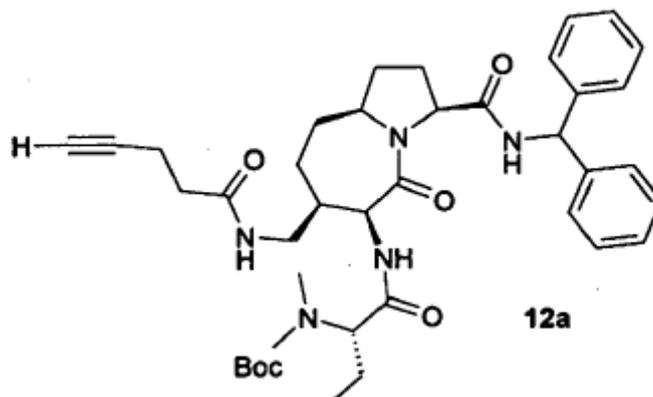
11b. Rendimiento 92% (578 mg, MW 628.20, 0.92 mmol) de sal clorhidrato de 11b puro. Caracterización analítica:

$[\alpha]_D^{20}$ - 68.5 (c 1.31, MeOH); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 8.39 (bs, 3H), 8.04 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.40-7.20 (m, 10H), 6.18 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.12 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 4.71 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.49 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 4.05 (q, J = 7.2 Hz, 1H); 3.74 (q, J = 8.4 Hz, 1H); 2.90 (bs, 2H); 2.40 (m, 1H), 2.21 (m, 1H), 2.05-1.55 (m, 7H), 1.47 (s, 9H), 1.33 (m, 1H), 1.22 (m, 1H), 0.99 (t, J = 7.6 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 175.9, 170.1, 169.4, 142.2, 141.1, 128.7, 127.5, 127.4, 127.3, 80.3, 61.3, 58.7, 57.1, 53.8, 42.8, 38.1, 34.0, 33.3, 28.3, 25.8, 25.0, 10.4. ESI-MS: m/z 592.1 [M+H]⁺, 614.1 [M+Na]⁺.

2.5 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 12

Se adicionaron secuencialmente DCC (1.0 equiv) y DMAP (0.2 equiv) a una solución agitada de los compuestos 11 (1.0 equiv) y el ácido carboxílico alqueno terminal apropiado (1.0 equiv) en CH₂Cl₂ seco a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante un periodo de 1 hora. Después de la terminación de la reacción, la mezcla de reacción se filtró, y se lavó con éter dietílico. El solvente se eliminó a presión reducida, y el producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

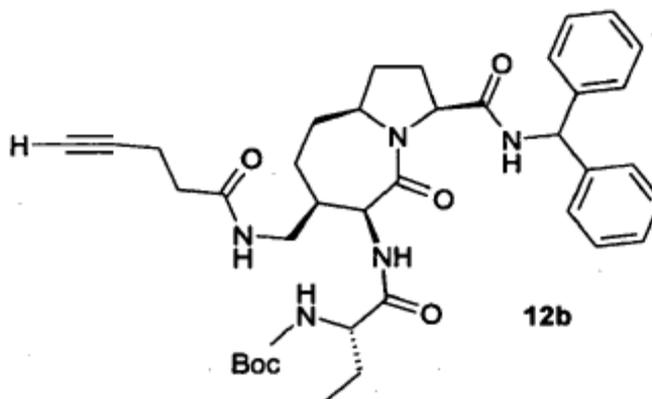
El compuesto 12a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 11a (60 mg, 0.1 mmol).



12a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂.

Rendimiento 93% (64 mg, MW 685.87, 0.093 mmol) de 12a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -116.0 (c 0.90, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.90 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.28-7.09 (m, 11H), 6.13 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.64 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 4.45 (bs, 1H), 4.34 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.00-2.60 (m, 4H), 2.50-2.30 (m, 5H), 2.15 (m, 1H), 2.00-1.50 (m, 9H), 1.45 (m, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.35-1.05 (m, 1H), 0.91 (t, J = 7.6 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 172.8, 171.7, 171.3, 169.3, 142.0, 141.2, 128.7, 128.6, 127.5, 127.4, 127.3, 127.2, 80.7, 69.0, 62.0, 58.9, 56.8, 54.0, 41.8, 39.9, 35.4, 34.5, 33.3, 33.0, 32.0, 28.3, 27.5, 25.5, 21.9, 15.1, 10.8. ESI-MS: m/z 686.5 [M+H]⁺, 703.5 [M+Na]⁺.

El compuesto 12b se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 11b (63 mg, 0.1 mmol).



12b. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂.

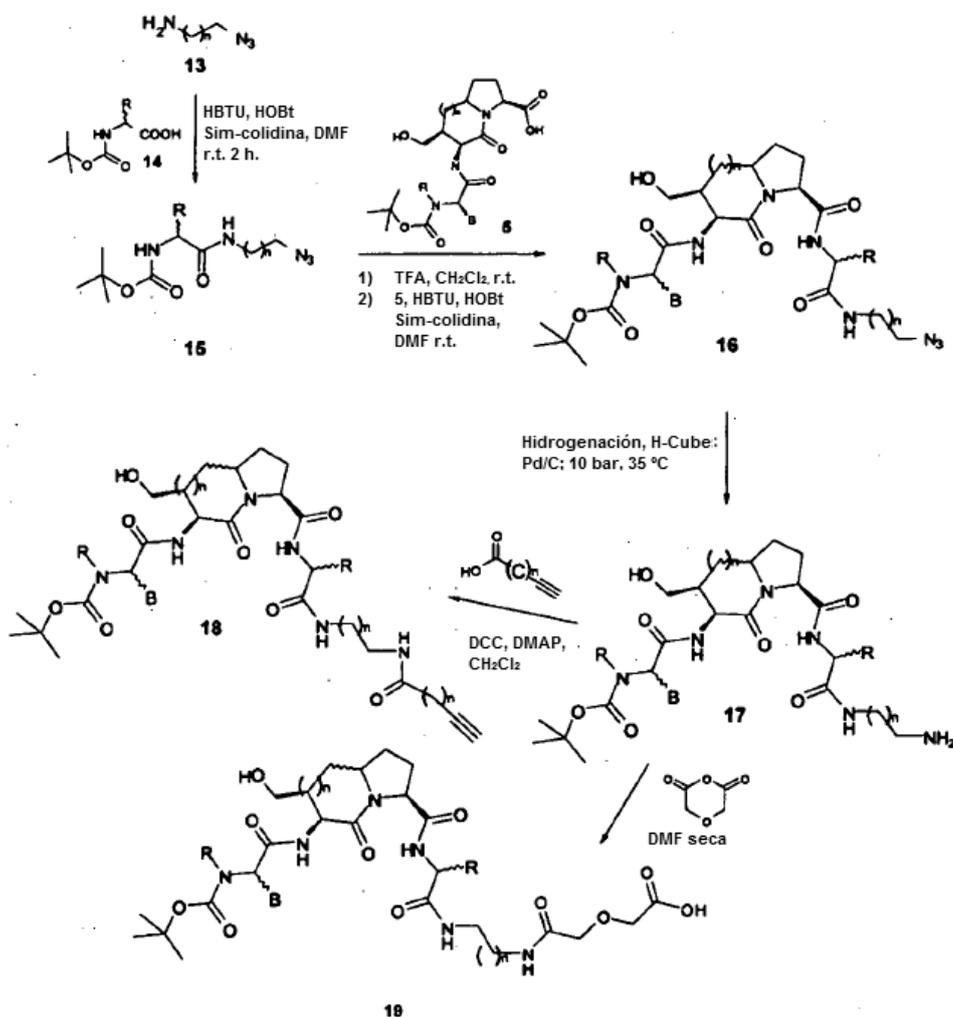
Rendimiento 87% (57 mg, MW 657.35, 0.087 mmol) de 12b puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -95.0 (c 0.93, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.90 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.36-7.16 (m, 11H), 6.21 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.07 (bs, 1H), 4.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.58 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 3.98 (d, J = 6.4, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 2.60-2.40 (m, 6H), 2.22 (m, 1H), 2.10-1.40 (m, 7H), 1.45 (s, 9H), 1.35-1.10 (m, 2H), 0.91 (t, J = 7.6 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.5, 171.8, 171.4, 169.3, 156.1, 141.9, 141.2, 128.7, 128.6, 127.5, 127.4, 127.3, 127.2, 80.6, 69.1, 61.2, 58.9, 57.2, 56.9, 54.4, 42.1, 39.9, 35.4, 34.5, 33.3, 33.0, 32.2, 28.3, 25.6, 25.1, 15.1, 10.4. ESI-MS: m/z 658.4 [M+H]⁺, 680.4 [M+Na]⁺.

Algunos otros intermedios base se pueden preparar de acuerdo con un proceso de síntesis descrito en el Esquema 3, que comprende las siguientes reacciones:

- acoplamiento del enlazante 13 con aminoácidos apropiados para proporcionar los intermedios 15;
- condensación de compuestos 15 N-desprotegidos con los compuestos 5;
- reducción de azida para proporcionar las aminas 17;

d) acoplamiento de aminas 17 con derivados de ácidos apropiados para proporcionar las amidas 18 y 19.

La síntesis general de intermedios clave se muestra en el Esquema 3.

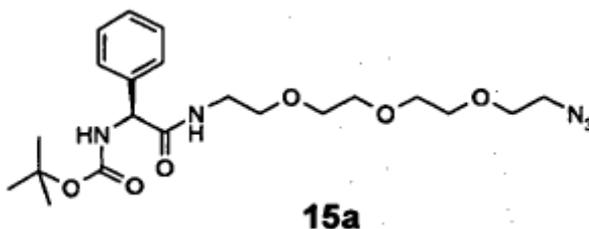


Esquema 3

2.6 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 15

- 5 Se adicionaron secuencialmente HOBT (1.2 equiv), HBTU (1.2 equiv) y Sim-colidina (2.0 equiv) a una solución agitada de azidas 13 (1.0 equiv) y se protegieron con N-Boc aminoácidos 14 (1.25 equiv) en DMF seca (concentración ≈0.15 M para 13) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó agitando y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la
- 10 reacción, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó secuencialmente con ácido cítrico acuoso al 5%, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

El compuesto 15a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del 11-azido-3,6,9-trioxaundecan-1-amina 13a (110 mg, 0.503 mmol) y Boc-(S)-2-Fenilglicina 14a (158 mg, 0.630 mmol).



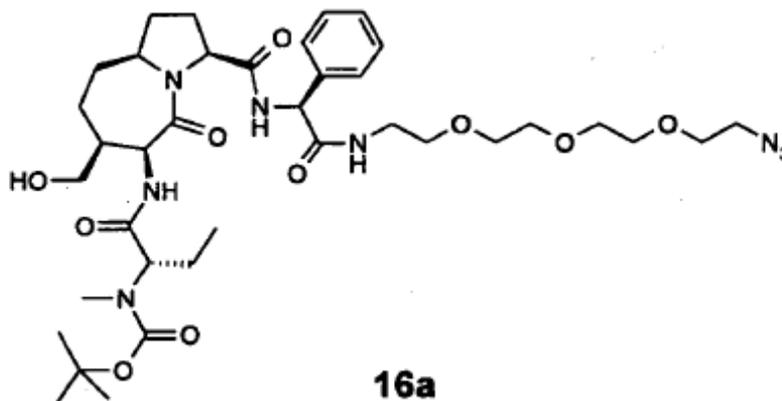
5 15a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 74% (167 mg, MW 451.53, 0.37 mmol) de 15a puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.32-7.20 (m, 5H), 6.28 (bs, 1H), 5.77 (bs, 1H), 5.07 (bs, 1H), 3.6-3.28 (m, 16H), 1.35 (s, 9H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 129.0, 128.3, 127.2, 70.7, 70.6, 70.5, 70.3, 70.0, 69.6, 68.8, 58.5, 50.7, 39.6, 28.3. ESI-MS: m/z 452.5 [M+H]⁺, 474.5 [M+Na]⁺.

2.7 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 16

10 Se adicionó TFA (50.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 15 (1.0 equiv) en CH₂Cl₂ (concentración ≈0.10 M para 15). La mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente y a continuación se concentró a presión reducida. Las sales de trifluoroacetato en bruto de las aminas se utilizaron sin purificación adicional.

15 HOBt (1.2 equiv), HBTU (1.2 equiv) y sim-colidina (4.0 equiv) se adicionaron secuencialmente a una solución agitada del residuo en bruto (1.0 equivalente teórico) y compuestos 5 (1.25 equiv) en DMF seca (≈0.10 M concentración para 5) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó agitando y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con ácido cítrico acuoso al 5%, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

El compuesto 16a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 15a (95 mg, 0.27 mmol) y 5a (150 mg, 0.34 mmol).



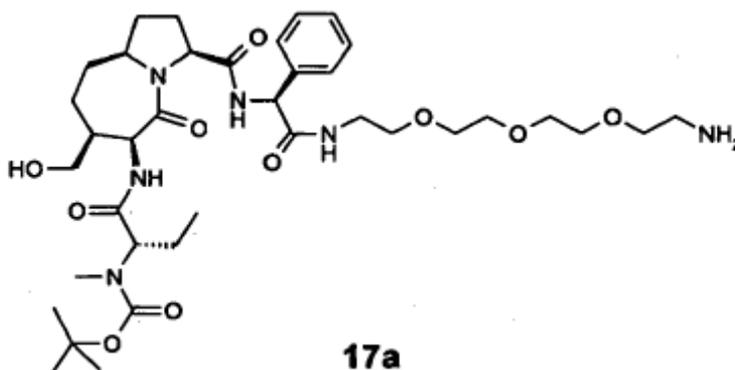
20 16a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 82% (170 mg, MW 774.92, 0.220 mmol) de 16a puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.93 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.36-7.27 (m, 5H), 6.37 (bs, 1H), 5.38 (d, J = 7Hz, 1H), 4.71 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 4.48 (m, 2H), 3.68 (m, 1H), 3.65 (m, 8H), 3.55 (m, 4H), 3.45 (m, 4H), 3.38 (m, 2H), 3.32 (m, 1H), 2.87 (s, 3H), 2.32 (m 1H), 2.22 (m, 1H), 2.10-1.40 (m, 3H), 1.35-1.70 (m, 5H), 1.52 (s, 9H), 1.30 (m, 2H), 0.93 (t, J = 7Hz, 3H);
 25 ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.2, 172.4, 171.4, 170.0, 169.5, 138.2, 128.9, 128.2, 127.2, 70.7, 70.6, 70.5, 70.3, 70.0, 69.5, 64.3, 61.4, 61.0, 59.1, 58.8, 57.4, 53.9, 50.6, 41.6, 39.7, 34.4, 33.0, 32.8, 30.4, 28.4, 26.4, 21.6, 10.7. ESI-MS: m/z 775.5 [M+H]⁺, 797.5 [M+Na]⁺.

2.8 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 17

30 Se adicionó ácido cítrico 1.0 M acuoso (1.1 equiv) a una solución de azidas 16 en H₂O/EtOH 1:9 (concentración ≈5.0 M para 16). La solución se hidrogenó fluyendo a través de un cartucho de catalizador Pd/C al 10% (presión de hidrógeno 10 bar, temperatura 35°C, velocidad de flujo 0.5 mL/min) utilizando el sistema H-Cube™ de Thales Nanotechnology.

Después de completar la reducción a la correspondiente amina, el solvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se utilizó sin ninguna otra purificación, y solo una muestra analítica se purificó (cromatografía de fase reversa HPLC semi-preparativa) y se caracterizó.

5 El compuesto 17a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 16a (170 mg, 0.220 mmol).



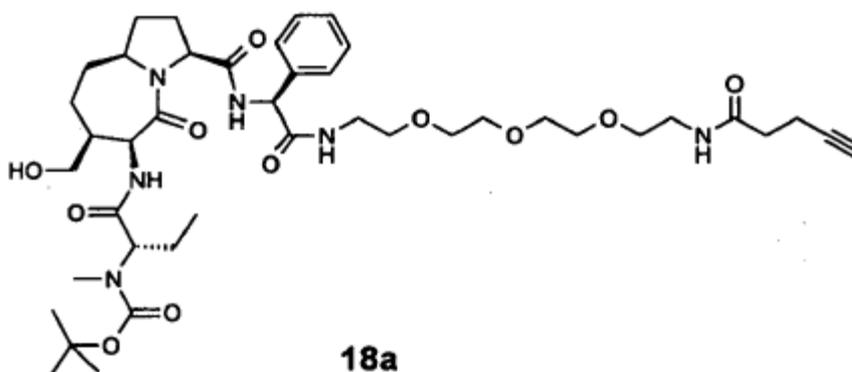
10 17a. condiciones de eluyente fase reversa C₁₈ Biotage™: de 90% de H₂O (CH₃COOH al 1%) y 10% de CH₃CN (CH₃COOH al 1%) a 100% de CH₃CN (CH₃COOH al 1%). Rendimiento 98% (162 mg, MW 748.95, 0.219 mmol) de 17a puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ: 8.6 (bs, 1H), 7.44-7.33 (m, 5H), 5.40 (s, 1H), 4.67 (dd, J = 5.2, 2.8 Hz, 1H), 4.53 (m, 2H), 4.01 (m, 1H), 3.67 (m, 5H), 3.65-3.47 (m, 8H), 3.39 (m, 2H), 3.09 (bs, 2H), 2.85 (s, 3H), 2.27 (m, 1H), 2.16 (m, 1H), 2.10- 1.88 (m, 4H), 1.82-1.65 (m, 4H), 1.55 (m, 1H), 1.50 (s, 9H), 1.42 (bs, 2H), 0.94 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CD₃OD): δ: 172.3, 171.8, 171.0, 137.6, 128.4, 127.9, 127.2, 70.1, 69.8, 69.0, 67.4, 63.9, 61.4, 58.5, 57.3, 40.3, 39.6, 39.2, 33.2, 32.8, 30.7, 29.5, 27.3, 27.2, 26.9, 9.6. ESI-MS: m/z 749.6 [M+H]⁺, 771.7 [M+Na]⁺.

15 2.9 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 18

Se adicionaron secuencialmente DCC (1.0 equiv) y DMAP (0.2 equiv) a una solución agitada de los compuestos 17 (1.0 equiv) y el ácido carboxílico alqueno terminal apropiado (1.0 mmol) en CH₂Cl₂ seco a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante un periodo de 1 hora. Después de la terminación de la reacción, la mezcla de reacción se filtró, y se lavó con éter dietílico. El solvente se eliminó a presión reducida, y el producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

20

El compuesto 18a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 17a (83 mg, 0.11 mmol).



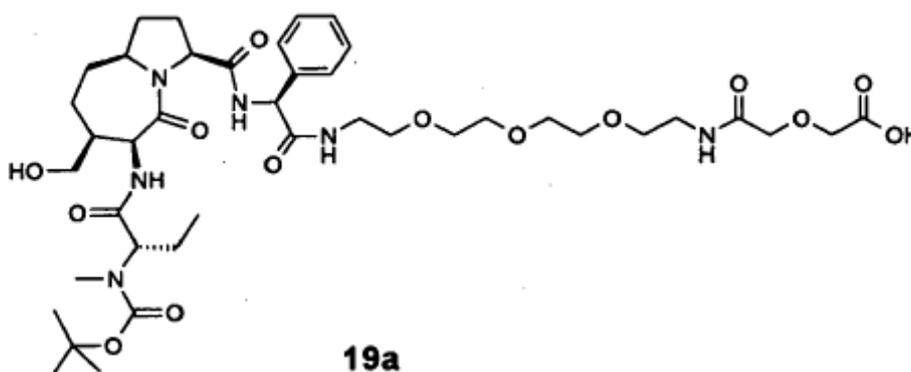
25 18a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 74% (67 mg, MW 829.01, 0.081 mmol) de 18a puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.98 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.45-7.25 (m, 5H), 6.68 (bs, 1H), 5.43 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.71 (d, J = 6.8 Hz, 1H); 4.48 (bs, 2H), 3.8 (m, 1H), 3.70- 3.30 (m, 18H), 2.87 (s, 3H), 2.48 (m, 2H), 2.40-2.15 (m, 4H), 2.15-1.65 (m, 9H), 1.52 (s, 9H), 1.40-1.25 (m, 2H), 0.93 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.4, 173.2, 171.4,

171.3, 170.1, 169.5, 138.2, 128.8, 128.2, 127.2, 83.2, 70.6, 70.5, 70.4, 70.3, 70.1, 69.8, 69.5, 69.2, 64.3, 61.4, 58.8, 57.2, 53.9, 41.6, 39.7, 39.6, 39.1, 35.1, 34.5, 33.0, 31.2, 28.4, 26.6, 21.6, 20.6, 14.8, 10.6. ESI-MS: m/z 829.6 $[M+H]^+$, 851.5 $[M+Na]^+$.

2.10 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 19

- 5 Se adicionaron secuencialmente anhídrido diglicólico (2.0 equiv) y piridina (4.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 17 (1.0 equiv) en DMF. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 4 horas. Después de la terminación de la reacción, se adicionó agua a la mezcla de reacción. La mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con ácido cítrico acuoso al 5%, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. Por último, el producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en Biotage utilizando una columna de fase reversa C_{18} .
- 10

El compuesto 19a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 17a (83 mg, 0.11 mmol).

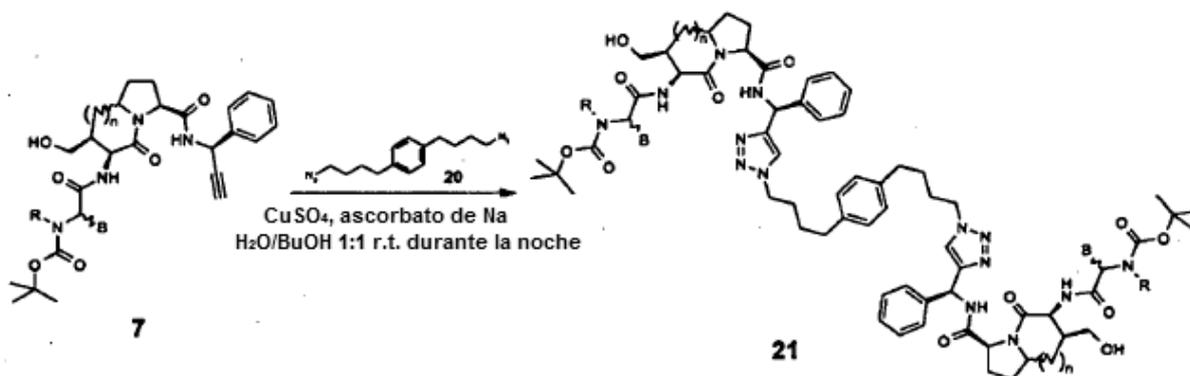


- 15 19a. condiciones de eluyente fase reversa C_{18} Biotage™: de 90% de H_2O (CH_3COOH al 1%) y 10% de CH_3CN (CH_3COOH al 1%) a 100% de CH_3CN (CH_3COOH al 1%). Rendimiento 58% (55 mg, MW 865.00, 0.064 mmol) de 19a puro. Caracterización analítica: 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ : 8.01 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.61 (bs, 1H), 7.53 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.40-7.28 (m, 5H), 6.98 (bs, 1H), 4.52 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.71 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.5 (m, 2H), 4.10 (m, 3H), 3.82 (m, 1H); 3.70-3.30 (m, 18H), 2.88 (s, 3H), 2.25 (m, 2H), 2.08 (s, 2H), 2.05-1.70 (m, 8H), 1.51 (s, 9H), 1.39 (m, 2H), 0.93 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ : 175.2, 173.0, 171.9, 171.4, 169.8, 169.8, 137.9, 128.8, 128.3, 127.2, 77.3, 77.0, 76.8, 71.4, 70.4, 70.0, 69.7, 69.5, 69.2, 64.3, 61.6, 58.9, 57.2, 54.0, 41.5, 39.7, 38.8, 34.3, 33.0, 31.2, 28.4, 26.7, 21.6, 20.6, 10.6. ESIMS: m/z 865.4 $[M+H]^+$, 887.4 $[M+Na]^+$.
- 20

Ejemplo 3

Síntesis de miméticos Smac homodiméricos con sistemas lactámicos bicíclicos [4.3.0] y [5.3.0]

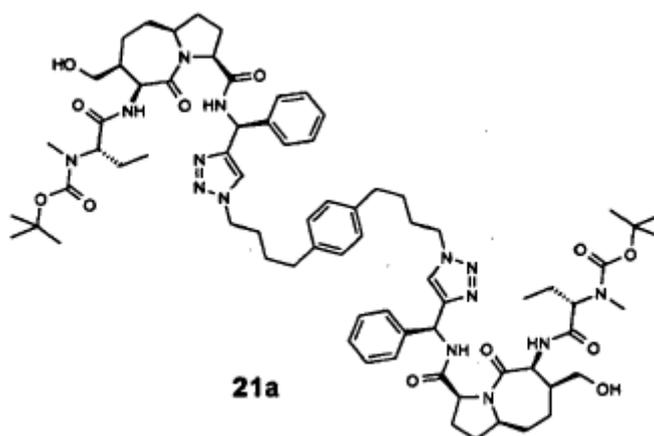
3.1 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 21



Esquema 4

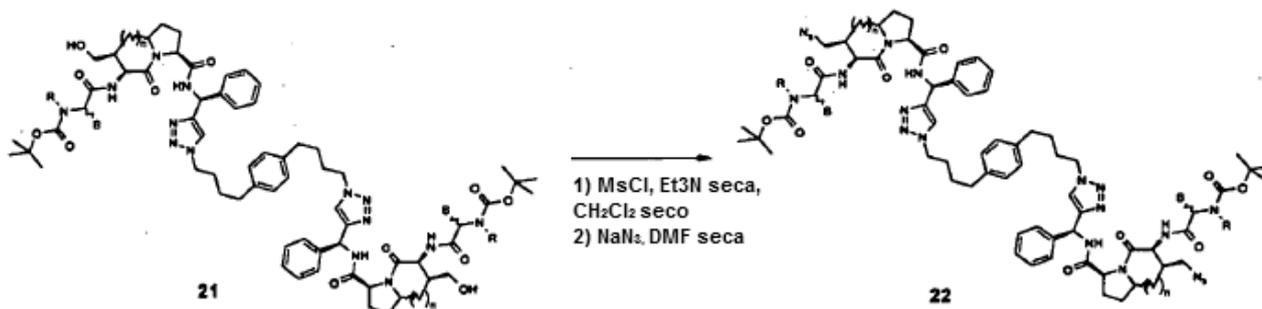
5 Se adicionaron secuencialmente una solución acuosa 0.9 M de ascorbato de sodio (0.55 equiv) y una solución acuosa 0.3 M de $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (0.25 equiv) a una solución agitada de los compuestos 7 (1.1 equiv) y el compuesto 20 (Yoshito Takeuchi, et. al., Journal of Organometallic Chemistry, 2003, 678, 61) (0.5 equiv) en una mezcla 1:1 de $\text{H}_2\text{O}/\text{BuOH}$ (concentración final de 7 ~ 0.05 M). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción, el solvente se eliminó a presión reducida, el producto en bruto se recogió en CH_2Cl_2 y agua y a continuación se extrajo con CH_2Cl_2 . La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. Por último, el residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

10 El compuesto 21a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 7a (200 mg, 0.44 mmol).



15 21a. condiciones de eluyente Biotage™: de 20% de EtOAc y 80% de Éter de petróleo a 100% de EtOAc. Rendimiento 73% (221 mg, MW 1381.74, 0.160 mmol) de 21a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -83 (c 1.15, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ : 7.94 (m, 2H), 7.42 (m, 2H), 7.30-7.10 (m, 12H), 6.96 (s, 4H), 6.20 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.64 (bs, 2H), 4.38 (m, 4H), 4.23 (bs, 4H), 3.70 (m, 2H), 3.53 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 3.21 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 2.79 (s, 6H), 2.53 (bs, 4H), 2.27 (m, 2H), 2.16 (m, 2H), 2.05-1.60 (m, 18H), 1.56 (m, 4H), 1.42 (s, 18H), 1.14 (m, 4H), 0.84 (bs, 6H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ : 173.0, 171.5, 169.6, 140.9, 139.0, 128.6, 128.4, 127.7, 127.1, 121.4, 80.0, 64.3, 61.2, 60.2, 58.8, 53.8, 50.2, 50.0, 41.6, 34.7, 34.5, 33.1, 31.1, 29.7, 28.4, 28.2, 26.0, 21.5, 10.7. ESI-MS: m/z 1382.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 691.7 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$.

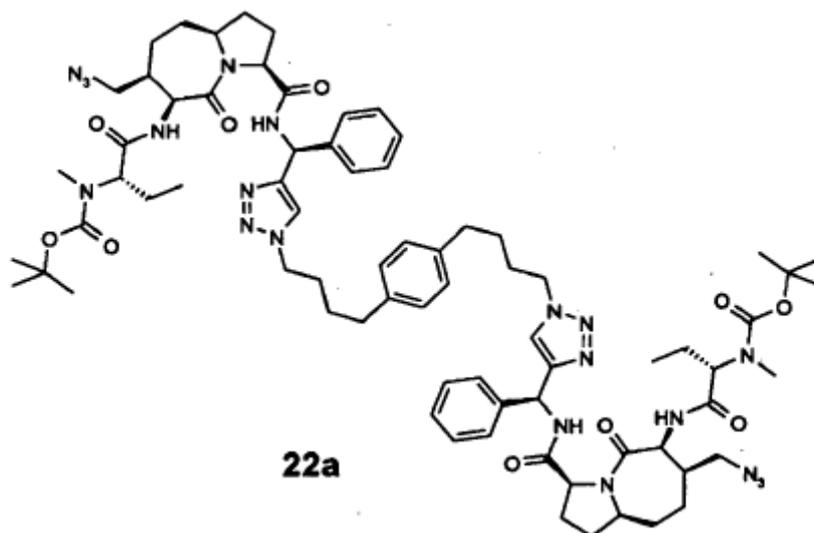
20 3.2 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 22



Esquema 5

Se adicionaron secuencialmente TEA seco (4.0 equiv) y MsCl (4.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 21 (1.0 equiv) en CH₂Cl₂ seco (concentración ≈ 0.25M para 21) en una atmósfera de argón a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente, durante 2 horas. Después de la terminación de la reacción, la mezcla resultante se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se disolvió en DMF seca (concentración ≈ 0.1 M) en una atmósfera de argón a temperatura ambiente, y a continuación se adicionó NaN₃ (20.0 equiv). La mezcla de reacción se irradió en un reactor de microondas a 100°C, durante 30 min. Después de la terminación de la reacción, el solvente se eliminó a presión reducida, el producto en bruto se diluyó con EtOAc y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. Por último, el producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

El compuesto 22a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 21a (78 mg, 0.056 mmol).



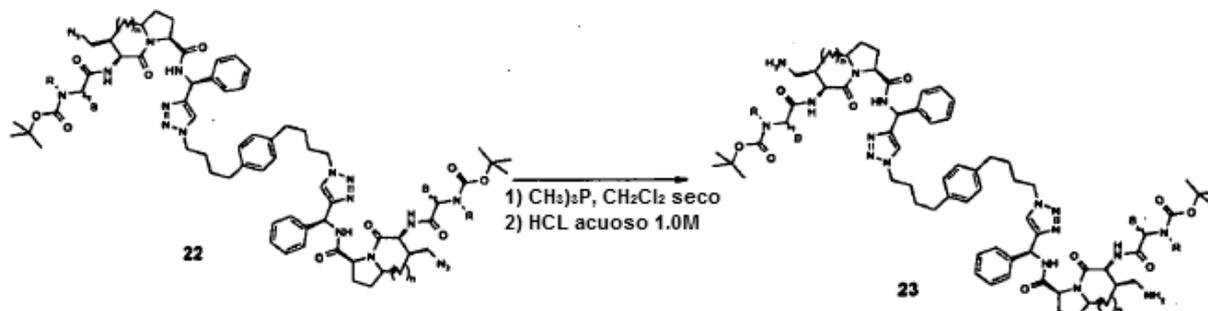
15

22a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂.

Rendimiento 58% (47 mg, MW 1431.77, 0.033 mmol) de 22a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -105 (c 1.31, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 8.03 (m, 2H), 7.40-7.20 (m, 12H), 7.05 (m, 6H), 6.29 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 4.71 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.58 (m, 2H), 4.49 (m, 2H), 4.33 (bs, 4H), 3.83 (m, 2H), 3.42 (bd, J = 11.6 Hz, 2H), 3.16 (t, J = 12.8 Hz, 2H), 2.86 (s, 6H), 2.62 (m, 4H), 2.36 (m, 2H), 2.23 (m, 2H), 2.05-2.60 (m, 22H), 1.55 (bs, 20H), 1.22 (m, 2H), 0.85 (bs, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 171.5, 171.0, 169.6, 140.7, 139.0, 128.7, 128.4, 127.9, 127.1, 121.6, 61.0, 59.0, 58.7, 53.6, 53.2, 50.3, 50.0, 34.7, 34.1, 33.3, 32.1, 29.7, 28.4, 28.2, 26.0, 21.4, 10.6. ESI-MS: m/z 1433.1 [M+H]⁺, 666.7 [M+2H]²⁺.

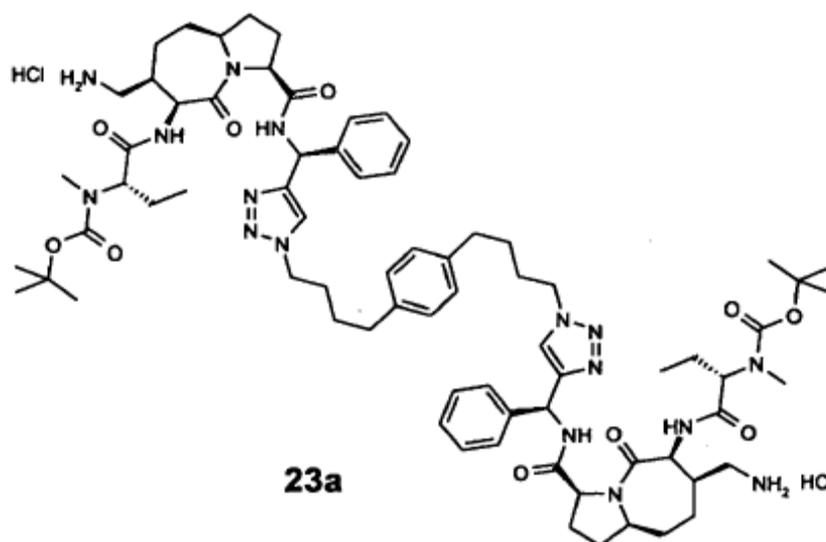
20

3.3 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 23



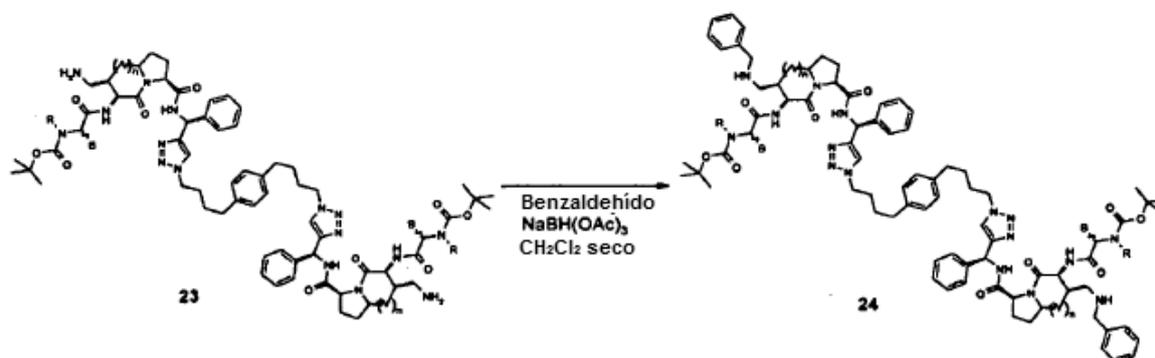
Esquema 6

- 5 Se adicionó una solución 1N de $(\text{CH}_3)_3\text{P}$ en tolueno (3.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 22 (1.0 equiv) en CH_2Cl_2 seco (concentración ≈ 0.01 M para 22) en una atmósfera de argón a temperatura ambiente. Después de dos horas, una solución 0.5 M de HCl se adicionó a la mezcla de reacción, que se agitó a temperatura ambiente, durante otros 10-20 min. Después de la terminación de la reacción, la mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 , la capa orgánica se combinó y se secó sobre Na_2SO_4 , y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se utilizó sin una purificación adicional.
- 10 El compuesto 23a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 22a (36 mg, 0.026 mmol).



- 15 23a. Rendimiento 78% (28 mg, MW 1379.77, 0.020 mmol) de 23a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20} -120$ (c 0.48, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ : 8.35 (m, 4H), 7.88 (m, 2H), 7.35-7.15 (m, 12H), 6.93 (m, 4H), 6.14 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.62 (bs, 2H), 4.40 (m, 4H), 4.24 (bs, 4H), 3.70 (m, 2H), 3.00-2.65 (m, 10H), 2.52 (bs, 4H), 2.30-2.05 (m, 4H), 2.00-1.55 (m, 20H), 1.54 (m, 4H), 1.39 (s, 18H), 1.19 (m, 4H), 0.84 (bs, 6H); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): δ : 173.2, 171.7, 169.2, 141.9, 139.3, 129.6, 128.2, 127.5, 127.4, 122.4, 81.0, 64.5, 61.4, 60.1, 58.8, 53.8, 50.2, 50.0, 41.6, 35.7, 33.5, 33.1, 31.5, 29.7, 28.4, 28.2, 26.0, 21.5, 10.4. ESI-MS: m/z 1380.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 691.2 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$.

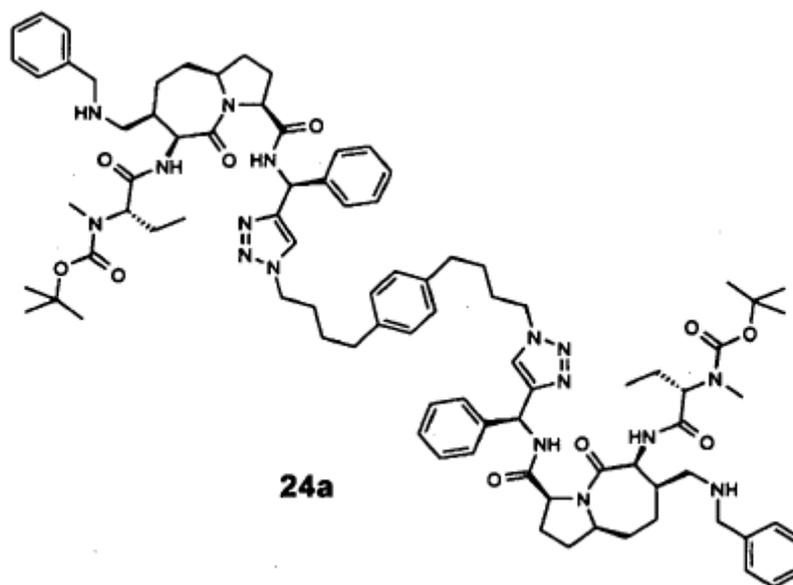
3.4 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 24



Esquema 7

5 Se adicionó $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ sólido (2.6 equiv) a una solución agitada de los compuestos 23 (1.0 equiv) y benzaldehído (1.8 equiv) en CH_2Cl_2 seco (concentración ≈ 0.01 M para 23). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción, la solución se diluyó con CH_2Cl_2 seco y a continuación se lavó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl , a continuación, salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

El compuesto 24a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 23a (42 mg, 0.03 mmol).

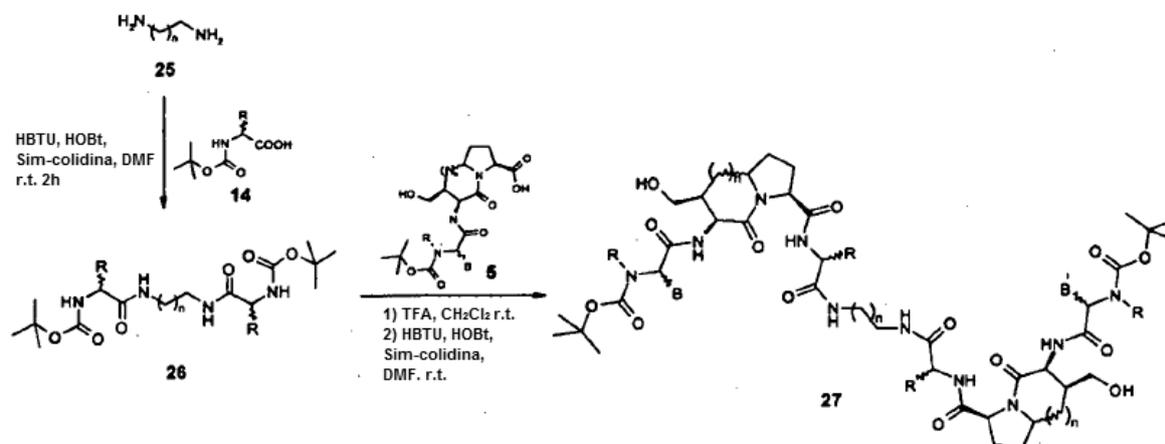


10

24a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH_2Cl_2 a 10% de MeOH y 90% de CH_2Cl_2 .

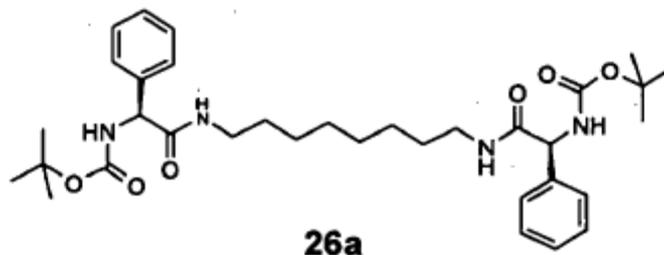
15 Rendimiento 45% (21 mg, MW 1560.32, 0.0135 mmol) de 24a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20} -150$ (c 0.70, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ : 8.25 (bs, 2H), 8.03 (m, 2H), 7.40-7.24 (m, 20H), 7.18 (m, 2H), 7.05 (s, 4H), 6.28 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 4.73 (bs, 2H), 4.49 (m, 4H), 4.30 (s, 4H), 3.95-3.75 (m, 6H), 2.95-2.75 (m, 6H), 2.70-2.50 (m, 8H), 2.35 (m, 2H), 2.23 (m, 2H), 2.25-1.55 (m, 22H), 1.49 (m, 20H), 1.24 (m, 2H), 0.93 (bs, 6H); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): δ : 169.9, 147.8, 141.0, 139.1, 128.8, 128.6, 127.6, 127.2, 127.0, 121.5, 61.0, 58.4, 50.2, 50.0, 38.1, 34.7, 33.3, 33.2, 29.7, 28.5, 28.2, 26.0, 22.1, 10.6. ESI-MS: m/z 1561.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 781.0 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$.

3.5 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 27



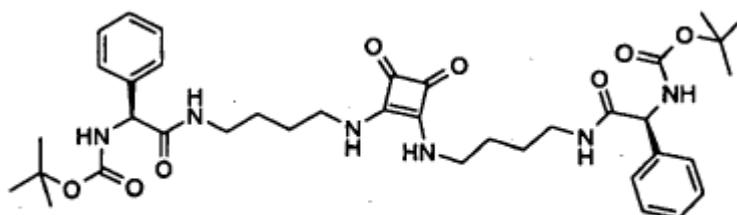
Esquema 8

- 5 Se adicionaron secuencialmente HOBT (2.4 equiv), HBTU (2.4 equiv) y (4.0 equiv) a 0°C a una solución agitada de diaminas disponibles comercialmente 25 (1.0 equiv) y aminoácidos 14 protegidos con N-Boc (2.5 equiv) en DMF seca (concentración ≈0.15 M para 25). La mezcla de reacción se dejó agitando y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó secuencialmente con una solución acuosa saturada de NH₄Cl, solución saturada acuosa de bicarbonato de sodio, y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.
- 10 El compuesto 26a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del 1,8-diaminooctano 25a (46 mg, 0.32 mmol) y Boc-(S)-2-Fenilglicina 14a (200 mg, 0.80 mmol).



- 15 26a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 94% (183 mg, MW 610.80, 0.30 mmol) de 26a puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.38-7.25 (m, 10H), 5.76 (m, 2H), 5.25 (m, 2H), 3.32 (bs, 1H), 3.23 (m, 2H), 3.13 (bs, 1H), 1.57 (s, 4H), 1.42 (m, 18H), 1.21 (d, J = 11.2 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 129.0, 128.9, 128.3, 127.2, 39.7, 39.7, 29.2, 28.8, 28.3, 26.4. ESI-MS:m/z 611.4 [M+H]⁺.

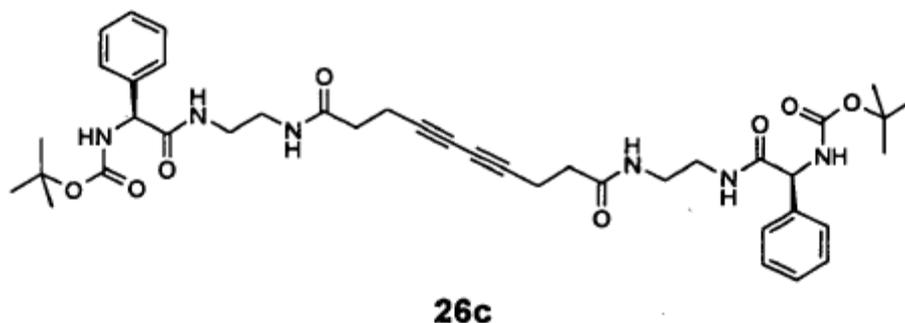
El compuesto 26b se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del 3,4-Bis-(4-aminobutilamino)-ciclobut-3-eno-1,2-diona 25b (17 mg, 0.068 mmol) y Boc-(S)-2-Fenilglicina 14a (43 mg, 0.17 mmol).



26b

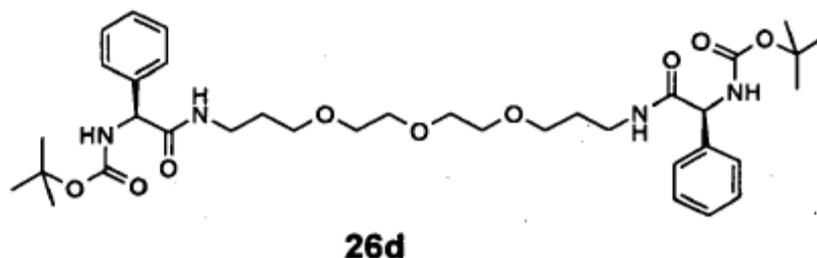
26b. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂ 10 VC. Rendimiento 88% (43 mg, MW 720.87, 0.60 mmol) de 26b puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD): δ: 7.41-7.31 (m, 10H), 5.11 (bs, 2H), 3.56 (bs, 4H), 3.30-3.19 (m, 4H), 1.55 (bs, 8H), 1.44 (s, 18H); ¹³C-RMN (100 MHz, CD₃OD): δ: 128.3, 127.8, 127.0, 43.4, 38.7, 28.1, 27.3, 25.8. ESI-MS: m/z 721.1 [M+H]⁺.

5 El compuesto 26c se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del ácido deca-4,6-diinodioico bis-[(2-amino-etil)-amida] 25c (17 mg, 0.068 mmol) y Boc-(S)-2-Fenilglicina 14a (43 mg, 0.17 mmol).



10 26c. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 83% (42 mg, MW 744.90, 0.56 mmol) de puro 26c. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.32-7.19 (m, 10H), 6.81 (bs, 2H), 5.73 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 5.08 (bs, 2H), 3.32-3.19 (m, 8H), 2.43 (m, 4H), 2.19 (m, 4H), 1.33 (s, 18H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 171.3, 129.0, 128.3, 127.2, 80.2, 66.2, 59.0, 41.0, 38.7, 34.8, 28.3, 16.0. ESI-MS: m/z 745.6 [M+H]⁺.

El compuesto 26d se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanodiamina 25d (50 mg, 0.227 mmol) y Boc-(S)-2-Fenilglicina 14a (142 mg, 0.567 mmol)

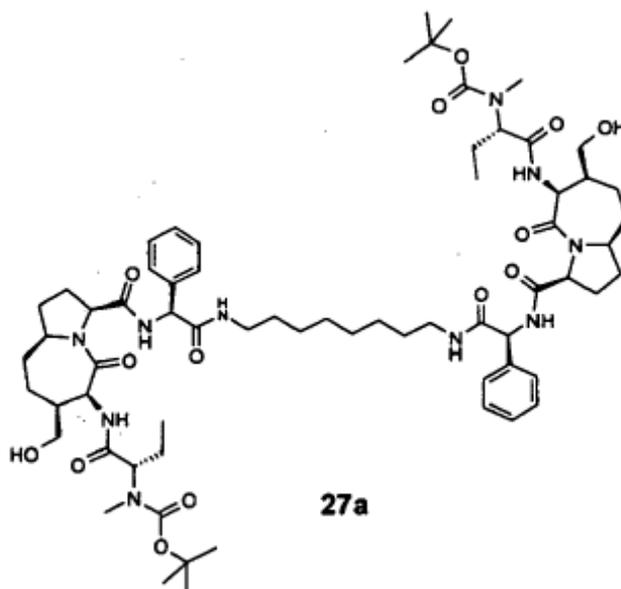


15 26d. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 94% (146 mg, MW 686.85, 0.212 mmol) de 26d puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.39-7.28 (m, 10H), 6.55 (bs, 2H), 5.94 (bs, 2H), 5.10 (bs, 2H), 3.59-3.31 (m, 16H), 1.70 (t, J = 6.0 Hz, 4H), 1.42 (s, 18H); ¹³C RNM (100 MHz, CDCl₃): δ: 170.3, 138.9, 128.8, 128.1, 127.2, 79.8, 70.4, 70.1, 69.7, 38.1, 28.7, 28.3. ESI-MS: m/z 687.6 [M+H]⁺, 709.5 [M+Na]⁺.

20 Se adicionó TFA (50.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 26 (1.0 equiv) en CH₂Cl₂ (concentración ≈0.10 M para 26). La mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente y a continuación se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo en bruto que se utilizó sin purificación.

25 Se adicionaron secuencialmente HOBt (2.4 equiv), HBTU (2.4 equiv) y Sim-colidina (4.0 equiv) a una solución agitada del residuo en bruto (1.0 equivalente teórico) y compuestos 5 (≈2.5 equiv) en DMF seca (concentración ≈0.10 M para 5) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó agitando y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó secuencialmente con ácido cítrico acuoso al 5%, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

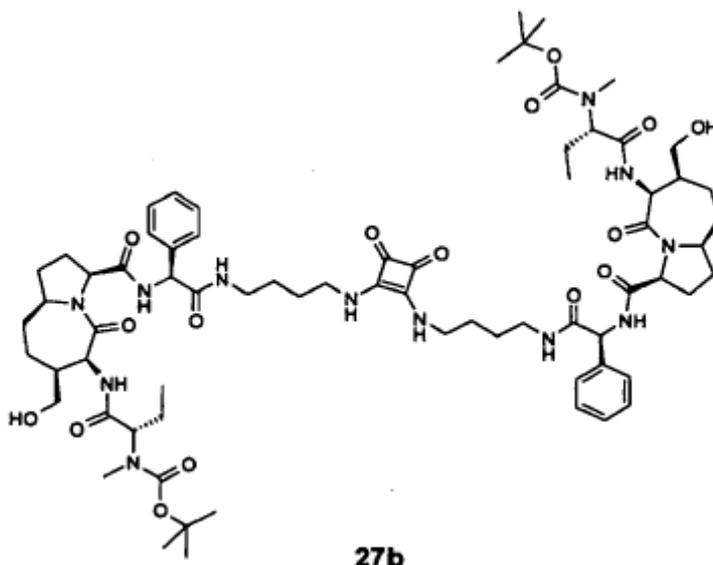
30 El compuesto 27a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 26a (34 mg, 0.08 mmol) y 5a (91 mg, 0.200 mmol).



27a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂.

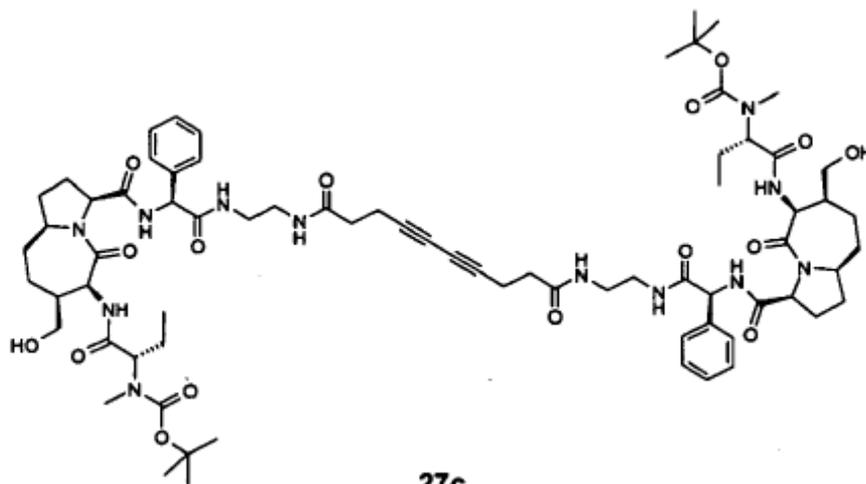
Rendimiento 97% (98 mg, MW 1257.59, 0.078 mmol) de puro 27a. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -118 (c 1.23, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 8.43 (d, J = 8 Hz, 2H), 8.17 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 7.86 (bs, 2H), 7.40-7.25 (m, 10H), 5.36 (d, J = 8 Hz, 2H), 4.61 (dd, J = 7.2, 4 Hz, 2H), 4.48-4.36 (m, 4H), 3.89 (m, 2H), 3.45 (bs, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.00 (m, 4H), 2.70 (s, 6H), 2.16 (m, 2H), 2.14 (m, 2H), 2.00-1.75 (m, 8H), 1.70-1.45 (m, 10H), 1.40 (s, 18H), 1.35 (m, 4H), 1.15 (s, 8H), 0.80 (bs, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 171.2, 170.3, 169.9, 139.4, 128.6, 127.8, 127.5, 79.5, 63.1, 61.1, 58.0, 56.8, 53.9, 41.0, 39.0, 33.2, 32.8, 30.2, 29.3, 29.0, 28.5, 28.1, 26.6, 11.2. ESI-MS: m/z 1257.9 [M+H]⁺.

El compuesto 27b se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 26b (45 mg, 0.062 mmol) y 5a (68 mg, 0.153 mmol).



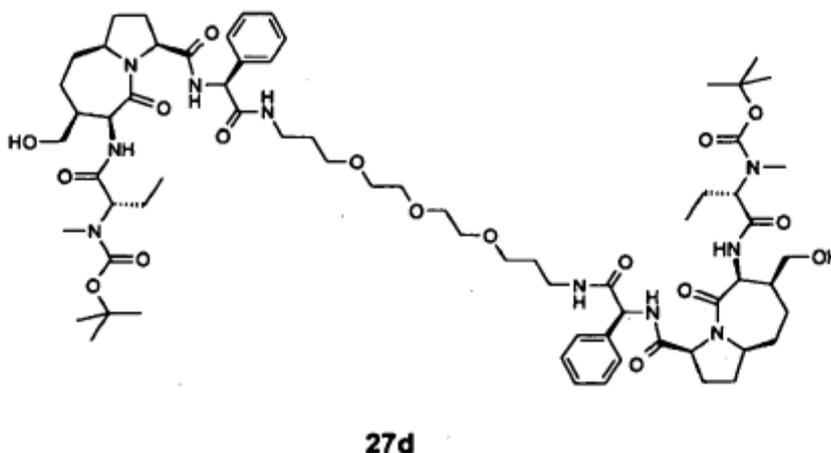
27b. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 51% (42 mg, MW 1352.63, 0.031 mmol) de 27b puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ: 7.31-7.18 (m, 10H), 5.24 (s, 2H), 4.54 (dd, J = 8.0, 2.4 Hz, 2H), 4.41 (m, 4H), 3.87 (m, 2H), 3.43 (m, 8H), 3.21 (m, 4H), 2.73 (s, 6H), 2.14 (m, 2H), 2.01 (m, 2H), 1.95-1.75 (m, 8H), 1.61 (m, 8H), 1.43 (m, 10H), 1.38 (s, 18H), 0.81 (t, J = 7.2 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CD₃OD): δ: 171.8, 171.2, 170.9, 168.0, 137.6, 128.5, 127.9, 127.1, 63.9, 61.4, 58.5, 57.6, 54.8, 43.5, 40.3, 38.6, 33.2, 32.8, 30.8, 28.1, 27.3, 27.0, 25.8, 21.2, 9.7. ESI-MS: m/z 1367.9 [M+H]⁺.

El compuesto 27c se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 26c (42 mg, 0.056 mmol) y 5a (67 mg, 0.152 mmol).



27c. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 74% (58 mg, MW 1391.69, 0.041 mmol) de 27c puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.95 (bs, 2H), 7.55 (bs, 2H), 7.40-7.30 (m, 10H), 7.05 (bs, 2H), 6.95 (bs, 2H), 5.39 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 4.75 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.51 (bs, 4H), 3.82 (m, 2H), 3.64 (d, J = 11.6, 2H), 3.42 (m, 4H), 3.35 (m, 6H), 2.88 (s, 6H), 2.60 (m, 4H), 2.45-2.15 (m, 8H), 2.15-1.60 (m, 14H), 1.51 (s, 18H), 1.35-1.25 (m, 4H) 0.93 (t, J = 7.6 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.0, 172.7, 171.7, 170.5, 137.8, 128.9, 128.3, 127.2, 66.2, 64.4, 61.4, 60.2, 58.9, 57.6, 54.0, 41.6, 41.0, 38.7, 34.7, 34.5, 33.1, 31.2, 28.4, 26.3, 21.6, 16.1, 10.7. ESI-MS: m/z 1392.0[M+H]⁺.

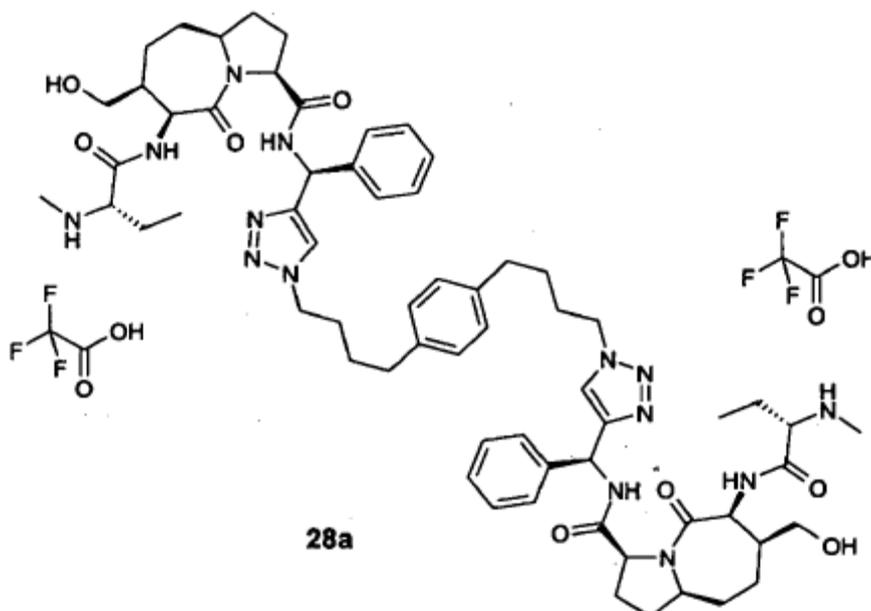
El compuesto 27d se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 27d (30 mg, 0.044 mmol) y 5a (48 mg, 0.110 mmol).



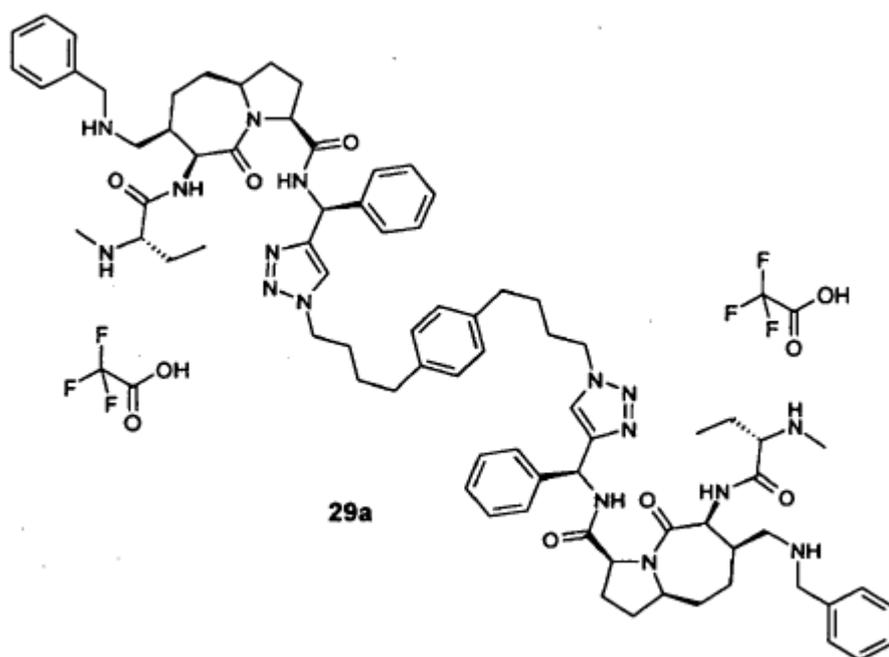
27d. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 80% (47 mg, MW 1333.64, 0.035 mmol) de 27d puro. Caracterización analítica: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.84 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.44 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.35-7.15 (m, 10H), 6.72 (bs, 2H), 5.25 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 4.60 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 4.40 (bs, 4H), 3.72 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 3.45 (m, 6H), 3.40-3.30 (m, 4H), 3.30-3.15 (m, 8H), 2.79 (s, 6H), 2.20-2.10 (m, 4H), 2.05-1.55 (m, 18H), 1.43 (s, 18H), 1.31-1.19 (m, 4H), 0.85 (t, J = 7.2 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.1, 171.4, 170.4, 169.4, 138.4, 128.9, 128.8, 128.1, 127.2, 80.5, 70.5, 70.0, 69.6, 64.4, 61.9, 60.3, 58.9, 57.4, 54.0, 41.6, 38.0, 34.4, 33.0, 31.2, 30.4, 28.4, 26.7, 21.6, 10.7. ESI-MS: m/z 1334.0[M+H]⁺.

3.6 Procedimiento general para desprotección N-Boc de compuestos homodiméricos 21, 24 y 27

Se adicionó TFA (50.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 21, 24, 27 (1.0 equiv) en CH₂Cl₂ (concentración 0.10 M). Las mezclas de reacción se dejaron agitar a temperatura ambiente y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción la solución se concentró a presión reducida. El residuo se trató con agua y se agitó vigorosamente para hidrolizar cualquier éster trifluoroacetato no deseado, y por último la solución se concentró a presión reducida. Los residuos se purificaron por cromatografía en un HPLC semipreparativa de columna de fase reversa C₁₈, y a continuación se liofilizó.



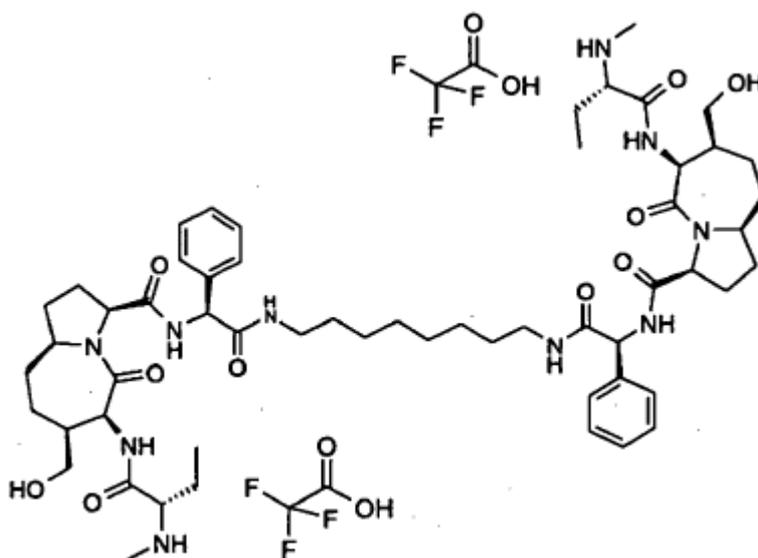
28a, a partir de 21a (30 mg, 0.022 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 90% de H₂O (0.2% de TFA) y 10% de MeOH/iPrOH 6:4 (0.2% de TFA) a 100% de MeOH/iPrOH 6:4 (0.2% de TFA), velocidad de flujo 12 mL/min., 20 min. de análisis. Rendimiento 59% (18 mg, MW 1409.54, 0.013 mmol) de 28a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -110 (c 0.41, CH₃OH); ¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ: 7.53 (s, 2H), 7.20-7.05 (m, 10H), 6.59 (s, 4H), 6.10 (s, 2H), 4.57 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 4.38 (bs, 2H), 3.96 (bs, 4H), 3.81 (m, 4H), 3-49 (bs, 4H), 2.62 (s, 6H), 2.08 (bs, 4H), 2.00-1.80 (m, 10H), 1.75-1.55 (m, 8H), 1.50-1.35 (m, 8H), 1.08 (bs, 4H), 0.88 (d, J = 7.2 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, D₂O): δ: 172.3, 170.7, 168.0, 147.9, 139.4, 139.1, 128.8, 128.2, 128.0, 127.0, 123.0, 63.1, 62.7, 61.6, 58.5, 54.3, 50.0, 49.9, 39.0, 32.3, 31.5, 29.4, 28.9, 27.7, 27.5, 23.4, 8.3. ESI-MS: m/z 1181.9 [M+H]⁺, 1204.2 [M+Na]⁺, 591.8 [M+2H]²⁺.



29a

29a, desde 24a (21 mg, 0.013 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 90% de H₂O (0.2% de TFA) y 10% de MeOH/iPrOH 6:4 (0.2% de TFA) a 100% de MeOH/iPrOH 6:4 (0.2% de TFA), velocidad de flujo 12 mL/min., 20 min. de

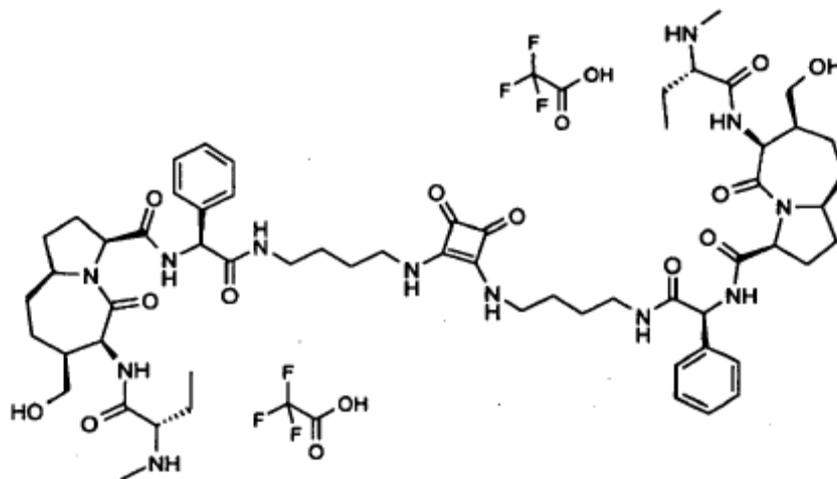
análisis. Rendimiento 92% (19 mg, MW 1587.83, 0.012 mmol) de 29a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -121 (c 0.95, CH₃OH); ¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ : 7.52 (s, 2H), 7.35 (s, 10H), 7.25-7.05 (m, 10H), 6.64 (s, 4H), 6.06 (s, 2H), 4.56 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 4.37 (bs, 2H), 4.14 (s, 4H), 4.045 (bs, 4H), 3.89 (bs, 2H), 3.76 (bs, 2H), 3.03 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 2.95 (t, J = 11.2 Hz, 2H), 2.49 (s, 6H), 2.15 (bs, 4H), 2.12-1.90 (m, 8H), 1.90-1.70 (m, 8H), 1.70-1.65 (m, 2H), 1.50 (bs, 8H), 1.13 (bs, 4H), 0.84 (t, J = 7.2 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, D₂O): δ : 172.5, 168.9, 168.7, 147.5, 139.3, 139.1, 130.1, 129.9, 129.8, 129.3, 128.9, 128.2, 128.1, 127.0, 132.2, 62.5, 61.7, 58.0, 54.1, 51.4, 50.2, 50.1, 47.8, 35.2, 33.7, 32.2, 31.5, 29.7, 28.7, 28.4, 27.9, 27.4, 23.4, 8.1. ESI-MS: m/z 1360.0 [M+H]⁺, 680.6 [M+2H]²⁺.



30a

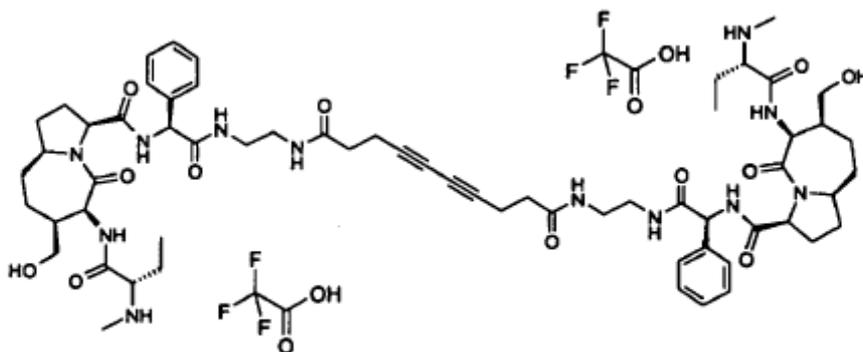
30a, desde 27a (93 mg, 0.074 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 70% de H₂O (0.2% de TFA) y 30% de CH₃CN (0.2% de TFA) a 30% de H₂O (0.2% de TFA) y 70% de CH₃CN (0.2% de TFA), velocidad de flujo 12 mL/min., 20 min. de

análisis. Rendimiento 58% (55 mg, MW 1285.35, 0.043 mmol) de 30a puro. Caracterización analítica: $[\alpha]_D^{20}$ -94 (c 1.44, CH₃OH); ¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ: 7.41 (m, 10H), 5.29 (s, 2H), 4.70 (m, 2H), 4.53 (dd, J = 8.0, 4.4 Hz, 2H), 4.05 (m, 2H), 3.88 (dd, J = 7.2, 5.2 Hz, 2H), 3.61 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.05 (m, 2H), 2.68 (s, 6H), 2.25 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 2.05 (m, 4H), 1.95 (m, 6H), 1.85 (m, 3H), 1.75 (m, 4H), 1.60 (m, 2H), 1.35 (m, 4H), 1.02 (bs, 8H), 0.96 (t, J = 8.0 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, D₂O): δ: 173.2, 171.6, 171.2, 168.3, 136.1, 129.2, 129.0, 127.3, 63.2, 62.8, 61.8, 58.8, 58.2, 54.5, 39.3, 39.0, 32.4, 31.5, 31.4, 29.5, 28.1, 27.8, 25.6, 23.4, 8.2. ESI-MS: m/z 1057.9 [M+H]⁺.



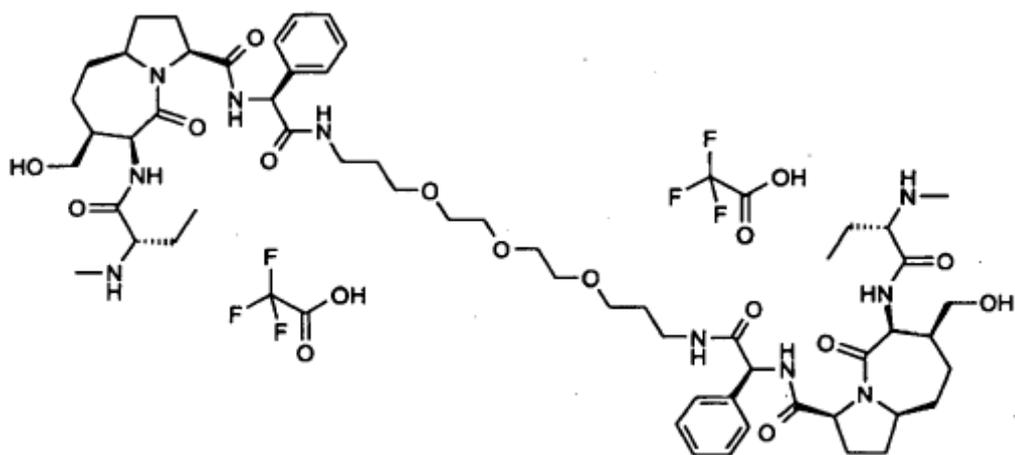
30b

30b, de 27b (22 mg, 0.016 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 80% de H₂O (0.1% de TFA) y 20% de CH₃CN (0.1% de TFA) a 25% de H₂O (0.1% de TFA) y 75% de CH₃CN (0.1% de TFA), velocidad de flujo 12 mL/min., 25 min. de análisis. Rendimiento 69% (16 mg, MW 1395.43, 0.011 mmol) de 30b puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (600 MHz, D₂O): δ: 7.32-7.22 (m, 10H), 5.18 (s, 2H), 4.61 (d, J = 10.2 Hz, 2H), 4.43 (dd, J = 8.4, 4.8 Hz, 2H), 3.95 (m, 2H), 3.81 (dd, J = 7.2, 5.4 Hz, 2H), 3.53 (dd, J = 4.2, 1.8 Hz, 4H), 3.55-3.25 (m, 6H), 3.02 (m, 2H), 2.61 (s, 6H), 2.18 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.95-1.80 (m, 10H), 1.80-1.60 (m, 6H), 1.48 (m, 2H), 1.35 (m, 4H), 1.25 (m, 4H), 0.88 (t, J = 7.8 Hz, 6H); ¹³C-RMN (125 MHz, D₂O): δ: 173.2, 171.8, 171.1, 168.2, 135.8, 129.0, 128.8, 127.2, 63.1, 62.6, 61.7, 58.7, 58.3, 54.3, 42.8, 38.9, 38.8, 32.4, 31.4, 29.4, 27.7, 25.3, 23.4, 8.1. ESI-MS: m/z 1167.6 [M+H]⁺.



30c

30c, de 27c (57 mg, 0.041 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 80% de H₂O (0.1% de TFA) y 20% de CH₃CN (0.1% de TFA) a 25% de H₂O (0.1% de TFA) y 75% de CH₃CN (0.1% de TFA), velocidad de flujo 12 mL/min., 25 min. de análisis. Rendimiento 91% (53 mg, MW 1419.45, 0.037 mmol) de 30c puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (600 MHz, D₂O): δ: 7.36-7.32 (m, 10H), 5.22 (s, 2H), 4.62 (d, J = 10.2 Hz, 2H), 4.45 (dd, J = 7.84, 4.8 Hz, 2H), 3.97 (m, 2H), 3.81 (dd, J = 7.2, 5.4 Hz, 2H), 3.53 (dd, J = 4.2, 1.8 Hz, 4H), 3.29 (m, 2H), 3.20 (m, 6H), 2.61 (s, 6H), 2.31 (dd, J = 13.8, 6.6 Hz, 4H), 2.25-2.05 (m, 8H), 1.97 (m, 4H), 1.95-1.80 (m, 6H), 1.80-1.65 (m, 6H), 1.52 (m, 2H), 0.88 (t, J = 7.8 Hz, 6H); ¹³C-RMN (125 MHz, D₂O): δ: 174.4, 173.3, 172.1, 171.1, 168.2, 135.8, 129.2, 129.0, 127.3, 76.7, 65.5, 63.1, 62.7, 58.7, 58.2, 54.4, 38.9, 38.8, 38.3, 33.9, 32.4, 31.4, 29.4, 27.7, 23.4, 15.2, 8.1. ESI-MS: m/z 1191.6 [M+H]⁺, 1213.5 [M+Na]⁺.

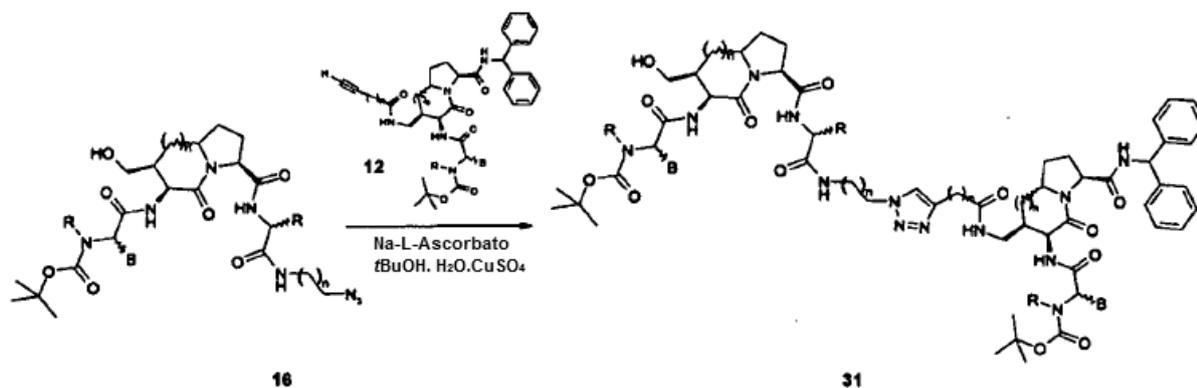
**30d**

30d, de 27d (50 mg, 0.038 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 80% de H₂O (0.1 % de TFA) y 20% de CH₃CN (0.1 % de TFA) a 25% de H₂O (0.1 % de TFA) y 75% de CH₃CN (0.1% de TFA), velocidad de flujo 12 mL/min., 25 min. de análisis. Rendimiento 97% (50 mg, MW 1361.41, 0.037 mmol) de 30d puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (600 MHz, D₂O): δ: 7.36-7.33 (m, 10H), 5.22 (s, 2H), 4.62 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 4.46 (dd, J = 8.4, 4.8 Hz, 2H), 3.97 (m, 2H), 3.81 (dd, J = 7.2, 5.4 Hz, 2H), 3.54 (dd, J = 4.2, 1.8 Hz, 4H), 3.45 (m, 4H), 3.38 (m, 4H), 3.26 (m, 6H), 3.10 (m, 2H), 2.61 (s, 6H), 2.20 (m, 2H), 2.08 (m, 2H), 1.97 (m, 4H), 1.90-1.80 (m, 6H), 1.80-1.75 (m, 2H), 1.75-1.55 (m, 8H), 1.55-1.45 (m, 2H), 0.89 (t, J = 7.8 Hz, 6H); ¹³C-RMN (125 MHz, D₂O): δ: 173.2, 171.7, 171.1, 168.2, 135.9, 129.2, 129.0, 127.3, 69.4, 68.0, 63.1, 62.7, 61.7, 58.7, 58.2, 54.4, 38.9, 36.3, 32.4, 31.5, 31.4, 29.4, 28.0, 27.7, 23.4, 8.1. ESI-MS: m/z 1133.6 [M+H]⁺.

Ejemplo 4

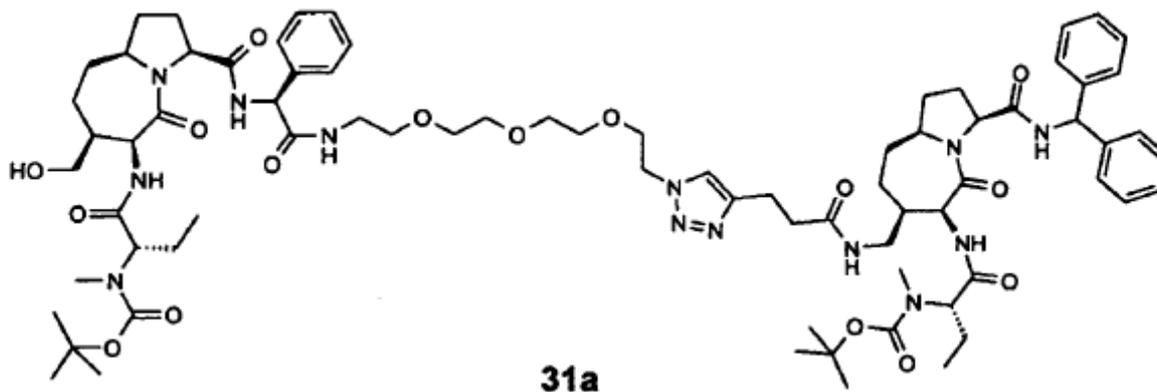
Síntesis de miméticos de Smac heterodiméricos con sistemas lactámicos bicíclicos [4.3.0] y [5.3.0]

4.1 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 31

**Esquema 9**

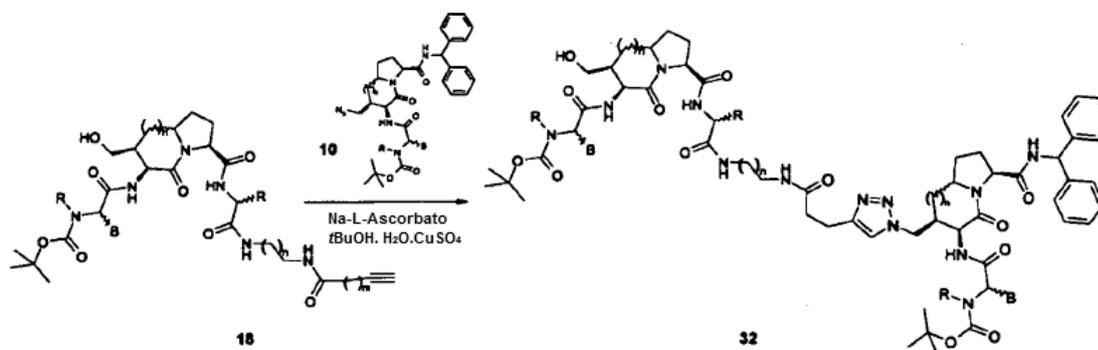
Se adicionaron secuencialmente una solución acuosa 0.9 M de ascorbato de sodio (0.55 equiv) y una solución acuosa 0.3 M de Cu(OAc)₂ (0.25 equiv) a una solución agitada de los compuestos 16 (1.0 equiv) y compuestos 12 (1.0 equiv) en una mezcla 1:1 de H₂O/tBuOH (concentración final de 16 ~ 0.05 M). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. Los residuos se purificaron por cromatografía instantánea Biotage™.

El compuesto 31a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 16a (44 mg, 0.057 mmol) y 12a (38 mg, 0.057 mmol).

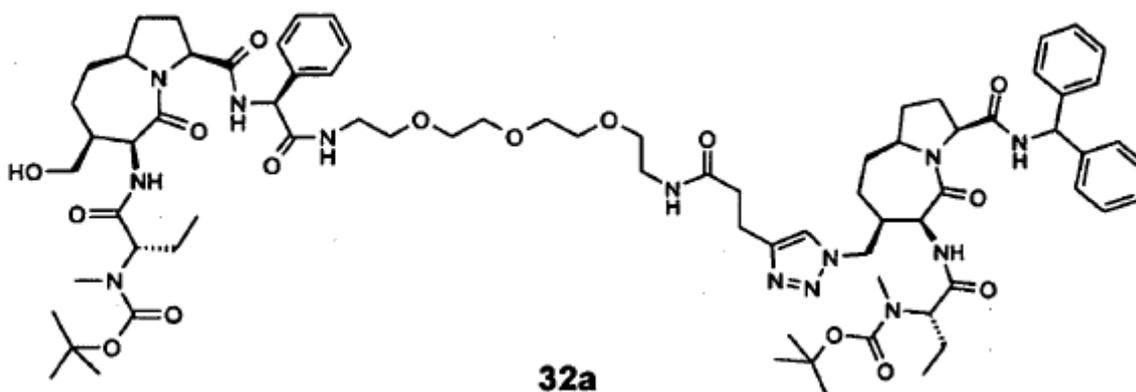


31a. Condiciones eluyente Biotage™: a partir de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 61% (51 mg, MW 1460.79, 0.035 mmol) de 31a puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (40031a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 61 % (51 mg, MW 1460.79, 0.035 mmol) de 31a puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.95 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.51 (m, 2H), 7.35-7.20 (m, 15H), 7.16 (d, J = 9.2Hz, 2H), 6.75 (bs, 1H), 6.22 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.43 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.72 (dd, J = 16, 7.6 Hz, 2H), 4.48 (m, 6H), 3.82 (m, 4H), 3.70-3.30 (m, 15H), 3.07 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.85 (m, 6H), 2.67 (m, 3H), 2.48 (m, 1H), 2.25 (m, 3H), 2.05 (m, 1H), 2.00-1.80 (m, 5H), 1.80-1.65 (m, 7H), 1.52 (s, 9H), 1.48 (s, 9H), 1.35 (m, 1H), 1.25 (m, 2H), 1.10 (m, 1H), 0.94 (t, J = 7.2 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 173.1, 171.4, 169.6, 169.4, 146.1, 142.1, 138.4, 128.8, 128.7, 128.6, 127.3, 127.2, 127.1, 123.0, 70.5, 70.4, 70.2, 69.5, 69.3, 64.3, 61.4, 61.1, 58.8, 57.2, 56.8, 53.9, 53.7, 50.4, 41.7, 39.6, 35.5, 34.5, 33.2, 33.0, 31.2, 28.4, 28.3, 26.4, 25.6, 21.6, 21.3, 10.7. ESI-MS: m/z 1461.7 [M+H]⁺, 1482.7 [M+Na]⁺.

4.2 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 32

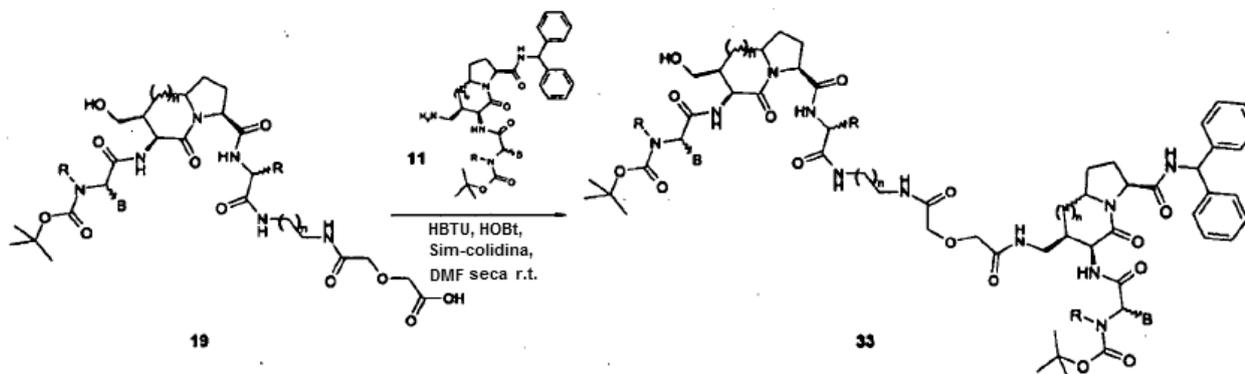


- 15 Una solución acuosa 0.9 M de ascorbato de sodio (0.55 equiv) y una solución acuosa 0.3 M de Cu(OAc)₂ (0.25 equiv) se adicionaron secuencialmente a una solución agitada de los compuestos 18 (1.0 equiv) y compuestos 10 (1.0 equiv) en una mezcla 1:1 de H₂O/tBuOH (concentración final de 18 ~ 0.05 M). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. Los residuos se purificaron por cromatografía instantánea Biotage™.
- 20 El compuesto 32a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 18a (37 mg, 0.045 mmol) y 10a (29 mg, 0.045 mmol).



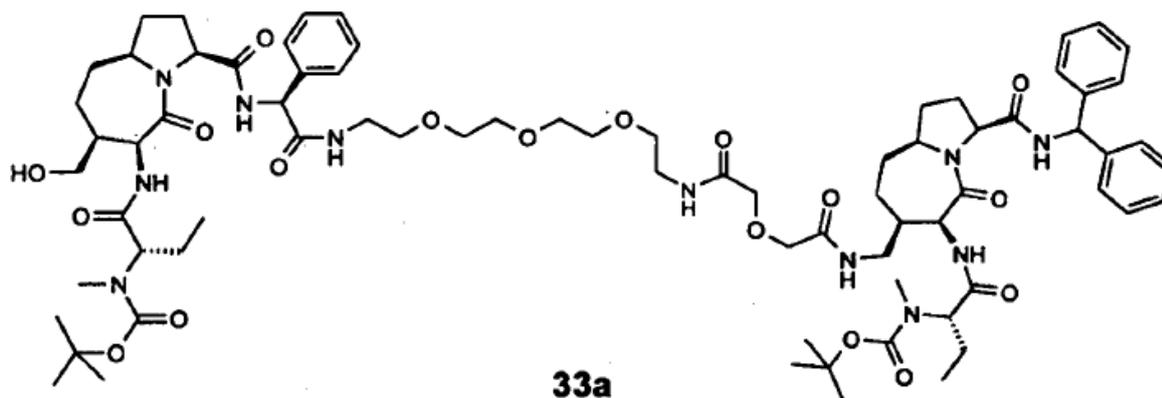
32a. condiciones de eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 80% (52 mg, MW 1460.79, 0.036 mmol) de 32a puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.89 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.35-7.12 (m, 15H), 7.08 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.85 (bs, 1H), 6.55 (bs, 1H), 6.10 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.36 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.56 (m, 3H), 4.38 (m, 4H), 4.10 (bs, 1H), 3.75 (m, 2H), 3.60-3.20 (m, 18H), 2.97 (bs, 2H), 2.75 (s, 6H), 2.55 (m, 3H), 2.32 (m, 1H), 2.15 (m, 3H), 1.95-1.60 (m, 13H), 1.43 (s, 9H), 1.38 (s, 9H); 1.35-1.15 (m, 3H), 1.02 (m, 1H), 0.85 (t, J = 7.2 Hz, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 171.9, 171.4, 170.7, 169.6, 141.8, 141.2, 138.4, 128.8, 128.7, 128.1, 127.6, 127.5, 127.3, 127.2, 127.1, 70.4, 70.1, 69.9, 69.8, 69.5, 64.3, 61.4, 61.3, 58.8, 57.2, 56.9, 53.9, 53.6, 41.6, 40.4, 39.6, 39.2, 34.4, 33.6, 33.3, 33.0, 31.1, 28.4, 28.3, 26.5, 25.9, 21.7, 21.2, 10.7. ESI-MS: m/z 681.2 [M+H]²⁺, 1461.0 [M+H]⁺, 1483.0 [M+Na]⁺.

4.3 Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 33



Se adicionaron secuencialmente HOBt (1.2 equiv), HBTU (1.2 equiv) y sim-colidina (4.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 19 (1.0 equiv) y compuestos 11 (1.25 equiv) en DMF seca (concentración ≈0.10 M para 19) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó agitando y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con ácido cítrico acuoso al 5%, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y a continuación el solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea Biotage™.

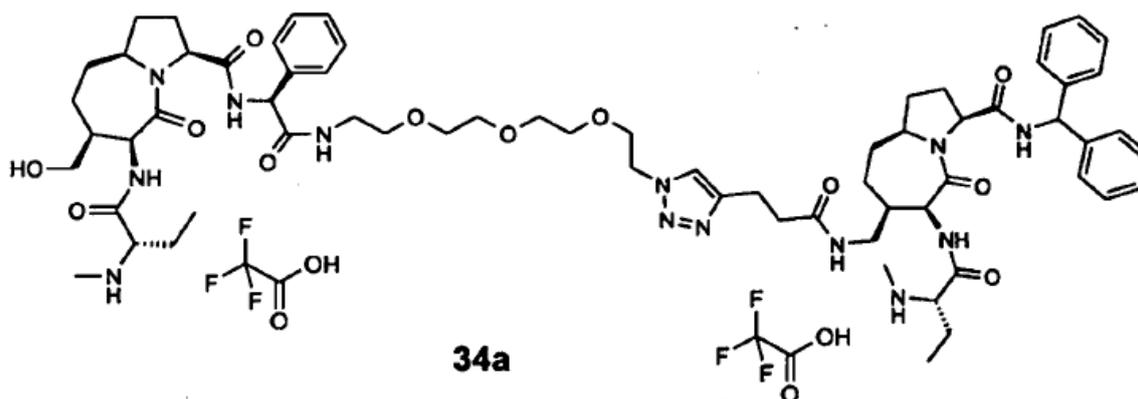
El compuesto 33a se sintetizó por el procedimiento general descrito anteriormente a partir del compuesto 19a (54 mg, 0.063 mmol) y 11a (52 mg, 0.08 mmol).



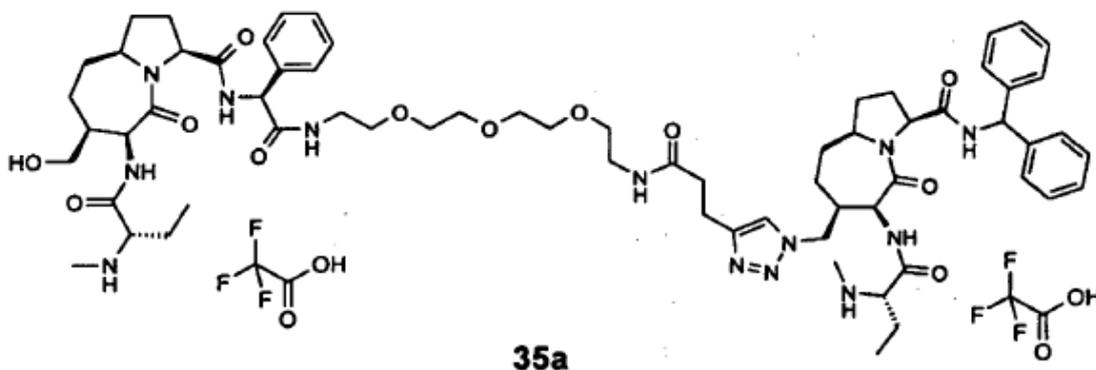
33a. Condiciones eluyente Biotage™: de 1% de MeOH y 99% de CH₂Cl₂ a 10% de MeOH y 90% de CH₂Cl₂. Rendimiento 67% (61 mg, MW 1457.77, 0.042 mmol) de 33a puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ: 7.87 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.35-7.10 (m, 15H), 6.72 (bs, 1H), 6.15 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.35 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.64 (dd, J = 19.2, 7.2 Hz, 2H), 4.40 (m, 4H), 3.95 (m, 4H), 3.72 (m, 3H), 3.6-3.20 (m, 18H), 2.79 (s, 3H), 2.75 (s, 3H), 2.52 (m, 2H), 2.35 (m, 1H), 2.18 (m, 2H), 1.90-1.55 (m, 14H), 1.43 (s, 9H), 1.41 (s, 9H), 1.30-1.10 (m, 4H), 0.85 (m, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ: 172.7, 171.3, 169.6, 168.9, 168.9, 142.2, 138.4, 128.8, 128.6, 128.5, 128.1, 127.4, 127.3, 127.2, 70.7, 70.5, 70.4, 70.3, 70.1, 69.6, 69.5, 64.3, 61.7, 61.4, 61.3, 60.5, 58.9, 58.8, 57.2, 56.8, 53.9, 53.5, 41.6, 40.0, 39.7, 39.6, 38.7, 34.4, 34.3, 33.1, 33.0, 31.1, 28.4, 28.3, 26.4, 25.7, 21.7, 21.3, 10.7, 10.6. ESI-MS: m/z 1452.9 [M+H]⁺, 1475.0 [M+Na]⁺.

4.4 Procedimiento general para la desprotección de Boc de los compuestos 31, 32 y 33

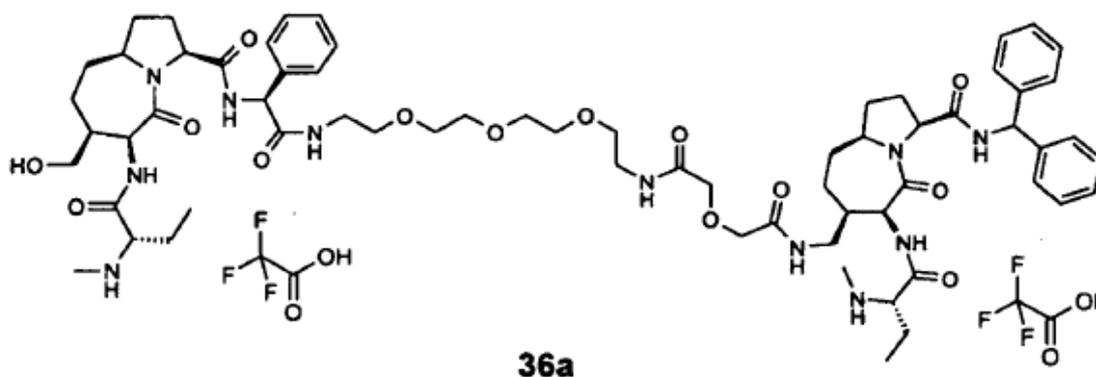
Se adicionó TFA (50.0 equiv) a una solución agitada de los compuestos 31, 32, 33 (1.0 equiv) en CH₂Cl₂ (concentración ≈0.10 M). Las mezclas de reacción se dejaron agitar a temperatura ambiente y se controló por LC-MS. Después de la terminación de la reacción la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se trató con agua y se agitó vigorosamente para hidrolizar cualquier éster trifluoroacetato no deseado, a continuación, la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una HPLC semipreparativa de columna de fase reversa C₁₈ y a continuación se liofilizó.



34a, de 31a (0.035 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 40% de H₂O (0.1% de TFA) y 60% de CH₃CN (0.1% de TFA) a 25% de H₂O (0.1% de TFA) y 75% de CH₃CN (0.1% de TFA), velocidad de flujo 15 mL/min., 22 min. de análisis. Rendimiento 90% (47 mg, MW 1488.60, 0.032 mmol) de 34a puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ: 8.77 (s, 1H), 7.39-7.29 (m, 15H), 6.04 (s, 1H), 5.33 (s, 1H), 4.67 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 4.60-4.40 (m, 5H), 4.00 (m, 2H), 3.90 (m, 2H), 3.79 (m, 2H), 3.58 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 3.55-3.8 (m, 11H), 3.35-3.20 (m, 2H), 2.96 (m, 3H), 2.67 (s, 6H), 2.57 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.23 (m, 2H), 2.12 (m, 2H), 2.07-1.85 (m, 8H), 1.85-1.62 (m, 7H), 1.55 (m, 1H), 1.50-1.30 (m, 2H), 0.95 (m, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, D₂O): δ: 174.8, 173.2, 172.7, 171.8, 171.1, 169.9, 168.4, 168.2, 146.0, 141.0, 140.8, 135.9, 129.2, 129.0, 128.8, 127.8, 127.3, 127.1, 123.9, 69.5, 69.4, 68.7, 68.6, 63.2, 62.7, 62.6, 61.7, 58.7, 58.3, 58.0, 57.6, 54.5, 54.4, 50.0, 40.7, 39.2, 38.9, 37.2, 35.1, 32.4, 31.5, 31.4, 30.1, 29.4, 27.9, 27.7, 23.4, 21.0, 8.2. ESI-MS: m/z 631.3 [M+H]²⁺, 1260.8 [M+H]⁺, 1282.7 [M+Na]⁺.



35a, desde 32a (0.022 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 40% de H₂O (0.1 % de TFA) y 60% de CH₃CN (0.1% de TFA) a 25% de H₂O (0.1% de TFA) y 75% de CH₃CN (0.1% de TFA), velocidad de flujo 15 mL/min., 22 min. de análisis. Rendimiento 86% (28 mg, MW 1488.60, 0.019 mmol) de 35a puro. Caracterización analítica: ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ: 7.78 (s, 1H), 7.37-7.28 (m, 15H), 6.04 (s, 1H), 5.34 (s, 1H), 4.78 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.53 (m, 3H), 4.36 (m, 1H), 4.03 (m, 2H), 3.88 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.60-3.25 (m, 16H), 3.28 (m, 3H), 2.94 (t, J = 14.4 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.58 (s, 3H), 2.56 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.35-2.05 (m, 5H), 2.05-1.88 (m, 9H), 1.85-1.65 (m, 6H), 1.62-1.46 (m, 3H), 0.95 (m, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, D₂O): δ: 174.9, 173.2, 172.7, 171.1, 169.5, 168.7, 146.5, 141.0, 140.9, 136.0, 129.2, 129.0, 128.9, 127.8, 127.4, 127.3, 127.1, 69.6, 69.4, 68.8, 68.7, 63.2, 62.8, 62.6, 61.9, 61.8, 58.7, 58.2, 58.0, 57.6, 54.5, 54.4, 52.0, 39.3, 39.0, 38.1, 35.0, 32.4, 32.3, 31.8, 31.5, 27.9, 27.7, 23.5, 23.4, 20.9, 8.2, 8.1. ESI-MS: m/z 631.1 [M+H]²⁺, 1260.8 [M+H]⁺, 1282.7 [M+Na]⁺.



36a, de 33a (0.042 mmol). Condiciones eluyente HPLC: de 40% de H₂O (0.1% de TFA) y 60% de CH₃CN (0.1% de TFA) a 25% de H₂O (0.1% de TFA) y 75% de CH₃CN (0.1% de TFA), velocidad de flujo 15 mL/min., 22 min. de análisis. Rendimiento 88% (55 mg, MW 1480.57, 0.037 mmol) de puro 36a. Caracterización analítica: ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ: 7.41-7.30 (m, 15H), 6.06 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.67 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.55 (m, 2H), 4.10 (d, J = 5.2 Hz, 4H), 4.05 (m, 2H), 3.93 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 3.89 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 2.70 (s, 3H), 2.69 (s, 3H), 2.25 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 2.08-1.68 (m, 17H), 1.65-1.50 (m, 3H), 0.97 (m, 6H); ¹³C-RMN (100 MHz, D₂O): δ: 172.8, 171.8, 171.7, 171.1, 170.1, 168.5, 168.3, 141.0, 140.9, 129.2, 129.0, 128.9, 127.8, 127.4, 127.3, 127.2, 70.0, 69.9, 69.6, 69.4, 68.8, 68.7, 63.2, 62.8, 62.7, 61.9, 61.8, 58.8, 58.5, 58.0, 57.7, 54.6, 54.5, 40.7, 39.3, 39.0, 38.6, 37.4, 32.4, 31.6, 31.5, 30.5, 29.5, 29.0, 27.9, 27.7, 23.4, 8.2, 8.1. ESI-MS: m/z 627.1 [M+H]²⁺, 1252.8 [M+H]⁺, 1274.8 [M+Na]⁺.

Ejemplo 5

Ensayo de polarización de la fluorescencia

5.1 Clonación, expresión y purificación de XIAP BIR3 humano

Un vector pET28 (Novagen) con el ADNc que codifica para el dominio XIAP BIR3 humano desde el residuo 241 a 356 se utilizó para transformar la cepa de *Escherichia coli* BL21. La expresión de proteínas se indujo mediante la adición de isopropil-β-D-tiogalactopiranosido (IPTG) a una concentración final de 1 mM y acetato de zinc 100 μM (ZnAc) durante 3 horas a 37°C. Las bacterias cultivadas en medio LB más kanamicina se recogieron, se resuspendieron en una solución reguladora que contenía Tris HCl 50 mM pH 7.5, NaCl 200 mM, ZnAc 50 μM y los inhibidores de la proteasa, se trató

con 100 µg/mL de lisozima durante 30 minutos en hielo y después se lisaron por sonicación. Después de la eliminación de los desechos mediante centrifugación, la proteína recombinante se purificó utilizando Ni-NTA (His-trap Ffcrude, Ge-Healthcare) seguido de filtración en gel (Superdex 200, Ge-Healthcare). BIR3-His-tag se eluyó con imidazol 250 mM y posteriormente se almacenó en Tris 20 mM pH 7.5, NaCl 200 mM, ZnAc 50 µM, y ditiotreitól 10 mM.

5 5.2 experimento de unión de saturación

Los experimentos de polarización fluorescente se realizaron en microplacas de 96 pozos de fondo plano, negras (PBI) y la polarización fluorescente se midió mediante lector de placas Ultra (Tecan). El péptido Smac marcado fluorescente [AbuRPF-K(5-Fam)-NH₂] (FITC-SMAC) a una concentración final de 5 nM y una concentración creciente de BIR3-His-tag de 0 a 20 µM se adicionaron a una solución reguladora de ensayo. El volumen final en cada pozo fue de 120 µL, con la solución reguladora de ensayo que consiste en fosfato de potasio 100 mM, pH 7.5; 100 µg/mL de bovina γ-globulina; azida sódica 0.02%. Después de un 15 min agitando, la placa se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente. La polarización de fluorescencia se midió a una excitación y emisión de longitudes de onda de 485 nm y 530 nm, respectivamente. Los gráficos de unión en equilibrio se construyeron mediante el trazado de unidades de milipolarización (mP) como función de la concentración XIAP BIR3. Los datos se analizaron utilizando software Prism 4.0 (GraphPad Software).

5.3 Experimentos de unión competitiva

Se evaluaron los compuestos mímica de SMAC por su capacidad para desplazar la sonda FITC-SMAC de la proteína recombinante. 5 mM de FITC-SMAC, XIAP BIR3-His-tag y diluciones en serie de los compuestos mímica de SMAC (concentraciones que varían desde 4 µM a 0.4 nM) se adicionaron a cada pozo para un volumen final de 120 µL en la solución reguladora de ensayo descrito anteriormente. La concentración de BIR3-His-tag utilizado fue 60 nM, capaz de unirse a más de 50% del ligando en el experimento de unión de saturación. Después de haber sido mezclado durante 15 minutos en un agitador y se incubaron 3 horas a temperatura ambiente, la polarización fluorescente se midió mediante un lector de placas Ultra (Tecan). Todas las mímicas de SMAC y el péptido fluorescente fueron almacenados en DMSO.

25 5.4 Afinidades de unión para el dominio BIR3 de XIAP de miméticos de Smac homo- y heterodiméricas con sistemas lactámicos bicíclicos [4.3.0] y [5.3.0]

Las IC₅₀ de algunos ejemplos se reportan en la Tabla a continuación, como un valor medio de tres mediciones independientes, junto con su desviación estándar.

Compuesto No.	IC ₅₀ (av) [nM]	RSD%
28a	25.4	11.3
29a	58.3	8.3
30a	29.9	12.8
30b	26.7	16.0
30c	24.5	11.7
30d	26.0	13.8
34a	31.1	30.5
35a	29.7	29.0
36a	31.2	29.1
SM164a	42.0	16.0
^a de J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 15279		

30 Los valores de los compuestos ensayados muestran claramente una alta potencia (nanomolar) en el ensayo in vitro correspondiente, con indicación de las relaciones estructura-actividad entre congéneres.

5.5 Clonación, expresión y purificación de enlazante BIR2-BIR3 de XIAP humano

Un vector pET28 (Novagen) con el ADNc que codifica para XIAP humana desde el residuo 124 a 356 (enlazante-BIR2-BIR3), que codifica para los dominios BIR2 y BIR3 y la región de enlazante anterior BIR2, se utilizó para transformar la cepa de *Escherichia coli* BL21. La expresión de proteínas se indujo mediante la adición de isopropil- β -D-tiogalactopiranosido (IPTG) a una concentración final de 1 mM y acetato de zinc 100 μ M (ZnAc) durante 3 horas a 37°C. Las bacterias cultivadas en medio LB más kanamicina se recogieron, se resuspendieron en una solución reguladora que contenía Tris HCl 50 mM pH 7.5, NaCl 200 mM, ZnAc 50 μ M e inhibidores de la proteasa, se trató con 100 μ g/ml de lisozima durante 30 minutos en hielo y después se lisaron por sonicación. Después de la eliminación de los desechos mediante centrifugación, la proteína recombinante se purificó utilizando Ni-NTA (Su-trampa Ffcrude, Ge-Healthcare) seguido de filtración en gel (Superdex 200, Ge-Healthcare). El enlazante-BIR2-BIR3-His-tag se eluyó con imidazol 250 mM y posteriormente almacenada en Tris 20 mM pH 7.5, NaCl 200 mM, ZnAc 50 μ M, y ditiotreitól 10 mM.

5.6 Experimento de unión de saturación - enlazante-BIR2-BIR3 de XIAP humana

Se realizaron experimentos de polarización fluorescente en microplacas de 96 pozos de fondo plano, negras (PBI) y la polarización fluorescente se midió mediante lector de placas Ultra (Tecan). El péptido Smac dimérico marcado fluorescente SMAC-1F (Nikolovska-Coleska et al, *Analyt Biochem* 374:87, 2008) a una concentración final de 1 nM y se adicionó una concentración creciente de enlazante-BIR2-BIR3-His-tag de 0 a 2 μ M a una solución reguladora de ensayo. El volumen final en cada pozo fue de 120 μ l, con la solución reguladora de ensayo que consiste en fosfato de potasio 100 mM, pH 7.5; 100 μ g/ml de bovina γ -globulina; azida sódica al 0.02%. Después de 15 minutos de agitar, la placa se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente. La polarización de fluorescencia se midió a unas longitudes de onda de excitación y emisión de 485 nm y 530 nm, respectivamente. Los gráficos de unión en equilibrio se construyeron mediante el trazado de unidades de milipolarización (mP) como función de la concentración del enlazante-BIR2-BIR3 de XIAP. Los datos se analizaron utilizando software Prism 4.0 (Software GraphPad).

5.7 experimentos de unión competitiva - enlazante-BIR2-BIR3 de XIAP humana

Se evaluaron compuestos mímica de SMAC por su capacidad para desplazar la sonda SMAC-1F de la proteína recombinante. 1 nM de SMAC-1F, 3 nM de enlazante-BIR2-BIR3-His-tag de XIAP y diluciones en serie de los compuestos mímica de SMAC (concentraciones que varían desde 2 μ M a 0.2 nM) se adicionaron a cada pozo para un volumen final de 120 μ l en la solución reguladora de ensayo descrito anteriormente. Después de haber sido mezclados durante 15 minutos en un agitador e incubados 3 horas a temperatura ambiente, la polarización fluorescente se midió mediante lector de placas Ultra (Tecan). Todos mímica de SMAC y péptido fluorescente fueron almacenados en DMSO.

5.8 Afinidades de unión para dominios del enlazante-BIR2-BIR3 de XIAP de miméticos de Smac homo- y heterodiméricas con sistemas lactámicos bicíclicos [4.3.0] y [5.3.0]

Las IC₅₀ de algunos ejemplos se reportan en la Tabla a continuación, como un valor medio desde tres mediciones independientes, junto con su desviación estándar.

Compuesto No.	IC ₅₀ (av) [nM]	RSD%
28a	0.8	25.0
29a	4.4	22.0
30a	0.3	22.0
30b	0.8	17.8
30c	0.1	17.5
30d	0.2	18.3
34a	0.11	24.1
35a	0.13	25.7

36a	0.08	26.0
SM164a	0.76	24.7
^a de J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 15279		

Los valores de los compuestos ensayados muestran claramente muy alta potencia (nanomolar) en el ensayo *in vitro* correspondiente, con una indicación de las relaciones estructura-actividad entre congéneres.

5.9 Clonación, expresión y purificación de dominios cIAP1 BIR3 y cIAP2 BIR3 humanos

5 La secuencia que codifica para los residuos 245-357 (numeración homología estructural XIAP-BIR3) que constituyen los dominios cIAP1- y cIAP2-BIR3 se clonaron en pET21 (b) vector (Novagen) con un 6xHis-tag C-terminal. Los plásmidos se utilizaron para transformar cepa *Escherichia coli* BL21 (DE3). Las proteínas recombinantes se purificaron utilizando Ni-NTA (Hisrap FFcrude, Ge-Healthcare), seguido de filtración en gel (Superdex 200, Ge-Healthcare). Las proteínas recombinantes se eluyeron en Tris 20 mM pH 8.0, NaCl 250 mM y DTT 10 mM. Las proteínas divididas en partes alícuotas se conservaron a -80°C.

5.10 Afinidades de unión para el dominio BIR3 de cIAP1 y cIAP2 de miméticos de Smac homo- y heterodiméricas con sistemas lactámicos bicíclicos [4.3.0] y [5.3.0]

15 El péptido Smac marcado fluorescentemente (AbuRPF-K (5-FAM) -NH₂, concentración final de 2 nM), y concentraciones crecientes de cIAP1- y cIAP2-BIR3 de 0 a 20 μM, se adicionaron a una solución reguladora de ensayo que consiste en fosfato de potasio 100 mM, pH 7.5, 100 μg/ml de bovina γ-globulina, azida de sodio al 0.02%. Después de la agitación (15 min) la placa se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente. La polarización de fluorescencia se midió en un lector de placas Ultra (Tecan), en longitudes de onda de excitación y emisión de 485 nm y 530 nm, respectivamente. Las curvas de unión de equilibrio se elaboraron mediante el trazado de los datos experimentales (unidades de milipolarización, mP) como una función de la concentración recombinante y los valores de K_d se evaluaron como 4,8 ± 0.6 nM para cIAP1-BIR3, y 23.6 ± 1.6 nM para los experimentos cIAP2-BIR3. All se realizaron en microplacas de 96 pozos de fondo plano, negras (Greiner bio-one).

25 Se evaluaron miméticos de Smac 4-sustituido azabiciclo [5.3.0] alcanos para su capacidad para desplazar la sonda fluorescente de la proteína recombinante. La sonda fluorescente (2 nM), cIAP1-BIR3 (10 nM) o cIAP2 (25 nM) y diluciones en serie de miméticos de Smac 4-sustituido azabiciclo [5.3.0] alcanos (concentración que varía de 1 μM a 0.1 nM) se adicionaron a cada pozo, hasta un volumen final de 120 μl en la solución reguladora de ensayo descrita anteriormente. Después de 15 minutos de mezcla en un agitador, y 3 horas de incubación a temperatura ambiente, se midió la polarización fluorescente en el lector de placas Ultra (Tecan).

Las IC₅₀ de algunos ejemplos se reportan en la Tabla a continuación, como un valor medio a partir de tres mediciones independientes, junto con su desviación estándar.

30

Compuesto No.	cIAP1		cIAP2	
	IC ₅₀ (av) [nM]	RSD%	IC ₅₀ (av) [nM]	RSD%
28a	5.4	12.2	2.5	17.6
29a	17.6	12.2	12.1	18.4
30a	1.9	12.0	1.8	21.2
30b	2.6	11.0	2.9	16.8
30c	1.1	18.1	1.1	5.3
30d	1.5	17.0	2.2	6.0

Compuesto No.	cIAP1		cIAP2	
	IC ₅₀ (av) [nM]	RSD%	IC ₅₀ (av) [nM]	RSD%
34a	3.2	10.3	0.3	24.5
35a	5.0	16.8	0.4	24.2
36a	1.5	4.9	0.2	23.7
SM164 ^a	0.46	23.0	0.51	30.0
^a de J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 15279				

Los valores de los compuestos ensayados muestran claramente muy alta potencia (nanomolar) en el ensayo *in vitro* correspondiente, con una indicación de las relaciones estructura-actividad entre congéneres.

Ejemplo 6

5 Ensayos de citotoxicidad celular

6.1 Citotoxicidad - Células y Tratamientos

10 Las líneas celulares humanas, MDA-MB-231 (adenocarcinoma epitelial de mama), HL-60 (células promieloblasto) y PC-3 (células de adenocarcinoma de próstata) fueron adquiridos del Istituto Zooprofilattico di Brescia (www.bs.izs.it). Los reactivos para cultivo celular se adquirieron de Sigma, a menos que se indique lo contrario. Las células se cultivaron en placas de Petri de plástico (Falcon) en medio RPMI 1640 suplementado con L-glutamina 2 mM, penicilina (100 U/ml)/estreptomicina (100 µg/ml), 10% de suero bovino fetal. Se utilizó una relación de sub-cultivo de 1:4. Las células se mantuvieron a 37°C en una atmósfera de 95% de aire y 5% de CO₂.

6.2 Citotoxicidad - Independiente - Protocolos Experimentales

15 Las células se sembraron en placas de cultivo celular de fondo plano de 96 pozos a una densidad de 5000 células/pozo en 100 µl de medio de cultivo. Las células HL-60 fueron estimuladas inmediatamente con los compuestos indicados durante 96 horas en la incubadora. Se permite que MDA-MB-231 y las células PC-3 se adhieran durante 24 horas, antes de exponerse a los compuestos durante 96 horas en la incubadora. Las células se expusieron a las siguientes concentraciones de los compuestos: 50 nM, 100 nM, 200 nM, 500 nM, 1 µM, 5 µM, 10 µM, 50 µM y 100 µM. Cada punto se realizó por triplicado. El efecto inhibitor del crecimiento celular de nuestros compuestos se evaluó utilizando el ensayo de MTT (Sigma). Después de 96 horas de tratamiento, se adicionaron en cada pozo 10 µl de solución de reactivo MTT (5 mg de MTT de polvo/mL diluido en solución salina reguladora de sal fosfato) y se dejó reaccionar durante 3 horas en la incubadora. Después de 3 horas de células se solubilizaron en solución reguladora de lisis (SDS al 10%/HCl al 0.1% en agua, 100 µl para cada pozo) durante 24 horas a 37°C. Por último, se midió la absorbancia a 570 nm utilizando un lector de multiplaca. Los valores de absorbancia se recogieron y los valores de IC₅₀ se determinaron utilizando software GraphPad Prism5. Los experimentos se repitieron dos veces.

6.3 Citotoxicidad de miméticos de Smac homo- y heterodiméricos - Independiente - Resultados

30 Después de 96 horas de tratamiento, se adicionaron 10 µl de solución de reactivo MTT (5 mg de MTT de polvo/ml diluido en solución salina de sal reguladora fosfato) en cada pozo y se dejó reaccionar durante 3 horas en la incubadora. Después de 3 horas las células se solubilizaron en solución reguladora de lisis (SDS al 10%/HCl al 0,1% en agua, 100 µl para cada pozo) durante 24 horas a 37°C. Por último, se midió la absorbancia a 570 nm utilizando un lector de multiplaca. Los valores de absorbancia se recogieron y los valores IC₅₀/IC₈₀ se determinaron utilizando software GraphPad Prism5. Los experimentos se repitieron dos veces, y algunos resultados se presentan a continuación como un intervalo de actividad - A, IC₅₀ < 1µM; B, 1µM < IC₅₀ < 10µM; C, 10µM < IC₅₀ < 50µM; D, IC₅₀ > 50µM.

Compuesto	IC ₅₀ MDA-MB-231 (μM ± desviación estándar)	IC ₅₀ HL-60 (μM ± desviación estándar)	IC ₅₀ PC-3 (μM ± desviación estándar)
28a	A	A	D
29a	A	-	-
30a	A	-	-
30b	C	-	-
30c	C	-	-
30d	C	C	D
34a	C	-	-
35a	B	-	-
36a	B	-	-
SM164 ^a	A	A	C

^a desde J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 15279

Los valores de los compuestos ensayados muestran claramente la actividad citotóxica, con una indicación de las relaciones estructura-actividad entre congéneres.

Ejemplo 7

5 Estudios en animales

7.1 Modelo en animales y experimental. Todos los experimentos de la actividad antitumoral se llevaron a cabo utilizando ratones desnudos hembras atímicos, 8-10 semanas de edad (Charles River, Calco, Italia). Los ratones se mantuvieron en habitaciones de flujo laminar de mantenimiento de temperatura y humedad constantes. Los ratones tenían acceso libre a comida y agua. Los experimentos fueron aprobados por el Comité Ético de Experimentación Animal del Istituto Nazionale Tumori de Milán de acuerdo con las directrices institucionales. El xenoinjerto de tumor de ovario humano IGROV-1 derivado de una línea celular de carcinoma de ovario obtenida de un paciente no tratado (Benard et al., Cancer Res., 45:4970, 1985) se utilizó en el estudio, ya que puede ser inoculado en diferentes sitios.

7.2 Fármacos. El compuesto 28a se disolvió en solución salina a una concentración de 0.5 mg/mL, mientras que el compuesto estándar SM-164 (S. Wang, et. al., J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 15279) se disolvió en una mezcla de etanol y cremophor que emplea un agitador magnético y se suspendió en solución salina a una concentración final de 5+5+90%. Los fármacos se disuelven recién en el comienzo de la administración semanal después del análisis de la estabilidad por HPLC-MS, que en las condiciones actuales se mantuvo hasta 5 días. Los fármacos fueron administrados i.p. en un volumen de 10 ml/Kg de peso corporal.

7.3 Xenoinjertos i.p. de tumor de ovario. El tumor IGROV-1 se adaptó para crecer en la cavidad peritoneal (i.p.) y se mantuvo por pasajes i.p. serie de células de ascitis en ratones sanos.

En este modelo de tumor, ascitis hemorrágica con carcinomatosis peritoneal difusa desarrolla y el animal finalmente muere. Para la evaluación de la actividad antitumoral, de 2.5×10^6 células de ascitis en 0.2 mL de solución salina fueron inyectados i.p. en ratones. Se empleó la administración locorregional. En particular, los tratamientos comenzaron 1 día después de inóculo celular. 28a fue entregado i.p. a una dosis de 5 mg/Kg y se administró durante 4-5 días a la semana durante dos semanas (qdx4-5/wx2w), comenzando el día después de la inyección de células. Para los estudios de actividad antitumoral, se inspeccionaron diariamente grupos experimentales y se pesaron tres veces por semana. Antes de la muerte inminente, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical y el día del sacrificio se consideró como día de la muerte y el tiempo medio de supervivencia (MST) se calculó para cada grupo. La actividad antitumoral se evaluó como T/C%, i.e., la relación de MST en los ratones tratados respecto a la de los ratones de control x 100. Para el análisis estadístico, el porcentaje de supervivencia con el tiempo se estimó por el método del producto de Kaplan-Meier y se compararon mediante la prueba log-rango.

7.4 xenoinjertos subcutáneos tumorales de ovario. Para el crecimiento subcutáneo (s.c.), las células tumorales en crecimiento exponencial (5×10^6 células/ratón) fueron s.c. inyectado en el flanco derecho de ratones desnudos atímicos. La línea tumoral se logró por pasajes en serie de fragmentos (aproximadamente $2 \times 2 \times 6$ mm) a partir de tumores que vuelven a crecer en ratones sanos. Se emplearon los grupos de cinco ratones portadores de tumores s.c. bilaterales.

5 Los fragmentos de tumor se implantaron en el día 0 y el crecimiento tumoral fue seguido por mediciones quincenales de diámetros de los tumores con un calibrador Vernier. El volumen del tumor (TV) se calculó de acuerdo con la fórmula: $TV \text{ (mm}^3\text{)} = d^2 \times D / 2$ donde d y D son las más cortas y el diámetro más largo, respectivamente. 28a fue entregado i.p. y se administró durante 5 días una semana durante tres semanas (qdx5/wx3w). El tratamiento se inició tres días después de la implantación del tumor, cuando los tumores eran solo palpables. La eficacia del tratamiento del fármaco se evaluó como porcentaje de inhibición del volumen del tumor (TVI%) en ratones tratados frente a los de control, calculado como: $TVI\% = 100 - (TV \text{ medio tratado} / TV \text{ medio control} \times 100)$. La toxicidad del tratamiento con el fármaco se determinó como la pérdida de peso corporal y la toxicidad letal. Las muertes que se producen en los ratones tratados antes de la muerte del primer ratón de control se atribuyen a los efectos tóxicos. Se utilizó la prueba exacta, prueba t de Student (dos colas) para la comparación estadística de los volúmenes tumorales en ratones.

15 7.5 Actividad de miméticos de SMAC contra los tumores de ovario i.p..

Los ratones i.p. xenoinjertados con células de carcinoma de ovario humano IGROV-1 se inyectaron i.p. con 28a o compuesto estándar SM-164 ambos administrados qd4-5/wx2 a una dosis de 5 mg/kg. El tratamiento comenzó el día después de la inoculación de células tumorales. Los ratones de control fueron tratados i.p. con solución salina en la evaluación de la actividad antitumoral de 28a o con vehículo cuando el efecto del estándar se examinó. Los resultados se resumen en la Tabla 1 y los ratones de supervivencia se muestran en la Figura 1. La administración i.p. de 28a condujo a un aumento del tiempo de supervivencia significativo en comparación con los controles ($P < 0.05$) con un valor de T/C de 180%. En las mismas condiciones experimentales, el valor T/C obtenido utilizando el estándar era 164% ($P < 0.05$). Por lo tanto, aunque 28a apareció superior al estándar en esta configuración experimental, ambos compuestos fueron dotados con actividad antitumoral en el tumor IGROV-1 i.p..

25 Tabla 1 - Eficacia de los agentes miméticos de SMAC i.p., 5 mg/kg, qdx4-5/wx2-3w, en el carcinoma de ovario IGROV-1 i.p. xenoinjertados en ratones desnudos atímicos.

Agente	MST ¹	Rango ²	T/C% ³	P ⁴
solución salina	20	14-26		
28a	36	28-56	180	0.0001
vehículo	22.5	20-30		
SM164	37	24-49	164	0.0007

¹ tiempo de supervivencia medio (días).

² Rango de los días de la muerte.

³ Relación de MST en ratones tratados sobre control x 100.

⁴ Mediante la prueba de log-rango de dos caras en las curvas de supervivencia de ratones control.

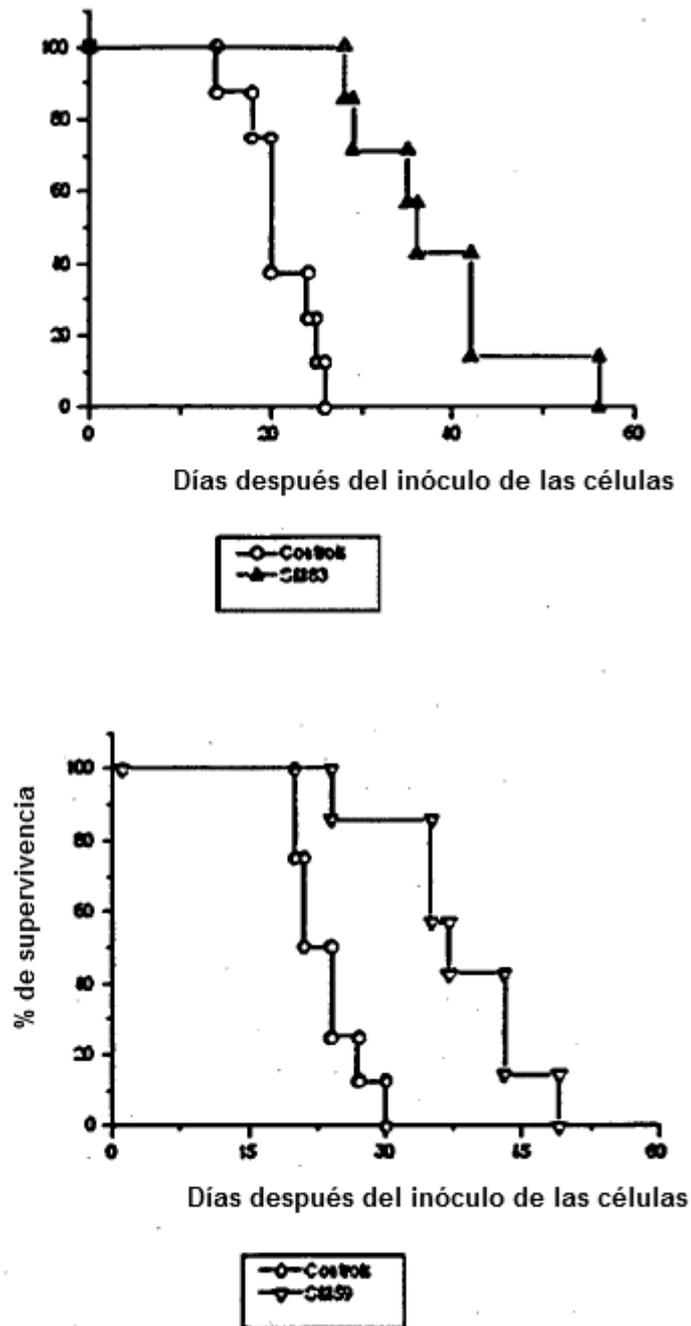


Figura 1 - Actividad de 28a y SM164 contra tumores de ovario i.p.

7.6 Actividad de miméticos de SMAC contra tumores de ovario s.c..

Cuando los ratones fueron xenoinjertados s.c. con IGROV-1, se observó una inhibición significativa del crecimiento tumoral con administración de 28a (i.p., 5 mg/Kg, qdx5/wx3), siendo el TVI de 66% (Tabla 2, P <0.05 vs controles). En contraste, el estándar utilizado en la misma dosis y con el mismo calendario que 28a no muestra ningún efecto antitumoral. Por otra parte, la 28a fue bien tolerado. Estos resultados apoyan que 28a está dotado de un prometedor efecto antitumoral.

5

Tabla 2 - Eficacia de agentes miméticos de SMAC i.p., 5 mg/kg, qdx4-5/wx3w, en el carcinoma de ovario IGROV-1 xenoinjertado s.c. en ratones desnudos atímicos

Agente	TVI% ¹	BWL% ²	Tox3 ³	P ⁴
28a	66	2	0/4	0.034
SM164	0	5	0/4	n.s.

¹ % de inhibición del volumen del tumor en los ratones tratados con el control evaluado 7 días después del último tratamiento.

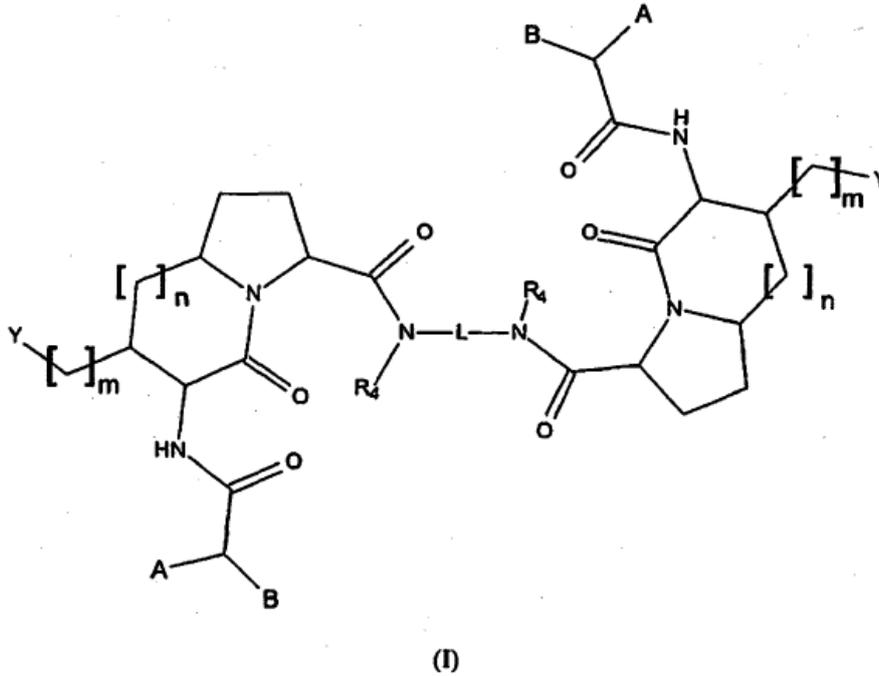
² % de pérdida de peso corporal inducida por el tratamiento; se ha informado el cambio más alto.

³ Ratones muertos/tratados.

⁴ Por prueba t de Student en los volúmenes de tumor sobre los ratones de control.

Reivindicaciones

1. Un compuesto homodimérico de fórmula (I)



en donde:

5 n es 1 o 2

m es un número entero desde 0 a 3

A es NR_1R_2 o $N + R_1R_2R_3$

R_1 , R_2 y R_3 son, cada uno independientemente,

- hidrógeno;

10 - alquilo C_{1-8} o heteroalquilo; alquenoilo C_{2-8} o heteroalquenoilo; alquinilo C_{2-8} o heteroalquinilo;

- arilo, alquilarilo, heteroarilo, alquilheteroarilo opcionalmente sustituidos; o

dos cualesquiera de R_1 , R_2 , y R_3 tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos, forman un grupo heterocíclico, opcionalmente sustituido por uno o más oxo, tioxo, y que comprende opcionalmente un heteroátomo seleccionado de O, S, y N, a condición de que el heteroátomo se separe del átomo de nitrógeno por al menos dos átomos de carbono;

15 R_4 son cada uno independientemente

- hidrógeno;

- alquilo C_{1-18} o heteroalquilo; alquenoilo C_{2-18} o heteroalquenoilo; alquinilo C_{2-18} o heteroalquinilo opcionalmente sustituido;

- arilo, alquilarilo, heteroarilo, o alquilheteroarilo opcionalmente sustituido;

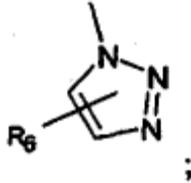
B es

20 - alquilo C_{1-4} ; alquenoilo C_{2-4} ; alquinilo C_{2-4} ;

- arilo, alquilarilo, heteroarilo o alquilheteroarilo;

todos opcionalmente sustituidos por uno o más halógenos;

Y se selecciona entre OR_5 , NHR_5 , NR_5R_6 , $NH-S(O)_2-R_5$, $N+(R_5)_3$, SR_5 , N_3 , $C(O)OR_5$, CN , $C(S)OR_5$, $C(S)NHR_5$, $C(NH)NHR_5$, $NH(CNH)NHR_5$, $NH(CS)NHR_5$, $NH(CO)NHR_5$ o



5

R_5 es

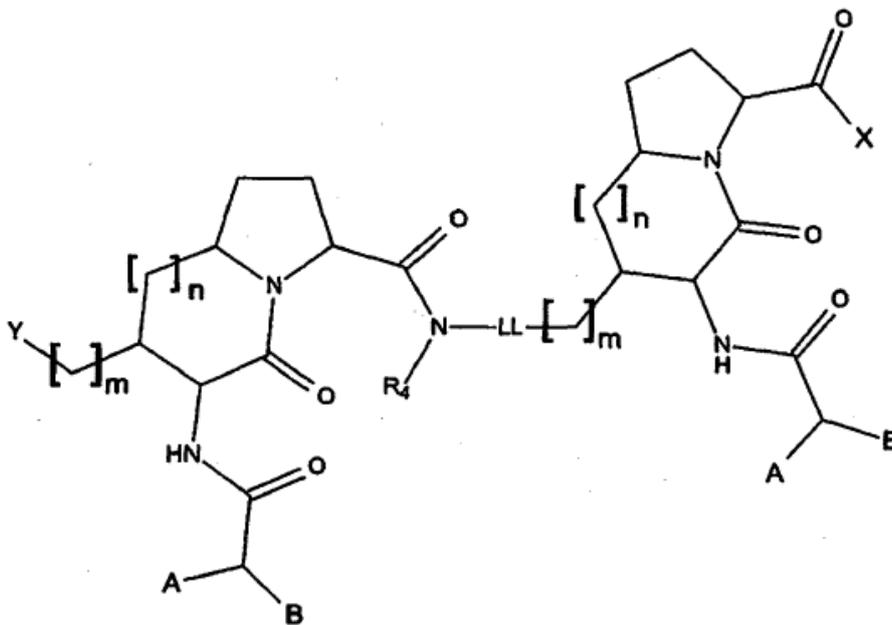
- hidrógeno;
- alquilo C_{1-8} ; alqueno C_{2-8} ; alquino C_{2-8} opcionalmente sustituido;
- arilo; alquilarilo; heteroarilo opcionalmente sustituido;

10 R_6 es

- alquilo C_{1-8} ; alqueno C_{2-8} ; o alquino C_{2-8} opcionalmente sustituido;
- arilo; alquilarilo; o heteroarilo opcionalmente sustituido.;

L es un "enlazante" seleccionado entre los enumerados como L1 a L56 en la Tabla I de la presente descripción.

2. Un compuesto heterodimérico de fórmula (II)



(II)

15

o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco del mismo, en donde:

n es 1 o 2

m es un número entero de 0 a 3

A es NR_1R_2 o $N^+R_1R_2R_3$

R_1 , R_2 y R_3 son, cada uno independientemente,

- hidrógeno;

5 - alquilo C_{1-8} o heteroalquilo; alqueno C_{2-8} o heteroalqueno; alquino C_{2-8} o heteroalquino;

- arilo, alquilarilo, heteroarilo, alquilheteroarilo opcionalmente sustituido;

o

10 dos cualesquiera de R_1 , R_2 , y R_3 tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un grupo heterocíclico, opcionalmente sustituido por uno o más oxo, tioxo, y que comprende opcionalmente un heteroátomo seleccionado de O, S, y N, a condición de que el heteroátomo se separe del átomo de nitrógeno por al menos dos átomos de carbono;

R_4 es

- hidrógeno;

- alquilo C_{1-18} o heteroalquilo; alqueno C_{2-18} o heteroalqueno; alquino C_{2-18} o heteroalquino opcionalmente sustituido;

- arilo, alquilarilo, heteroarilo, o alquilheteroarilo opcionalmente sustituido;

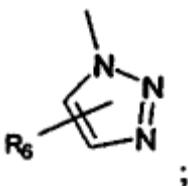
15 B son cada uno independientemente

- alquilo C_{1-4} ; alqueno C_{2-4} ; alquino C_{2-4} ;

- arilo, alquilarilo, heteroarilo o alquilheteroarilo;

todos opcionalmente sustituidos por uno o más halógenos;

20 Y se selecciona entre OR_5 , NHR_5 , NR_5R_6 , $NH-S(O)_2-R_5$, $N+(R_5)_3$, SR_5 , N_3 , $C(O)OR_5$, CN , $C(S)OR_5$, $C(S)NHR_5$, $C(NH)NHR_5$, $NH(CNH)NHR_5$, $NH(CS)NHR_5$, $NH(CO)NHR_5$ o



R_5 es

- hidrógeno;

- alquilo C_{1-8} ; alqueno C_{2-8} ; alquino C_{2-8} opcionalmente sustituido;

25 - arilo; heteroarilo opcionalmente sustituido;

R_6 es

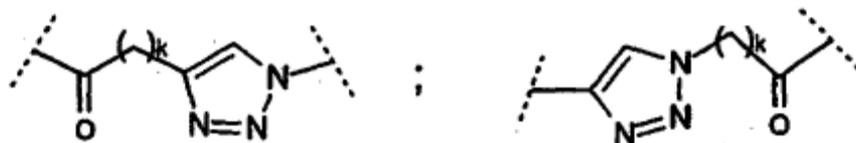
- alquilo C_{1-8} ; alqueno C_{2-8} ; o alquino C_{2-8} opcionalmente sustituido;

- arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

30 X es alquilo C_{1-18} , alqueno C_{2-18} , alquino C_{2-18} , arilo, o heteroarilo opcionalmente sustituido, y uno o más hidrógenos en los grupos CH , CH_2 o CH_3 se pueden reemplazar por un alquilo o cicloalquilo ramificado o no ramificado, un arilo, alquilarilo, heteroarilo, o alquilheteroarilo opcionalmente sustituido, o OR_7 , SR_7 , o NR_7R_8 ;

LL es un "enlazante", seleccionados entre los enumerados como L57 a L124 en la Tabla II de la presente descripción.

donde Z se selecciona entre CR_7R_8 , O, NR_7 , $NR_7C(O)$, S, $C(O)O$, $C(S)O$, $C(S)NR_7$, $C(NR_8)NR_7$, $NR_7C(NR_8)NR_9$, $NR_7C(O)NR_8$, $NR_7C(S)NR_8$ o



5

donde $k = 1-10$ cada uno independientemente;

10 R_7 , R_8 , R_9 son independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-5} , o alquinilo C_{2-5} opcionalmente sustituido, en el cual uno o más carbonos se pueden reemplazar por un heteroátomo seleccionado de O, S, y N, o arilo, alquilarilo, heteroarilo, o alquilheteroarilo opcionalmente sustituido; o dos cualesquiera de R_7 , R_8 , y R_9 tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un grupo heterocíclico, en el cual uno o más átomos de carbono se pueden reemplazar por $C=O$, $C=S$, o un heteroátomo seleccionado de O, S, y N, con la condición de que el heteroátomo se separe del átomo de nitrógeno por al menos dos carbonos;

3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, como sal farmacéuticamente aceptable o profármaco.

15 4. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para uso en terapia.

5. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso como agente proapoptótico.

6. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso como agente antiangiogénico.

7. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso como agente anticáncer.

20 8. Composición farmacéutica que comprende como el ingrediente activo, al menos un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

9. Asociación o combinación de una cantidad eficaz de al menos un compuesto de fórmula (I) y (II) de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 y al menos un agente terapéutico adicional seleccionado entre agentes quimioterapéuticos, moduladores de la apoptosis, antimicrobiano, antiviral, antifúngico y agentes antiinflamatorios, preferiblemente entre agentes quimioterapéuticos y moduladores de la apoptosis.

25 10. Asociación o combinación de una cantidad eficaz de al menos un compuesto de fórmula (I) y (II) de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 y al menos un agente terapéutico adicional seleccionado entre quimioterapéuticos y moduladores de la apoptosis para su uso en el tratamiento del cáncer.

11. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde:

L se selecciona como el enlazante L5 con $n = 2$

30 R_4 se selecciona como hidrógeno

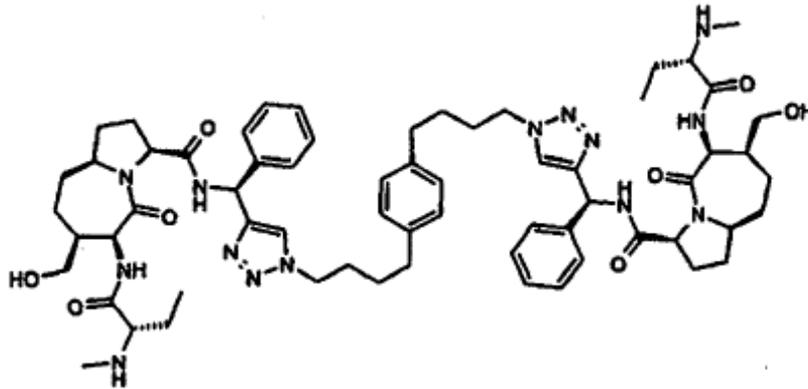
$m = 1$, $n = 2$

Y se selecciona como OH

A se selecciona como NR_1R_2 , donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1

B se selecciona como alquilo C_2 .

35 12. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



13. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde:

L se selecciona como el enlazante L5 con $n = 2$

R_4 se selecciona como hidrógeno

5 $m = 1, n = 2$

Y se selecciona como NR_5R_6 , donde R_5 es hidrógeno y R_6 es CH_2Phe

A se selecciona como NR_1R_2 , donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1

B se selecciona como alquilo C_2 .

14. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde:

10 L se selecciona del grupo que consiste en enlazante L19, enlazante L55, enlazante L51, y enlazante L27 con $n = 2$

R_4 se selecciona como hidrógeno

$m = 1, n = 2$

Y se selecciona como OH

A se selecciona como NR_1R_2 , donde R_1 es hidrógeno y R_2 es alquilo C_1 (CH_3)

15 B se selecciona como alquilo C_2 .

15. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, donde:

LL se selecciona como L88, donde $n = 3$

A se selecciona como NR_1R_2 , donde R_1 se selecciona como hidrógeno y R_2 se selecciona como alquilo C_1 (CH_3)

B se selecciona como alquilo C_2

20 R_4 se selecciona como hidrógeno

Y se selecciona como OH

$m = 1, n = 2$

X se selecciona como NR_7R_8 con R_7 seleccionado como hidrógeno y R_8 seleccionado como alquilo C_1 sustituido con dos grupos arilo

25 Z se selecciona como NR_7 con R_7 seleccionado como hidrógeno.