

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 607 498**

51 Int. Cl.:

**C07D 333/38** (2006.01)

**C07K 7/66** (2006.01)

**C07K 7/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.02.2014 PCT/EP2014/000482**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.08.2014 WO14127919**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.02.2014 E 14711680 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016 EP 2958934**

54 Título: **Peptidomiméticos que poseen actividad biológica fotocontrolada**

30 Prioridad:

**22.02.2013 EP 13000893**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**31.03.2017**

73 Titular/es:

**KARLSRUHER INSTITUT FÜR TECHNOLOGIE  
(50.0%)**

**Kaiserstrasse 12**

**76131 Karlsruhe, DE y**

**TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY  
OF KYIV (50.0%)**

72 Inventor/es:

**AFONIN, SERGIY;**

**BABIL, OLEG;**

**KOMAROV, IGOR;**

**MYKHAILIUK, PAVLO y**

**ULRICH, ANNE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 607 498 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

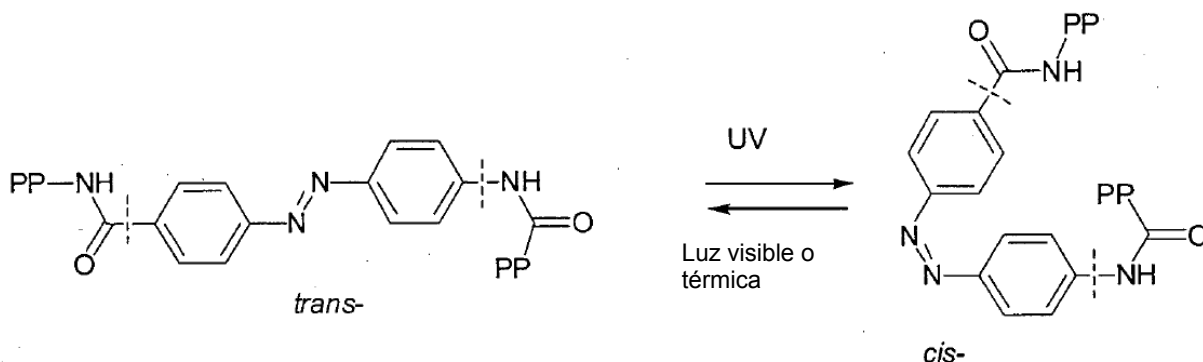
Peptidomiméticos que poseen actividad biológica fotocontrolada

La presente invención se refiere a compuestos farmacéutica y/o diagnósticamente activos, tales como análogos peptídicos (peptidomiméticos), que se pueden controlar de modo reversible entre un estado activo y un estado inactivo por irradiación con luz de diferentes longitudes de onda. La presente invención también se refiere a un compuesto intermedio útil en la preparación de tales compuestos farmacéutica y/o diagnósticamente activos, así como a uno de sus métodos de preparación.

Uno de los principales problemas en la terapia a base de fármacos y la diagnosis es la especificidad limitada de los compuestos farmacéutica y/o diagnósticamente activos, que pueden causar efectos colaterales no deseados, en particular en regiones de tejidos sanos o en fluidos corporales de un paciente. Estos efectos colaterales dan como resultado índices terapéuticos inferiores que limitan el uso efectivo de los respectivos fármacos.

En consecuencia, se han hecho esfuerzos para identificar fármacos que actúan específicamente en el sitio de acción deseado, tales como infecciones virales, bacterianas, fúngicas o parasíticas localizadas, inflamación, heridas, hemorragias o trastornos hiperplásicos, neoplásicos, escleróticos, trombóticos y necróticos. Un concepto para lograr esta meta consiste en diseñar fármacos que se acumulan predominantemente en el tejido blanco, de modo que sus concentraciones –y así sus efectos colaterales no deseados– se reducen significativamente en tejidos sanos o fluidos corporales. Otro método para reducir los efectos colaterales antes mencionados y aumentar el índice terapéutico de un fármaco es la administración de una forma inactiva del fármaco, por ejemplo, como un profármaco y la conversión de dicha forma inactiva en el sitio deseado de acción, usando, por ejemplo, irradiación electromagnética.

Por ejemplo, se han descrito peptidomiméticos, cuya actividad biológica se puede controlar por la luz de diferentes longitudes de onda en la literatura [Willner, I.; Rubin, I. Control of the structure and functions of biomaterials by light. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1996, 35, 367-385]. La mayor parte de estos peptidomiméticos contienen fragmentos fotoisomerizables de azobenceno (esquema 1), que pueden cambiar su conformación de la conformación trans termodinámicamente más estable a la conformación cis menos estable después de la exposición a la luz UV y de cis a trans después de la iluminación por exposición a la luz visible.



Esquema 1: peptidomiméticos fotosensibles derivados de azobenceno en una representación general. El fragmento molecular reversiblemente fotoisomerizable de azobenceno (encerrado por las líneas de puntos) se incorpora en una cadena de polipéptidos (PP).

La fotoisomerización de los fragmentos de azobenceno da como resultado un cambio de la estructura general y la actividad biológica de los correspondientes peptidomiméticos. Una desventaja de los peptidomiméticos que llevan el resto de azobenceno es la inestabilidad térmica de este fragmento fotosensible: la configuración cis de la unidad de azobenceno se convierte en la configuración trans no sólo después de la exposición a la luz visible, sino también espontáneamente a temperatura ambiente (10-30 °C). Otras desventajas de los peptidomiméticos derivados de azobenceno son su baja eficacia de fotoconversión, baja fotoestabilidad y potencial toxicidad [H. Mori, Y. Mori, S. Sugie, N. Yoshimi, M. Takahashi, H. Ni-i, H. Yamazaki, K. Toyoshi, G. M. Williams. Genotoxicity of a variety of azobenzene and aminoazobenzene compounds in the hepatocyte/DNA repair test and the Salmonella/mutagenicity test. *Cancer Res.* 1986, 46, 1654-1658].

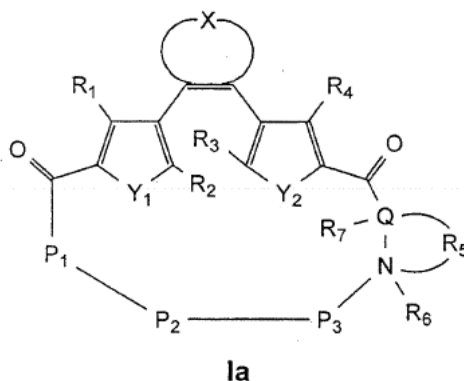
El principio de la fotoactivación de la actividad biológica también se usó en los así llamados “péptidos enjaulados” [Yasushi Shigeri, Yoshiro Tatsu, Noboru Yumoto. *Synthesis and application of caged peptides and proteins. Pharmacology & Therapeutics* 2001, 91, 85-92]. Los péptidos enjaulados contienen grupos covalentemente unidos que se escinden rápidamente después de la exposición a la luz de una longitud de onda específica. La unión de grupos fotolábiles vuelve inerte a la molécula, hasta que la fotólisis la convierta en su derivado bioactiva. Cuando los péptidos enjaulados necesitan ser activados, el salto de concentración de las sustancias biológicamente activas se puede

5 producir instantáneamente en un área limitada por irradiación con luz pulsada y enfocada de una longitud de onda específica. La fotoactivación de los péptidos enjaulados no es reversible. Puede producir no sólo la actividad biológica deseada (por ejemplo, antimicrobiana, antineoplásica, inmunoestimulante o modulante de enzimas), sino también ciertos efectos indeseables (por ejemplo, tóxicos, inflamatorios o inductores de estrés), que pueden causar efectos colaterales cuando los péptidos se usan como quimioterapéuticos, y, por ello, requieren de una elaboración de estrategias para eliminar el compuesto postterapéuticamente.

El documento WO0220769 revela péptidos 'homing' conjugados, por ejemplo, con gramicidina, en donde el resultante es activo como agente apoptótico.

10 Todos los compuestos antes mencionados padecen de una variedad de desventajas tales como inestabilidad térmica, baja eficacia de conversión, baja fotoestabilidad y una potencial toxicidad. En consecuencia, hay una constante necesidad de nuevos compuestos que eviten los problemas antes descritos y permitan el tratamiento específico de trastornos localizados.

15 Conforme a ello, el problema en que se basa la presente invención consiste en proporcionar compuestos farmacéutica y/o diagnósticamente activos, tales como peptidomiméticos, que permiten una efectiva y reversible conversión entre sus formas farmacéutica y/o diagnósticamente inactivas y activas y que son térmicamente estables en ambas formas y resistentes a la fotodestrucción y proteasas. Este problema se resuelve de acuerdo con la presente invención proporcionando, como primer aspecto, un compuesto peptidomimético representado por la fórmula general Ia o una de sus sales



20 en donde R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en H, un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato, grupo sulfoxilo o cualquier otro grupo opcionalmente sustituido;

25 R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, de un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato, grupo sulfoxilo o cualquier otro grupo opcionalmente sustituido;

X representa -(CH<sub>x</sub>F<sub>y</sub>)<sub>z</sub>-, en donde x+y = 2, x = 0, 1 ó 2, y = 0, 1 ó 2 y z = 2 a 4;

Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> se seleccionan, de modo independiente, de S, O y N o sus derivados tales como SO<sub>2</sub> o N-alquilo;

P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> representan cada uno, de modo independiente, un residuo de aminoácido simple o una secuencia de péptidos de 2 o más residuos de aminoácidos;

30 P<sub>2</sub> está ausente o representa un residuo de aminoácido simple o una secuencia de péptidos de 2 o más residuos de aminoácidos;

Q es C o N;

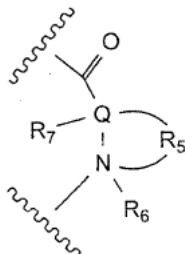
R<sub>5</sub> se selecciona de H, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo o un grupo heteroalquinilo y está ligado con Q o puede formar un anillo junto con Q y N o R<sub>5</sub> está ausente;

35 R<sub>6</sub> se selecciona de H, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo, grupo heteroalquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo y grupo heteroarilo o está ausente; y

40 R<sub>7</sub> se selecciona de H, una cadena lateral de aminoácidos, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo, grupo heteroalquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo o un grupo heteroarilo; siempre que, cuando P<sub>2</sub> está ausente, P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> no se unan entre sí; siempre que, cuando Q es N, R<sub>5</sub> esté ausente y siempre que, cuando R<sub>5</sub> forma un anillo junto con Q y N, R<sub>6</sub> esté ausente.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto peptidomimético de la fórmula la también incluye todos los posibles estereo- y regioisómeros respecto de los grupos R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, Q y P<sub>1</sub> a P<sub>3</sub>.

A continuación, el grupo general



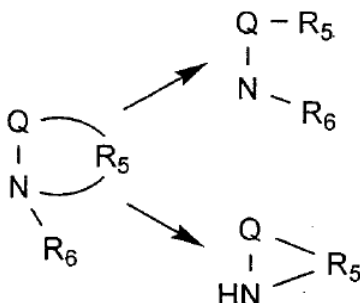
5 también se mencionará como “grupo enlazante”.

De acuerdo con la presente invención, R<sub>5</sub> es un grupo monovalente que está ligado con Q o es un grupo bivalente que puede formar un anillo junto con Q y N.

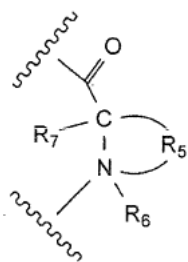
Como tal, el elemento estructural



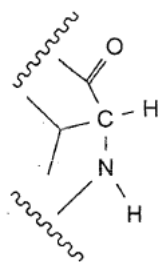
10 incluye los dos casos anteriores, en donde R<sub>5</sub> está ligado con Q como un grupo monovalente o puentes de Q y N para formar un anillo que contiene Q, R<sub>5</sub> y N. En consecuencia, el elemento estructural anterior se pueden expresar también como las dos formas individuales que puede representar:



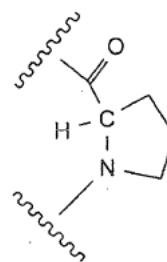
15 Por ejemplo, R<sub>5</sub> puede ser H, por ejemplo, en un grupo enlazante que representa el aminoácido valina o puede formar un anillo junto con Q y N, por ejemplo, en un grupo enlazante que representa el aminoácido prolina. En el último caso, donde R<sub>5</sub> forma un anillo junto con Q y N, R<sub>6</sub> está ausente. Abajo se dan ejemplos como sigue:



estructura general  
del grupo enlazante (Q = C)



grupo enlazante = valina



grupo enlazante = prolina

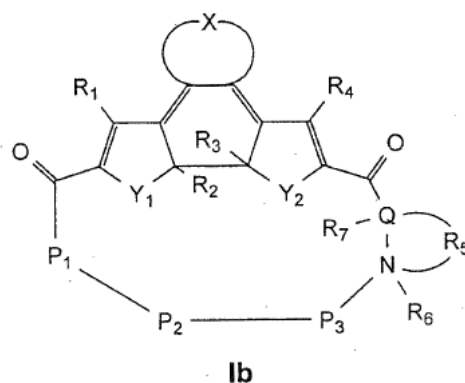
20 Aquí, el grupo R<sub>6</sub> está ligado con N o, cuando R<sub>5</sub> forma un anillo junto con Q y N, está ausente.

De acuerdo con la presente invención, el grupo R<sub>7</sub> está ligado con Q y puede representar inter alia una cadena lateral de aminoácidos. En este contexto, la expresión "cadena lateral de aminoácidos" no está limitada en particular e incluye cadenas laterales de aminoácidos no naturales y naturales. De acuerdo con una forma de realización preferida de la invención, R<sub>7</sub> representa una cadena lateral de aminoácidos de un aminoácido natural, tales como un grupo hidroximetilo (serina) o un grupo isopropilo (valina).

La presente invención también incluye todos los estereoisómeros del grupo Q, es decir, por ejemplo, cuando R<sub>7</sub> representa una cadena lateral de aminoácidos, se incluyen las configuraciones D y L dentro del alcance de la presente invención.

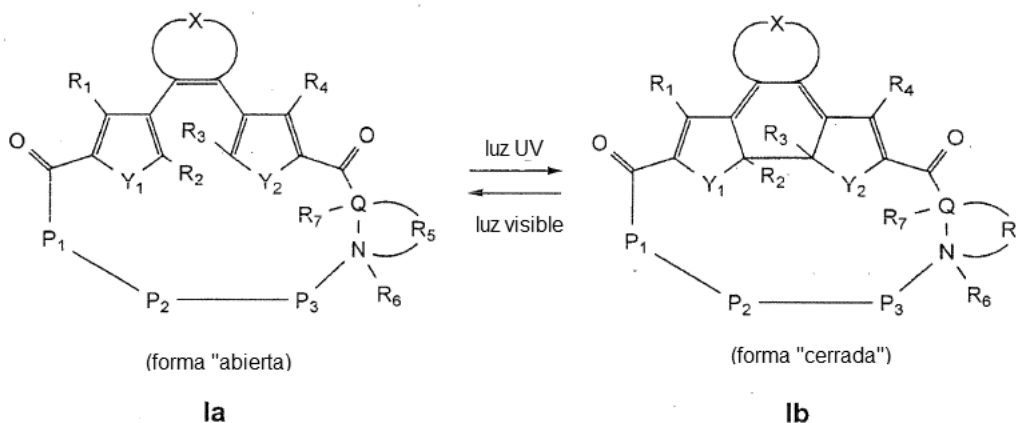
De acuerdo con un ejemplo de especial preferencia, R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> son H. De acuerdo con otro ejemplo de especial preferencia, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son metilo. De acuerdo con otro ejemplo de especial preferencia, X es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>-. De acuerdo con otro ejemplo de especial preferencia, cada uno de Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> es S. De acuerdo con otro ejemplo de especial preferencia, Q es C. De acuerdo con otro ejemplo de especial preferencia, Q es N, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> es H y R<sub>5</sub> está ausente. De acuerdo con otra forma de realización de especial preferencia de la presente invención, Q es C, R<sub>5</sub> es H y R<sub>7</sub> es una cadena lateral de aminoácidos.

Como otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto peptidomimético representado por la fórmula general Ib o una de sus sales,



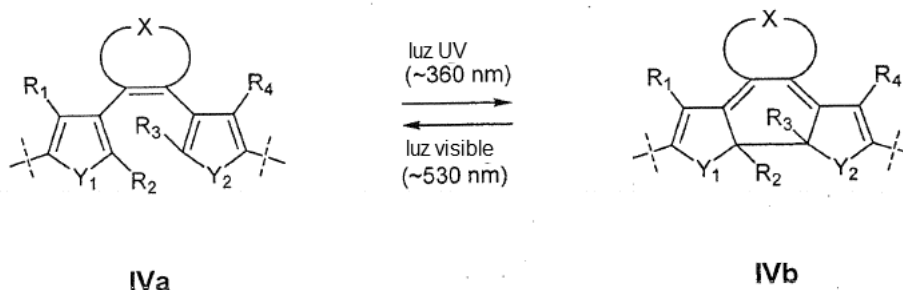
en donde R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub>, X, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> a P<sub>3</sub>, Q y R<sub>5</sub> a R<sub>7</sub> son como se definieron con anterioridad, siempre que, cuando P<sub>2</sub> está ausente, P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> no estén ligados entre sí, siempre que, cuando Q es N, R<sub>5</sub> esté ausente y siempre que, cuando R<sub>5</sub> forma un anillo junto con Q y N, R<sub>6</sub> esté ausente.

El compuesto peptidomimético antes definido representado por la fórmula Ib también incluye, además de aquellos mencionados con anterioridad para la fórmula Ia, todos los posibles estereo- y regioisómeros con respecto a R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub>. De acuerdo con la presente invención, los compuestos Ia y Ib antes definidos representan dos formas isoméricas fotointerconvertibles que se pueden convertir entre sí por irradiación con luz de diferentes longitudes de onda y existen en una forma "abierta" y una forma "cerrada". De modo significativo, la forma "abierta" es más flexible que la forma "cerrada" conformacionalmente limitada.



Esquema 2: el sistema molecular fotoconmutable de diarileteno incorporado en una cadena estructural de polipéptidos

Esto se logra incorporando el sistema molecular fotoconmutable de diariletano mostrado en el siguiente esquema 3 en la estructura de un compuesto peptidomimético, donde la actividad de dichos compuestos peptidomiméticos se pueden controlar de modo efectivo.



5 Esquema 3: el sistema molecular fotoconmutable de diariletano (encerrado por las líneas de puntos).

Aquí, las expresiones “sistema molecular fotoconmutable”, “fragmento fotoconmutable”, “bloque constructivo fotoconmutable”, “fragmento fotoconmutable de diariletano” o “grupo fotoconmutable de diariletano” se pueden usar como sinónimos y se refieren al resto interconvertible de diariletano como se muestra en el esquema 3 anterior que puede estar presente en dichas formas abierta o cerrada.

10 De acuerdo con la presente invención, la fotoisomerización del fragmento fotoconmutable de diariletano de la forma “abierta” a la forma “cerrada” se puede lograr por irradiación con luz ultravioleta (UV). Por ejemplo, la conversión de la forma abierta en la forma cerrada se puede llevar a cabo por irradiación con luz con una longitud de onda en el intervalo de 100 a 500 nm, tales como 200 a 300 nm, 250 a 380 nm o 300 a 500 nm, según la naturaleza química exacta de la fotoconmutación. Por el otro lado, la fotoisomerización del fragmento fotoconmutable de diariletano de la forma cerrada a la forma abierta se puede lograr con una luz de mayor longitud de onda, tales como visible (VIS) o infrarroja, según la naturaleza química exacta de la fotoconmutación. Por ejemplo, la conversión de la forma abierta en la forma cerrada se puede llevar a cabo en general por irradiación con luz que tiene una longitud de onda en el intervalo de 300 a 12000 nm, tales como 300 a 400 nm, 350 a 8000 nm o 500 a 5000 nm. De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la conversión de la forma abierta en la forma cerrada se puede llevar a cabo por irradiación con luz que tiene una longitud de onda en el intervalo de 380 a 740 nm, tales como 420 a 680 nm, 480 a 600 nm.

25 En la presente, el término “peptidomimético” no es limitado de modo específico y en general incluye compuestos tanto cíclicos como lineales que comprenden el fragmento fotoconmutable de diariletano como parte de la estructura peptidomimética y uno o varios residuos de aminoácidos naturales o no naturales y que ejercen una actividad farmacéutica y/o diagnóstica en al menos su forma “abierta” o “cerrada”. Por ejemplo, de acuerdo con la presente invención, los compuestos peptidomiméticos se pueden basar en péptidos naturales o diseñados, que fueron alterados, por ejemplo, por modificación, delección y/o incorporación de uno o varios residuos de aminoácidos.

30 Como se usa en la presente, la expresión “farmacéutica y/o diagnósticamente activo” no se restringe específicamente e incluye cualquier actividad que se puede explotar en terapia, prevención o diagnosis de un trastorno en un paciente, tales como actividad antimicrobiana, antiviral, antifúngica, antiparasítica, antiproliferativa, citostática, citotóxica, citolítica, anticáncer, antiinflamatoria, cardiovascular, de control reproductivo, anti/proinflamatoria, activadora, inhibidora, agonista, antagonista y sensibilizante o una actividad que permite visualizar tejidos o fluidos corporales específicos, por ejemplo, por tinción o visualización en aplicaciones por imágenes. Aquí, las expresiones “farmacéuticamente activo” y “biológicamente activo” se usan de modo sinónimo.

35 De acuerdo con la presente invención, los compuestos peptidomiméticos antes definidos se pueden basar en general en cualquier péptido precursor apropiado, por ejemplo, como en las horquillas beta o bucles, incluyendo péptidos antibióticos lineales o cíclicos, tales como Gramicidina S, diversas tirocidinas, polimixinas (por ejemplo, Polimixina B), bacitracinas, actinomicinas, taquipleínas, protegrinas, polifemusinas, defensinas, glicopéptidos antimicrobianos (por ejemplo, Vancomicina), (antibióticos (por ejemplo, Nisina), antibióticos lipopeptídicos (por ejemplo, Daptomicina); y péptidos anticáncer tales como Gomesina, Lactoferrina B y criptoficinas; ciclosporinas inmunosupresoras; microcistinas hepatotóxicas; laxaficinas antifúngicas; Valinomicina antiviral (ionofórica) y otras estreptograminas (bacteriostáticas); inhibidores enzimáticos tales como cicloteonamidas, inhibidor de tripsina de girasol, micropeptinas, amanitinas, microviridinas; RGD-péptidos agonistas de integrina; NGR-péptidos antiangiogénicos; fosfopéptidos de unión al dominio SH<sub>2</sub>; hormonas peptídicas (por ejemplo, Somatostatina, Oxitocina, hormona concentradora de la melanina); diversos ciclopéptidos y sus derivados, etc.

Como se usa en la presente, el término “alquilo” incluye en general una cadena lineal o cadena ramificada de átomos de carbono, que puede estar opcionalmente sustituido. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>. La misma definición se aplica a los términos

“alqueniilo” y “alquinilo”, con excepción de que el “alqueniilo” incluye al menos un enlace doble de carbono-carbono, en donde el “alquinilo” incluye al menos un enlace triple de carbono-carbono. De acuerdo con la presente invención, los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo también pueden estar en forma cíclica.

5 Aquí, la expresión “opcionalmente sustituido” incluye el reemplazo de los átomos de hidrógeno con otros grupos funcionales en el radical que está opcionalmente sustituido. Estos otros grupos funcionales incluyen grupos amino, grupos hidroxilo, grupos halo, grupos tiol, grupos alquilo, grupos haloalquilo, grupos heteroalquilo, grupos arilo, grupos arilalquilo, grupos arilheteroalquilo, grupos nitro, grupos ácido sulfónico y sus derivados, así como grupos ácido carboxílico y sus derivados. Más aún, cualquiera de dichos grupos amino, grupos hidroxilo, grupos tiol, grupos alquilo, grupos haloalquilo, grupos heteroalquilo, grupos arilo, grupos arilalquilo, grupos arilheteroalquilo y/o grupos ácido sulfónico/carboxílico puede estar opcionalmente sustituido.

10 Como se usa en la presente, el término “heteroalquilo” incluye una cadena lineal o una cadena ramificada de átomos de carbono, así como anillos de carbono mono- o policíclicos, que contienen al menos un heteroátomo y que pueden estar opcionalmente sustituidos. Los ejemplos de tales heteroátomos incluyen nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. El grupo heteroalquilo es preferentemente un grupo heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, un grupo heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, un grupo heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>. La misma definición se aplica a los términos “heteroalqueniilo” y “heteroalquinilo”, con la excepción de que el “heteroalqueniilo” incluye al menos un enlace doble de carbono-carbono, en donde el “heteroalquinilo” incluye al menos un enlace triple de carbono-carbono.

15 Más aún, la expresión “grupo arilo” como se usa en la presente no se limita específicamente e incluye grupos arilo mono-, bi- y policíclicos tales como grupos fenilo, naftilo y antracilo, que pueden estar opcionalmente sustituidos. El grupo arilo es preferentemente un grupo arilo C<sub>3</sub>-C<sub>24</sub>, un grupo arilo C<sub>5</sub>-C<sub>18</sub> o un grupo arilo C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>.

En la presente, el término “heteroarilo” no está limitado específicamente e incluye cualquier grupo arilo mono-, bi- o policíclico que también puede contener al menos un heteroátomo y que puede estar opcionalmente sustituido. El grupo heteroarilo es preferentemente un grupo heteroarilo C<sub>3</sub>-C<sub>24</sub>, un grupo heteroarilo C<sub>5</sub>-C<sub>18</sub> o un grupo heteroarilo C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>.

20 El término “aminoácido” usado en la presente no está limitado específicamente e incluye cualquier aminoácido natural y no natural, así como cualquier compuesto que contiene al menos un grupo amino y al menos un grupo ácido carboxílico, por ejemplo, para formar enlaces peptídicos.

25 De acuerdo con la presente invención, cada uno de P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> y P<sub>3</sub> representa, de modo independiente, un residuo de aminoácido simple o una secuencia de 2 o más residuos de aminoácidos, tales como 2 a 36 residuos de aminoácidos, 4 a 30 residuos de aminoácidos o 6 a 24 residuos de aminoácidos conectados por enlaces peptídicos. La cantidad de residuos de aminoácidos que forman cada uno de P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> y P<sub>3</sub> puede ser igual o diferente. Por ejemplo, cada uno de P<sub>1</sub> a P<sub>3</sub> puede contener 3 residuos de aminoácidos o P<sub>1</sub> puede contener 2 residuos de aminoácidos y cada uno de P<sub>2</sub> y P<sub>3</sub> puede contener 3 ó 4 residuos de aminoácidos.

30 Más aún, de acuerdo con la presente invención, los grupos P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> y P<sub>3</sub>, por ejemplo, tomados juntos como -P<sub>1</sub>-P<sub>2</sub>-P<sub>3</sub>-, pueden formar con preferencia una cadena peptídica continua simple que tiene una longitud de 6 a 78 residuos de aminoácidos, tales como 8 a 48 residuos de aminoácidos, 10 a 36 residuos de aminoácidos o 12 a 30 residuos de aminoácidos. En caso de que P<sub>2</sub> esté ausente, cada uno de P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> puede ser igual o diferente en largo y/o secuencia y, por ejemplo, contienen una cadena peptídica que tiene un largo de 2 a 36 residuos de aminoácidos, 4 a 30 residuos de aminoácidos o 6 a 24 residuos de aminoácidos. En la presente invención, uno o varios de P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> y P<sub>3</sub> pueden contener sólo aminoácidos naturales o pueden contener al menos un aminoácido no natural, tales como D-enantiómeros de α-aminoácidos o β-, γ- o aminoácidos sustituidos o aminoácidos con cadenas laterales modificadas o isomerizadas.

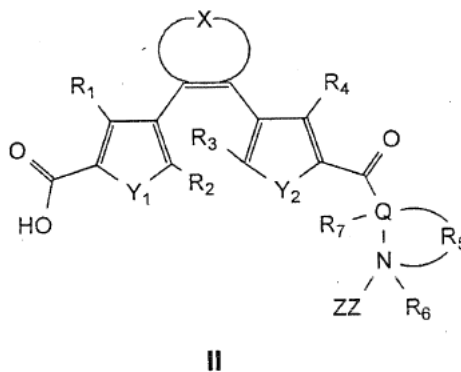
35 En la presente, la expresión “P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> no se ligan entre sí” significa que los aminoácidos terminales de cada uno de P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> no están unidos de modo covalente. Por ejemplo, los aminoácidos terminales de cada uno de P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> se pueden caracterizar por un grupo amino libre, un grupo acilado u opcionalmente sustituido de otro modo, un grupo ácido carboxílico libre, un grupo amidado o un grupo opcionalmente sustituido de otro modo, o sus sales/iones. En otra forma de realización de los compuestos peptidomiméticos como se definió con anterioridad, R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, de H y un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, de un grupo metilo y un grupo etilo y X es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>-.

40 De acuerdo con una forma de realización específica de la presente invención, en los compuestos peptidomiméticos antes definidos, cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> es H, cada uno de R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es un grupo metilo, X es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>- y cada uno de Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> es S.

De acuerdo con una forma de realización específica de la presente invención, en los compuestos peptidomiméticos antes definidos, Q es C. De acuerdo con otra forma de realización específica de la presente invención, en los compuestos peptidomiméticos antes definidos, Q es N, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son H y R<sub>5</sub> está ausente.

45 De acuerdo con una forma de realización específica de la presente invención, el compuesto peptidomimético antes definido está representado por las fórmulas GS-Sw (LF), GS-Sw (FP) y GS-Sw (PV) como se representa en la reivindicación 5.

- En la presente invención, el fragmento fotoconmutable de diarileteno imita a dos o más residuos de aminoácidos consecutivos (con preferencia, residuos de aminoácidos  $\alpha$  con cadenas laterales no cargadas), de modo que se pueden obtener peptidomiméticos que poseen una actividad farmacéutica y/o diagnóstica fotocontrolable al incorporar los fragmentos de diarileteno en péptidos prototípicos o en otros precursores, incluyendo cualquier péptido farmacéutica, preventiva y/o diagnósticamente activo natural o artificial conocido, en vez de uno o varios residuos de aminoácidos no polares naturales. Estos residuos se deberían ser preferentemente, pero sin limitación, parte de una rotación conformacional de la estructura de los péptidos ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , etc.) porque, en tal caso, la estructura del fragmento fotoconmutable de diarileteno (ya sea en forma "abierta" o "cerrada") se puede alinear con el precursor.
- De manera importante, una de las formas fotoconmutables de diarileteno ("cerrada" o "abierta") armonizará mejor con la estructura del precursor en su conformación biológicamente activa, de modo que la estructura de peptidomimético resultante y la actividad biológica esté retenida íntimamente cuando el fragmento incorporado existe en esta forma. La irradiación del peptidomimético resultante con luz de la longitud de onda óptima para la fotoisomerización del fragmento da como resultado así cambios significativos en la estructura general y una flexibilidad conformacional del peptidomimético, y, de modo correspondiente, su actividad farmacéutica y/o diagnóstica. Por acción de la luz de otra longitud de onda, la unidad fotoconmutable de diarileteno puede volverse a isomerizar a la forma inicial (cf. los esquemas anteriores 2 y 3). La estructura y así la actividad farmacéutica y/o diagnóstica del peptidomimético se puede restaurar de esta forma.
- De acuerdo con la presente invención, la fotoisomerización se puede volver a realizar muchas veces, sin la fotodestrucción del fragmento de diarileteno. Las formas "cerrada" y "abierta" del peptidomimético son estables en el intervalo de temperaturas óptimos para la mayoría de los organismos vivos (es decir, en un intervalo de 0 a 70 °C), de modo que se puedan usar como agentes farmacéuticos, preventivos o diagnósticos en la correspondiente forma, que quedará sin cambios hasta disparar la fotoisomerización por exposición local a la luz de una longitud de onda apropiada.
- En base a este sistema ventajosamente flexible, es posible tratar o diagnosticar específicamente un fragmento corporal deseado, tejido localizado, región tisular o fluido corporal por administración del peptidomimético de la presente invención en su forma inactiva y por irradiar la respectiva región en el paciente con luz de la longitud de onda apropiada para isomerizar el peptidomimético en su forma activa.
- De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto intermedio representado por la fórmula general II o una de sus sales, útiles para la síntesis del compuesto peptidomimético como se describió con anterioridad:



en donde

ZZ representa un grupo protector;

- R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en H, un grupo alquilo, grupo alquenoilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en un grupo alquilo, grupo alquenoilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

- X representa  $-(CH_xF_y)_z-$ , en donde  $x+y = 2$ ,  $x = 0, 1 \text{ ó } 2$ ,  $y = 0, 1 \text{ ó } 2$  y  $z = 2 \text{ a } 4$ ;  
 Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> se seleccionan, de modo independiente, de S, SO<sub>2</sub>, N, N-alquilo u O;

Q es C o N;

R<sub>5</sub> se selecciona da H, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenoilo, grupo heteroalquenoilo, grupo alquinilo o



un grupo heteroalquinilo y está ligado con Q o puede formar un anillo junto con Q y N o R<sub>5</sub> está ausente;

R<sub>6</sub> se selecciona de H, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alqueno, grupo heteroalqueno, grupo alquinilo, grupo heteroalquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo y grupo heteroarilo o está ausente; y

5 R<sub>7</sub> se selecciona de H, una cadena lateral de aminoácidos, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alqueno, grupo heteroalqueno, grupo alquinilo, grupo heteroalquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo o un grupo heteroarilo;

siempre que, cuando Q es N, R<sub>5</sub> esté ausente y siempre que, cuando R<sub>5</sub> forma un anillo junto con Q y N, R<sub>6</sub> esté ausente.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto intermedio de la fórmula II también incluye todos los posibles estereo- y regioisómeros con respecto a los grupos R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> y Q.

10 De acuerdo con otra forma de realización, la presente invención también se refiere al compuesto intermedio antes definidos en su forma cerrada. En tal caso, dicho compuesto intermedio también incluye, además de los mencionados con anterioridad para la forma abierta, todos los posibles estereo- y regioisómeros con respecto a R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub>.

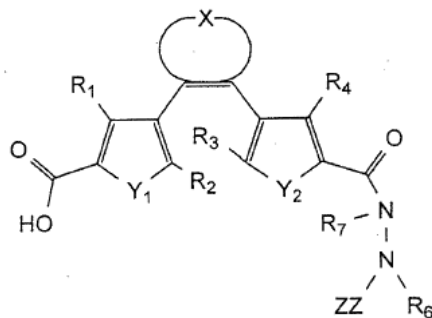
15 Si no se establece expresamente en otra parte, todas las definiciones proporcionadas con anterioridad, incluyendo las formas de realización específicas de R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub>, X, Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub>, Q y R<sub>5</sub> a R<sub>7</sub> también se aplican al compuesto intermedio de la presente invención.

En otra forma de realización del compuesto intermedio como se definió con anterioridad, ZZ se selecciona de t-butiloxicarbonilo (Boc) y fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc).

20 De acuerdo con otra forma de realización de la presente invención, en el compuesto intermedio como se definió con anterioridad, R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, de H y un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, de un grupo metilo y un grupo etilo y X es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>-.

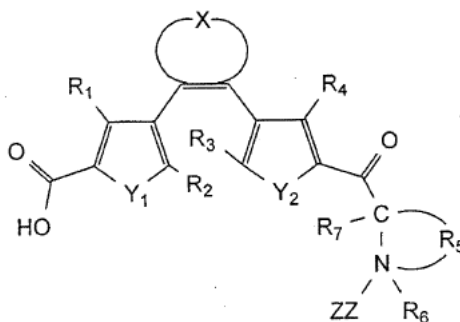
De acuerdo con otra forma de realización de la presente invención, en el compuesto intermedio antes definido, cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> es H, cada uno de R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es un grupo metilo, X es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>- y cada uno de Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> es S.

25 De acuerdo con otra forma de realización más de la presente invención, en el compuesto intermedio antes definido, Q es N y R<sub>5</sub> está ausente. Conforme a ello, dicho compuesto está representado por la siguiente fórmula II-1:



II-1

De acuerdo con otra forma de realización de la presente invención, en el compuesto intermedio antes definido, Q es C. Conforme a ello, dicho compuesto está representado por la siguiente fórmula II-2:



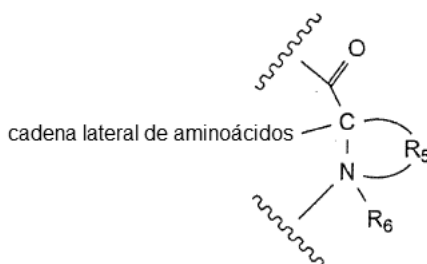
II-2

5 Los ejemplos de particular preferencia de los respectivos compuestos de la fórmula general II-2 se muestran en la Figura 6 (compuestos 4a, 4b y 4c).

10 El compuesto intermedio II (incluyendo, por ejemplo, los compuestos II-1 y II-2) también se menciona a veces como "bloque de construcción" y se diseña para reemplazar uno o varios aminoácidos naturales o no naturales dentro de una cadena cíclica o lineal de polipéptidos, y contiene el fragmento fotoconmutable de diarileno, que puede existir en la forma "abierto" o "cerrado" que son interconvertibles por luz de diferentes longitudes de onda (también cf. los esquemas 2 y 3 anteriores).

15 Este bloque de construcción es específicamente ventajoso porque el grupo amino dentro se imita, por ejemplo, por un fragmento de hidrazida de ácido carboxílico (Q = N, R<sub>5</sub> = ausente, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> = H) que asegura la compatibilidad con la síntesis de péptidos. El bloque de construcción se puede incorporar luego en las estructuras de los peptidomiméticos, por ejemplo, por protocolos de síntesis de péptidos estándar, tales como síntesis de péptidos en fase sólida Fmoc o Boc. El fragmento fotoconmutable de diarileno puede ser la forma "abierto" o "cerrado" durante la síntesis, por ejemplo, según lo que sea apropiado para lograr mejores rendimientos químicos de los peptidomiméticos.

En el caso preferido de que en el compuesto intermedio II, Q sea C (cf. la fórmula II-2 anterior), así como en el caso preferido de que en los compuestos Ia y Ib de la presente invención Q sea C, dichos compuestos pueden contener preferentemente un residuo de α-aminoácido (Q = C, R<sub>7</sub> = cadena lateral de aminoácido), de la siguiente manera:

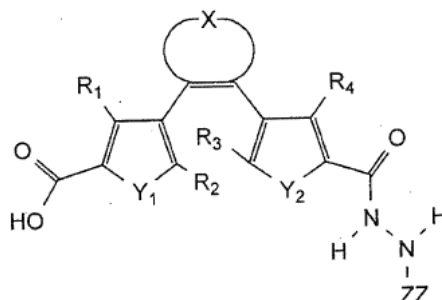


20 Como se mencionó con anterioridad, cuando R<sub>7</sub> representa una cadena lateral de aminoácidos, el grupo enlazante puede formar un aminoácido, que se puede usar de modo efectivo en la síntesis de los compuestos peptidomiméticos de la presente invención.

25 En particular, los respectivos compuestos se caracterizan ventajosamente por una mayor estabilidad de la fotoconmutación de la presente invención y se pueden usar más fácilmente en métodos estándar de la síntesis de péptidos en fase sólida. Más aún, también es posible ajustar la geometría apropiada del término N del compuesto intermedio II-2 variando el residuo de α-aminoácido. De modo más importante, si bien el α-aminoácido, en vez de la hidrazida, se puede seleccionar para ser parte de la secuencia de polipéptidos diana (por ejemplo, P<sub>3</sub>), el tamaño efectivo del elemento de fotocontrol extraño para el polipéptido diana se puede reducir hasta el sistema fotoconmutable molecular (ver el esquema 3) y la compatibilidad del elemento de control artificial con el polipéptido diana se mejora.

30

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método de producción del compuesto intermedio II-1 o una de sus sales, representado por la fórmula general II antes definida, en donde Q es N, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> es H y R<sub>5</sub> está ausente



II-1

en donde

5 ZZ representa un grupo protector;

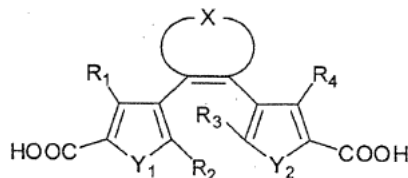
R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en H, un grupo alquilo, grupo alquenoilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en un grupo alquilo, grupo alquenoilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

10 X representa  $-(CH_xF_y)_z-$ , en donde  $x+y = 2$ ,  $x = 0, 1 \text{ ó } 2$ ,  $y = 0, 1 \text{ ó } 2$  y  $z = 2 \text{ a } 4$ ; e Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> se seleccionan, de modo independiente, de S, SO<sub>2</sub>, N, N-alquilo u O;

que comprende las etapas de

a) disolver un compuesto de ácido dicarboxílico representado por la fórmula general III-1, un reactivo de acoplamiento, una base y ZZ-hidrazina en un disolvente;



III-1

- 15 en donde cada uno de R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub>, X, Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> es como se definió con anterioridad;
- b) agitar la mezcla durante 30 minutos a 24 horas;
- c) verter la mezcla en exceso de agua para obtener un compuesto de la fórmula II-1 anterior o una de sus sales como un precipitado; y
- 20 d) opcionalmente disolver el precipitado en un disolvente orgánico y lavar la solución con bicarbonato de sodio acuoso y soluciones de cloruro de hidrógeno.

De acuerdo con otra forma de realización, el método para preparar el compuesto intermedio como se definió con anterioridad también puede incluir una etapa (e) de evaporación del disolvente y secado del producto.

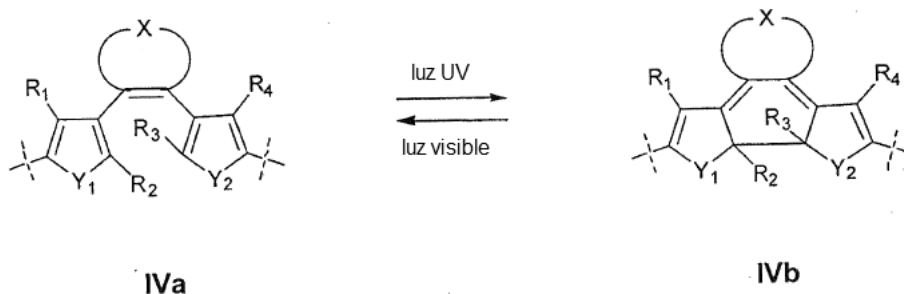
25 De acuerdo con otra forma de realización, la presente invención también se refiere al método antes definido para preparar el compuesto intermedio como se definió con anterioridad en su forma cerrada.

Si no se establece expresamente en otra parte, todas las definiciones proporcionadas con anterioridad, incluyendo las formas de realización específicas de R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub>, X, Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub>, Q y R<sub>5</sub> a R<sub>7</sub> también se aplican al método de preparación del compuesto intermedio de la presente invención.

En otra forma de realización en el método como se definió con anterioridad, el disolvente se selecciona de

5 dimetilformamida, dimetilsulfóxido, hexametilfosfotriamida; y/o el grupo protector se selecciona de t-butiloxicarbonilo (Boc) y fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc); y/o el reactivo de acoplamiento se selecciona del grupo que consiste en carbodiimidas, tetrafluoroborato de N,N,N,N-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)uronio (TBTU), hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HBTU), hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)-metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido (HATU) y hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio (PyBop); y/o la base se selecciona de trietilamina y diisopropiletilamina.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un uso de un sistema molecular fotoconmutable representado por el siguiente esquema incluyendo las fórmulas generales IVa y IVb, como un fragmento en un compuesto farmacéutica y/o diagnósticamente activo, que permite cambiar entre un estado activado y desactivado de él,



10 en donde R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en H, un grupo alquilo, grupo alquenoilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en un grupo alquilo, grupo alquenoilo, grupo



15 alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

X representa -(CH<sub>x</sub>F<sub>y</sub>)<sub>z</sub>, en donde x+y = 2, x = 0, 1 ó 2, y = 0, 1 ó 2 y z = 2 a 4;

Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> se seleccionan, de modo independiente, de S, SO<sub>2</sub>, N, N-alquilo u O.

20 Si no se establece expresamente en otra parte, todas las definiciones proporcionadas con anterioridad, incluyendo las formas de realización específicas de R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub>, X, Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> también se aplican al sistema molecular fotoconmutable de la presente invención.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al compuesto peptidomimético de acuerdo con la presente invención para usar en medicina. Con preferencia, el compuesto peptidomimético de acuerdo con la presente invención se usa en la terapia fotodinámica para tratar un trastorno localizado, es decir, un trastorno restringido a una región específica en el paciente.

25 En la presente, el término "paciente" no está específicamente limitado y en general incluye cualquier animal, en particular un ser humano que recibe un tratamiento médico.

Además, la presente invención se refiere al compuesto peptidomimético como se definió con anterioridad para usar en un método para tratar trastornos seleccionados de infección viral, bacteriana, parásita o fúngica, inflamación, heridas, hemorragias, trastornos hiperplásicos, neoplásicos, escleróticos, trombóticos o necróticos.

30 En otra forma de realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto peptidomimético como se definió con anterioridad, y opcionalmente uno o varios adyuvantes, diluyentes u otros agentes auxiliares.

35 El compuesto peptidomimético o la composición farmacéutica antes definidos se pueden formular en cualquier forma deseada tales como comprimidos, soluciones, geles, sprays (aerosoles) y ungüentos. Según la forma de formulación y la enfermedad, el compuesto o la composición farmacéutica se pueden administrar, por ejemplo, por vía oral, tópica, intravenosa, intramuscular, peritoneal, nasal o subcutánea, etc.

La dosis del compuesto peptidomimético de acuerdo con la presente invención puede depender de la naturaleza del compuesto peptidomimético, los síntomas, el estado (por ejemplo, inmunosupresión o hiperreactividad) o edad de un paciente, el tipo de administración, etc. Las dosis apropiadas se pueden determinar por un experto en la técnica.

La presente invención también se refiere a un método de tratamiento, en donde el compuesto peptidomimético de la presente invención se administra a un paciente para el tratamiento de trastornos seleccionados de infección viral, bacteriana, parásita o fúngica, inflamación, heridas, hemorragias, trastornos hiperplásicos, neoplásicos, escleróticos, trombóticos o necróticos.

5 Las Figuras muestran:

Figura 1 muestra el antibiótico cíclico Gramicidina S (GS) y tres peptidomiméticos fotosensibles derivados de él. Los análogos de GS se muestran en sus formas "abiertas".

Figura 2 muestra la cinética de la fotoconversión de GS-Sw(FP) de su forma "cerrada" a su forma "abierta" en una mezcla de agua-acetonitrilo, 3:1, a 25 °C, 100 µg/ml de concentración.

10 Figura 3 muestra cromatogramas de RP-HPLC analítica para GS-Sw(FP) adquiridos durante el curso de la iluminación del peptidomimético disuelto en una mezcla de agua-acetonitrilo, 3:1, 100 µg/ml por luz UV y luz visible. Los dos picos vecinos corresponden a los dos diastereómeros de la forma "cerrada" del peptidomimético (indicado).

Figura 4 muestra espectros de absorbancia UV/VIS de los peptidomiméticos, GS-Sw(FP) en la forma "abierta" (línea de puntos) y "cerrada" (línea sólida). La señal a 400 nm es un artefacto instrumental.

15 Figura 5 muestra un efecto antimicrobiano del peptidomimético GS-SwFP en la forma "abierta" sobre el crecimiento de *Staphylococcus xylosus*. El compuesto se aplicó a las bacterias en diferentes concentraciones y luego se irradió por luz visible. Algunas formas geométricas se cortaron de un papel que cubría toda la placa de Petri, de modo que el compuesto fotoconmutable se convirtiera en la forma "abierta" sólo en aquellas pequeñas áreas expuestas a la luz. (A) 6 µg/ml de la forma "cerrada" se convirtieron en la forma "abierta" en aproximadamente el 60% (según se calculó de la curva en la Fig. 2 y se describe en el ejemplo 3); (B) 6 µg/ml, convertidos en el 80%; (C) 8 µg/ml, convertidos en el 60%; (D) 8 µg/ml, convertidos en el 80%; cuando el análogo fotoconmutable de GS se activa exitosamente, exhibe una pronunciada actividad antimicrobiana como se ve a partir de las áreas transparentes, donde no se observa crecimiento bacteriano después de una incubación a 37 °C durante 18 horas.

20 Figura 6 muestra el compuesto intermedio II-2 (compuesto 4) y sus ejemplos de particular preferencia (compuestos 4a, 4b, 4c). El compuesto 4a contiene un residuo de L-prolina y es un ejemplo del bloque de construcción con el fragmento de aminoácido que contiene un anillo alifático cíclico; el compuesto 4b contiene un residuo de N-metilglicina y es un ejemplo del bloque de construcción de fotoconmutación con fragmento de aminoácido N-sustituido; el compuesto 4c contiene un residuo de glicina (cadena lateral de aminoácido = H) y es el ejemplo más cercano al bloque de construcción, donde el fragmento de -NH- se sustituye con -CH<sub>2</sub>-.

30 Figura 7 muestra el espectro <sup>1</sup>H RMN del compuesto 4a.

Figura 8 muestra el espectro <sup>1</sup>H RMN del compuesto 14.

Figura 9 muestra el espectro <sup>1</sup>H RMN del compuesto 7.

Figura 10 muestra el espectro <sup>1</sup>H RMN del compuesto 8.

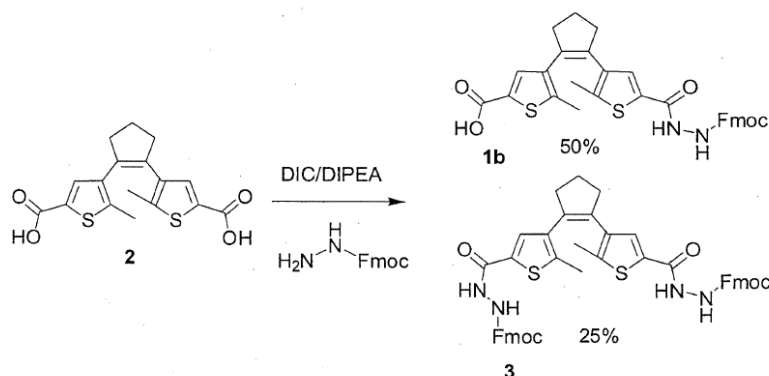
35 Lo compuestos peptidomiméticos de la presente invención son química y térmicamente estables y se transforman de modo reversible entre sus formas biológicamente activas e inactivas (o menos activas) con alta eficacia de conversión a través de la irradiación de la luz que tiene longitudes de onda apropiadas. Por otra parte, los compuestos peptidomiméticos de la presente invención son biocompatibles y resistentes a la fotodestrucción y las proteasas. En consecuencia, la actividad farmacéutica y/o diagnóstica de los peptidomiméticos de la presente invención se puede conmutar de modo efectivo a "encendido" y "apagado, que vuelve a los compuestos peptidomiméticos de la presente invención particularmente ventajosos en el tratamiento específico de trastornos localizados en un paciente. Activando sólo las propiedades farmacéuticas y/o diagnósticas del peptidomimético en el sitio deseado de acción (y desactivándolas fuera de esa área), se reducen los efectos colaterales y el índice terapéutico se incrementa de modo significativo. En particular, los compuestos peptidomiméticos de la presente invención se pueden emplear fácilmente en una variedad de aplicaciones establecidas, incluyendo terapia fotodinámica.

45 Además, el compuesto intermedio de la presente invención permite fácilmente preparar una gran variedad de compuestos peptidomiméticos, por ejemplo, usando péptidos naturales como precursores. La síntesis de tales peptidomiméticos es simple y se puede lograr usando métodos estándar tales como síntesis convergente, síntesis paralela, síntesis automatizada en fase sólida, etc.

A continuación, la presente invención también se ilustra por los siguientes ejemplos, pero no está limitada a ellos.

50

## Ejemplo 1: Síntesis del bloque de construcción fotoconmutable (1b)



El ácido dicarboxílico 2 inicial usado para la síntesis de 1b se obtuvo como se describe en la bibliografía [S. Gronowitz, K. Stenhamar, L. Svensson, *Heterocycles* 1981, 15, 947; T. B. Norsten, N. R. Branda, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 1784].

El compuesto 2 (5 g, 14,3 mmol) se disolvió en dimetilformamida (25 ml). Se añadieron N,N-diisopropilcarbodiimida (DIC, 1,76 g, 14 mmol) y posteriormente N,N-diisopropiletilamina (DIPEA, 3,7 g, 28,6 mmol) a la solución. Fmoc-hidrazina (Fmoc-NH-NH<sub>2</sub>; 3,56 g; 14 mmol) se añadió de inmediato. Después de agitar la mezcla de reacción durante la noche, se vertió en agua (100 ml). El precipitado se filtró, se disolvió en diclorometano (200 ml) y se lavó dos veces con 0,5 M de solución acuosa de bicarbonato de sodio (100 ml), luego con 0,5 M de solución acuosa de ácido clorhídrico (100 ml) a fin de remover el ácido dicarboxílico sin reaccionar. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio. La evaporación del diclorometano a presión reducida dio el material crudo que contenía, junto con el 1b deseable, también el subproducto 3. El subproducto no interfería con la síntesis de los péptidos en fase sólida, de modo que el material obtenido se usó sin purificación adicional. El 1b analíticamente puro se puede obtener usando RP-HPLC (mezcla de acetonitrilo/agua como el eluyente).

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>), δ = 1,90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,94 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,95-2,05 (m, 2H), 2,79 (t, J = 7,8 Hz, 4H), 4,2-4,4 (sistema CH<sub>2</sub>CH, dos rotámeros 4:1), 7,17-7,91 (m, protones aromáticos, 10l), 9,00-9,36 (rotámeros 1:4, 1l), 10,22-10,46 (rotámeros 4:1, 1l).

## Ejemplo 2: Síntesis y aislamiento de análogos de GS (procedimiento general)

Síntesis de análogos de GS: ciclo(<sup>D</sup>FPVO-1b-PVOL), ciclo(<sup>D</sup>FPVOL-1b-VOL) y ciclo(<sup>D</sup>FPVOL<sup>D</sup>F-1b-OL) (GS-Sw(LF), GS-Sw(FP), GS-Sw(PV)).

El antibiótico peptídico conocido Gramicidina S (GS) se usó como precursor. Este decapeptido cíclico se conoce por existir en una lámina beta antiparalela con las cadenas fijadas por dos giros beta ([PVOL<sup>D</sup>FPVOL<sup>D</sup>F]ciclo, con O = ornitina y DF = D-fenilalanina). Cuatro enlaces de hidrógeno estabilizan la conformación anfipática general de la molécula (cf. Figura 1). GS es fuertemente activo en la membrana contra las bacterias Gram-positivas, pero tiene ciertos efectos colaterales hemolíticos indeseables sobre los glóbulos rojos y es significativamente resistente a la proteasa. El fragmento fotoconmutable de diariletano no polar en la forma "abierta" es bien apropiado para reemplazar las unidades dipeptídicas no polares en uno de los giros β, ya sea L<sup>D</sup>F, <sup>D</sup>FP o PV, dando así los respectivos peptidomiméticos GS-Sw(LF), GS-Sw(FP) y GS-Sw(PV) (también cf. la Figura 1).

La síntesis en fase sólida a base de Fmoc estándar y los reactivos asequibles en comercios se usaron para la síntesis todos los análogos de GS. Se usó resina de clorotritilo precargada con <sup>D</sup>fenilalanina con carga de 0,73 mmol/g (200 mg, 1 equiv) para sintetizar los precursores lineales. El acoplamiento del aminoácido se realizó usando las siguientes relaciones molares de los reactivos: Fmoc-aminoácido (4 equiv), HOBt (4 equiv), HBTU (3,9 equiv), DIPEA (8 equiv). La incorporación del bloque de construcción de diariletano se realizó por acoplamiento con 1b (en la forma de la mezcla cruda como se obtuvo en el ejemplo 1 anterior; la cantidad se tomó para proporcionar 1,5 equiv de 1b, el fragmento fotoconmutable en la forma "abierta"), HOBt (1,5 equiv), HBTU (1,45 equiv.), DIPEA (3 equiv). El tiempo de acoplamiento en todos los casos era de 1 hora. La desprotección de N-Fmoc se llevó a cabo por tratamiento de la resina con 20% de piperidina en DMF durante 20 min. Después de completar la síntesis, la resina se lavó con diclorometano y se secó al vacío durante 24 h. Los precursores lineales se escindieron de la resina por una mezcla de hexafluoroisopropanol y diclorometano (1:3) (manteniendo la protección de la cadena lateral de los residuos de ornitina). Los productos volátiles de la solución filtrada se soplaron por flujo de argón. Después de disolver el residuo en una mezcla de acetonitrilo-agua (1:1) y posterior liofilización, se obtuvieron los precursores lineales crudos y se usaron para la ciclación sin ulterior purificación. La conversión de los precursores lineales en los peptidomiméticos cíclicos objeto se realizó en diclorometano (1L, el precursor no se disolvió por completo) por adición de solución de PyBOP (3 equiv) y HOBt (3 equiv) en dimetilformamida (1 ml) seguido por DIPEA (6 equiv) a la suspensión del

correspondiente precursor. La mezcla de reacción se agitó durante 8 h y se añadieron cantidades adicionales (lo mismo que antes) de los reactivos (PyBOP, HOBt, DIPEA). Después de 16 h, el disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se liofilizó. El cóctel de desprotección (ácido trifluoroacético, triisopropilsilano y agua, 92,5:2,5:5 en volumen, 10 ml) se añadió al residuo. Después de 15 min, las sustancias volátiles se soplaron por flujo de argón y el residuo se liofilizó.

Los peptidomiméticos cíclicos crudos se purificaron usando RP-HPLC en dos etapas: primero en una columna preparativa C18 (Vydac®, 22x250 mm) con un gradiente lineal A:B del 8% de B/min y una tasa de flujo de 17 ml/min, seguido por la segunda etapa en una columna semipreparativa C18 (Vydac®, 10x250 mm) con un gradiente lineal A:B del 4% de B/min y una tasa de flujo de 6 ml/min, donde A es una mezcla del 10% de acetonitrilo y 90% de 5 mM de HCl; B es una mezcla del 90% de acetonitrilo y 10% de 5 mM de HCl. La pureza de los peptidomiméticos se controló en la columna analítica C18 (Vydac®, 4,6x250 mm) con un gradiente lineal A:B de 1% de B/min y una tasa de flujo de 1,5 ml/min. La identidad de cada peptidomimético se confirmó por espectrometría de masa MALDI-TOF; m/z = 1225,4 [GS-Sw(LF)], 1241,5 [GS-Sw(FP)], 1289,5 [GS-Sw(PV)].

Ejemplo 3: Caracterización de las propiedades fotocromáticas de los análogos de GS.

Cada uno de los análogos de GS se ensayó respecto de la eficacia de fotoconversión a partir del estado más flexible de la unidad de diarileteno (forma "abierta") en el estado rígido (forma "cerrada") después de irradiación por luz UV. Las soluciones de cada peptidomimético, GS-Sw(LF), GS-Sw(FP) y GS-Sw(PV), se prepararon con una concentración de 100 µg/ml (en una mezcla de agua-acetonitrilo, 3:1). Luego se determinó la extensión de la conversión del estado "abierto" al estado "cerrado" después de la irradiación por luz UV usando RP-HPLC (columna analítica C18, un gradiente lineal A:B de 4% de B/min, una tasa de flujo de 1,5 ml/min) después de 0, 5, 25, 50 y 75 min de exposición a la luz. Se usó una lámpara UV de longitud de onda corta estándar (Spectroline®XX-15F/F) y las soluciones se colocaron a 10 cm de distancia de la lámpara a 25 °C. La transformación procedió hasta el 35-80%, según las condiciones (ver las Figuras 2 y 3 para los resultados en GS-Sw(FP)). La extensión de la conversión se podría mejorar considerablemente por adición de agentes caotrópicos a las soluciones, cuando los análogos de GS fueron conmutados a "cerrados" en 1 M de solución acuosa de urea (ver más abajo).

También se ensayó la fotoconversión inversa del peptidomimético GS-Sw(FP) de la forma "cerrada" a la forma "abierta" por luz visible. Se usó una solución de péptido en la forma "cerrada" de color rosa (en una mezcla de agua-acetonitrilo, 3:1, 100 µg/ml). La conversión del peptidomimético de la forma "cerrada" a la forma "abierta" se determinó por RP-HPLC (columna analítica C18, un gradiente lineal A:B de 4% de B/min, una tasa de flujo de 1,5 ml/min) después de 0,25, 1,5, 5,5, 7,5 min de irradiación por luz visible. Se usó una lámpara de halógeno brillante (250 vatios) y las soluciones se colocaron a una distancia de 10 cm desde la fuente de luz. Los datos obtenidos se ajustaron bien a la ecuación exponencial  $y = 1 - \exp(-t/r)$ , donde  $y$  es una conversión de forma "cerrada" en la forma "abierta",  $t$  es el tiempo de iluminación y  $r$  es el tiempo de conversión media. A fin de obtener una transformación del 60%, el tiempo de iluminación debería ser de 7,5 min, mientras que se logra un 80% de conversión en 12,5 min, etc. La conversión de "cerrado" a "abierto" se podría lograr en un 100%.

Las soluciones madre se prepararon para todos los siete compuestos purificados por HPLC (GS de tipo salvaje y formas tanto "abierta" como "cerrada" para cada uno de los tres peptidomiméticos), con una concentración de 1 mg/ml según se verificó por RP-HPLC analítica. Para preparar las soluciones madre de GS y sus análogos en la forma "abierta", se pesaron los correspondientes compuestos y se disolvieron en 50% de etanol para obtener la concentración deseada de 1 mg/ml. Para preparar las soluciones madre de los análogos de GS en la forma "cerrada", se usó el siguiente procedimiento:

Los compuestos se disolvieron a una concentración de 100 µg/ml en 1 M de urea acuosa y se expusieron a luz UV durante 25 min como se describió con anterioridad. Las formas "abierta" y "cerrada" se separaron usando RP-HPLC (columna preparativa C18, gradiente lineal A:B de 8% de B/min, una tasa de flujo de 17 ml/min) y se liofilizaron. Los correspondientes tiempos de retención se enumeran en la Tabla 1. Las fracciones liofilizadas correspondientes a la forma "cerrada" de los peptidomiméticos se disolvieron en una pequeña cantidad del 50% de etanol y las concentraciones se determinaron por RP-HPLC analítica. Todas estas manipulaciones se realizaron en la oscuridad.

Tabla 1: tiempos de retención en los que GS y sus análogos se eluyeron de la columna C18 de HPLC analítica (Vydac®, 4,6x250 mm) con un gradiente lineal A:B de 1% de B/min y una tasa de flujo de 1,5 ml/min).

	GS	GS-Sw(LF), "abierta"	GS-Sw(FP), "abierta"	GS-Sw(PV), "abierta"	GS-Sw(LF), "cerrada"	GS-Sw(FP), "cerrada"	GS-Sw(PV), "cerrada"
RT[min]	44,9	34,9	40,1	41,5	24,2	26,4	31,6

Las dos formas aisladas de los peptidomiméticos tienen diferentes espectros de absorbancia, lo que muestra los rasgos característicos de los compuestos que llevan los cromóforos de diarileteno [M. Irie. Photochromism of

diarylethene single molecules and single crystals. Photochem. Photobiol. Sci. 2010, 9, 1535-1542]. Los espectros de absorbancia UV/VIS para uno de los peptidomiméticos, GS-Sw(FP) en los estados “cerrado” y “abierto” se muestran en la Fig. 4.

5 Ejemplo 4: Fotoconmutación de la actividad antimicrobiana Las actividades antimicrobianas de GS y sus análogos se midieron usando ensayo de microdilución en caldo usando un protocolo estándar [Daniel Amsterdam (1996). Ensayo de susceptibilidad de antimicrobianos en medios líquidos. En: Antibiotics in laboratory medicine, Loman, V., ed., 4th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, pp. 52-111]. Los compuestos peptidomiméticos se ensayaron respecto de las cepas bacterianas DSM 1103 de Escherichia coli, DSM 1104 de Staphylococcus aureus, DSM 1708 de Staphylococcus epidermidis y DSM 20267 de Staphylococcus xylosus. Los análogos de GS en la forma “cerrada” se prepararon por adelantado por medio de RP-HPLC y se almacenaron protegiéndolos de la luz. Se enumeran las correspondientes concentraciones inhibitoras mínimas (MIC) en la Tabla 2, donde un valor pequeño de MIC indica una elevada actividad antimicrobiana, y viceversa. Se ve así que todos los análogos de GS fotoconmutables tienen una buena actividad antimicrobiana en la forma “abierto”, mientras que son mucho menos activos cuando la fotoconmutación está en el estado “cerrado” rígido.

15 Tabla 2: Actividades antimicrobianas de GS y sus análogos fotoconmutables. Los valores de la concentración inhibitora mínima (MIC) se dan en µg/ml.

	GS	GS-Sw(LF), “abierto”	GS-Sw(FP), “abierto”	GS-Sw(PV), “abierto”	GS-Sw(LF), “cerrada”	GS-Sw(FP), “cerrada”	GS-Sw(PV), “cerrada”
E. coli	8	>128	128	>128	64	>128	>128
S. aureus	2	8	4	4	128	32	16
S. epidermidis	2	16	8	4	128	64	32
S. xylosus	1	8	8	4	128	32	32

20 Como puede verse en la Tabla 2, es posible definir los intervalos de concentración terapéuticamente importantes en los que los peptidomiméticos en la forma “abierto” suprimen el crecimiento bacteriano, mientras que quedan inactivos en la forma “cerrada”. Otro experimento tenía por objeto hallar estas condiciones óptimas para el tratamiento con el peptidomimético GS-SwFP se ilustra en la Fig. 5.

Ejemplo 5: Fotoconmutación de la actividad hemolítica

25 Otra actividad biológica de GS, GS-Sw(LF), GS-Sw(FP) y GS-Sw(PV), que es importante para las aplicaciones prácticas (in vivo), es la actividad hemolítica y esta se puede activar y desactivar también de modo reversible por luz, se ha de notar que la actividad hemolítica es el mayor efecto colateral de muchos péptidos antimicrobianos cuando se aplican sistémicamente que impide su aplicación como fármacos.

30 Para ensayar las actividades hemolíticas de GS y sus análogos, se obtuvieron muestras de sangre humana conservada del hospital municipal de Karlsruhe y se lavaron cuatro veces en tampón de Tris, pH 7,6, a 4 °C. Se incubaron alícuotas de glóbulos sanguíneos con diferentes concentraciones de péptido/peptidomiméticos durante 30 min a 37 °C y luego se centrifugaron. La absorción del sobrenadante a 540 nm da la extensión de la hemólisis, respecto del 0% tomado del control libre de péptido y del 100% después del tratamiento con Triton X-100 (no interfiere con este análisis, las muestras con análogos de GS en la forma “cerrada” se volvieron a convertir en sus formas “abierto” por exposición de 30 min a la luz visible). Los valores HC<sub>50</sub>, donde se lisó el 50% de los eritrocitos, se determinaron de las curvas dependientes de la concentración y se enumeran en la Tabla 3. Valores pequeños de HC<sub>50</sub> indican una elevada actividad hemolítica, y viceversa. Todos los análogos de GS en el estado “cerrado” eran mucho menos hemolíticos que en el estado “abierto”, justo como se observó para sus actividades antimicrobianas. Esto prueba por medio de varios ensayos independientes que las actividades biológicas de los análogos de GS fotoconmutables se podrían controlar por la luz.

35 Tabla 3: Valores del 50% de hemólisis (H<sub>50</sub>) para GS y cada uno de sus análogos en las formas “abierto” y “cerrada”

	GS	GS-Sw(LF), “abierto”	GS-Sw(LF), “cerrada”	GS-Sw(FP), “abierto”	GS-Sw(FP), “cerrada”	GS-Sw(PV), “abierto”	GS-Sw(PV), “cerrada”
H <sub>50</sub> , µg/ml	12	47	>128	6,5	72	6	58

40



## Ejemplo 6: Síntesis del bloque de construcción fotoconmutable 4a

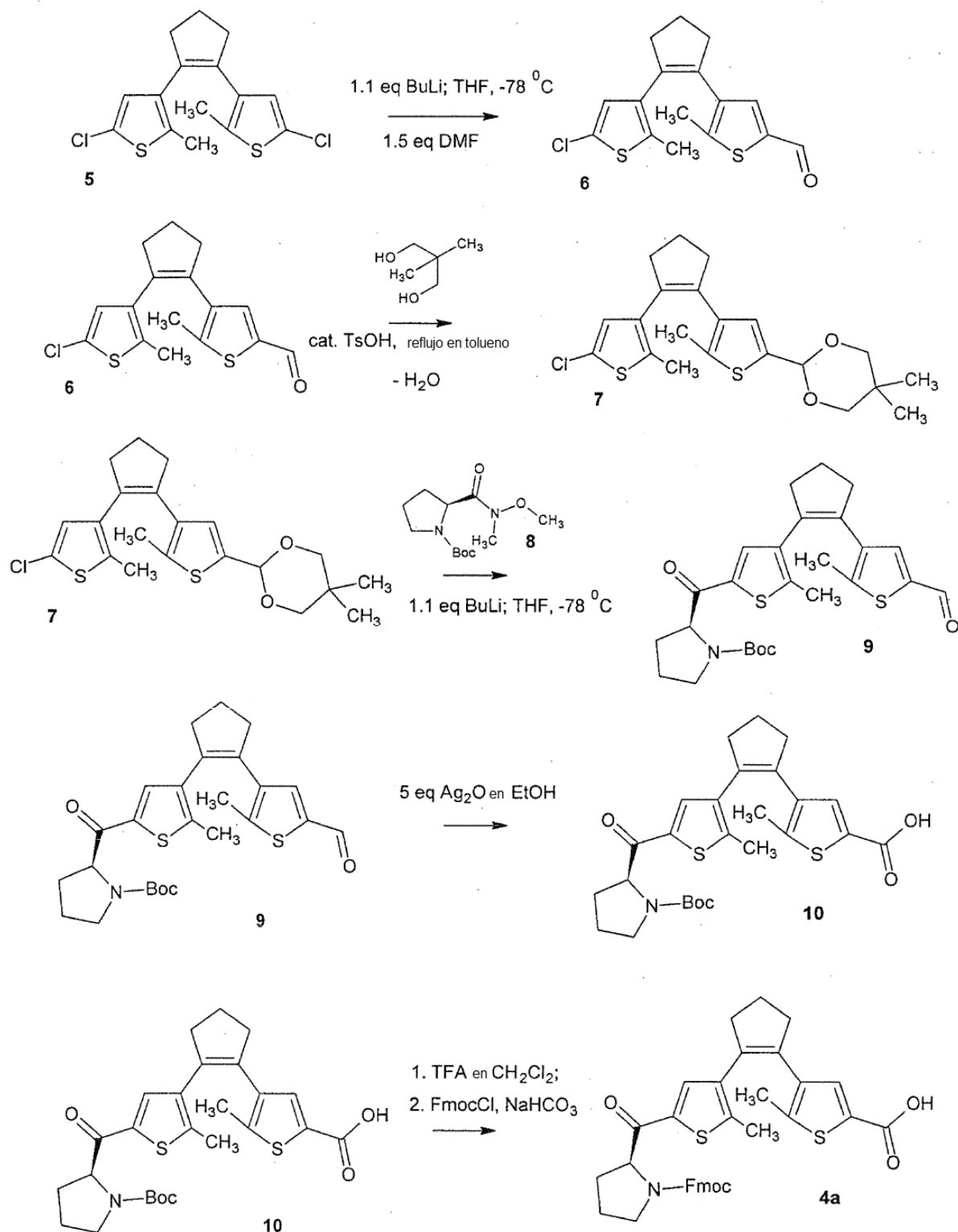
Síntesis de 6. Los 15 g de compuesto 5 (0,0456 mol) se disolvieron en 250 ml de tetrahidrofurano seco bajo una atmósfera inerte de gas argón. La solución se enfrió hasta  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  por medio de baño de enfriamiento con hielo seco. A la solución enfriada se añadieron 20 ml (0,051 mol) de la solución 2,5 M de butil-litio en hexano. La mezcla de reacción se dejó llegar hasta la temperatura de  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  y luego se enfrió otra vez hasta  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Se añadieron 4 g (0,0548 mol) de la dimetilformamida a la solución a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La solución se calentó lentamente (durante media hora) hasta  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se agitó a esa temperatura durante una hora más. Luego la solución se vertió en 200 ml de agua y se añadieron 55 ml (0,055 mol) de ácido clorhídrico 1 M. El producto 6 se extrajo por 200 ml de éter dietílico. La fase orgánica separada se secó por sulfato de magnesio anhidro y los disolventes volátiles se removieron a presión reducida. Los 15 g obtenidos de material crudo sin purificación se usaron en la siguiente etapa de síntesis.

Síntesis de 7. Los 15 g de compuesto crudo 6 (aproximadamente 0,0456 mol) se disolvieron en 250 ml de tolueno; se añadieron 7,1 g (0,0684 mol) de 2,2-dimetil-1,3-propanodiol y 0,1 g de ácido p-toluensulfónico. Luego la solución se calentó a reflujo con aparato de Dean-Stark hasta que toda el agua que se había formado en el proceso de reacción se removiera (0,82 g). El tolueno se removió a presión reducida. El producto puro 7 se obtuvo después de cromatografía en columna en gel de sílice usando n-hexano/acetato de etilo 10:1 como eluyente. El rendimiento era de 14,2 g (76 % del teórico) en dos etapas de 5 a 7.

Síntesis de 9. Los 3 g (0,00733 mol) de compuesto 7 se disolvieron en 50 ml de tetrahidrofurano seco bajo una atmósfera inerte de gas argón. La solución se enfrió hasta  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  por medio de baño de enfriamiento con hielo seco. A la solución enfriada se añadieron 3,52 ml (0,0088 mol) de la solución 2,5 M de butil-litio en hexano. La mezcla de reacción se dejó llegar hasta la temperatura de  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  y luego se enfrió otra vez hasta  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Se añadieron 2,27 g (0,0088 mol) del compuesto 8 a la solución a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . El compuesto 8 se sintetizó de forma análoga al protocolo publicado por Z. H. Zhou et al., *Heteroatom Chemistry*, 2003, 7, 603-606. DOI: 10,1002/hc.10195. La solución se calentó lentamente (durante media hora) hasta  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se agitó a esa temperatura durante una hora más. Luego la solución se vertió en 100 ml de agua y se añadieron 9 ml (0,009 mol) de ácido clorhídrico 1 M. El producto 9 se extrajo con 100 ml de éter dietílico. La fase orgánica separada se secó por sulfato de magnesio anhidro y los disolventes volátiles se removieron a presión reducida. Los productos puros se obtuvieron después de cromatografía en columna en gel de sílice usando como eluyente n-hexano/acetato de etilo 5:1. El rendimiento era de 3,1 g (73 % del teórico).

Síntesis de 10. Los 3,1 g (0,0064 mol) de compuesto 9 se disolvieron en 40 ml de etanol. Luego se añadieron 7,42 g (0,032 mol) de óxido de plata recién preparado y 0,5 g (0,0128 mol) de hidróxido de sodio y se agitaron activamente durante dos horas. Se añadieron 20 ml (0,02 mol) de ácido clorhídrico 1 M y 40 ml de etanol. El precipitado formado se filtró en un papel de filtro y la solución con el producto se extrajo dos veces con 100 ml de éter dietílico. Las fases orgánicas separadas se combinaron y se secaron por sulfato de magnesio anhidro y los disolventes volátiles se removieron a presión reducida. El rendimiento era de 3,2 g (100% del teórico) de compuesto puro 10.

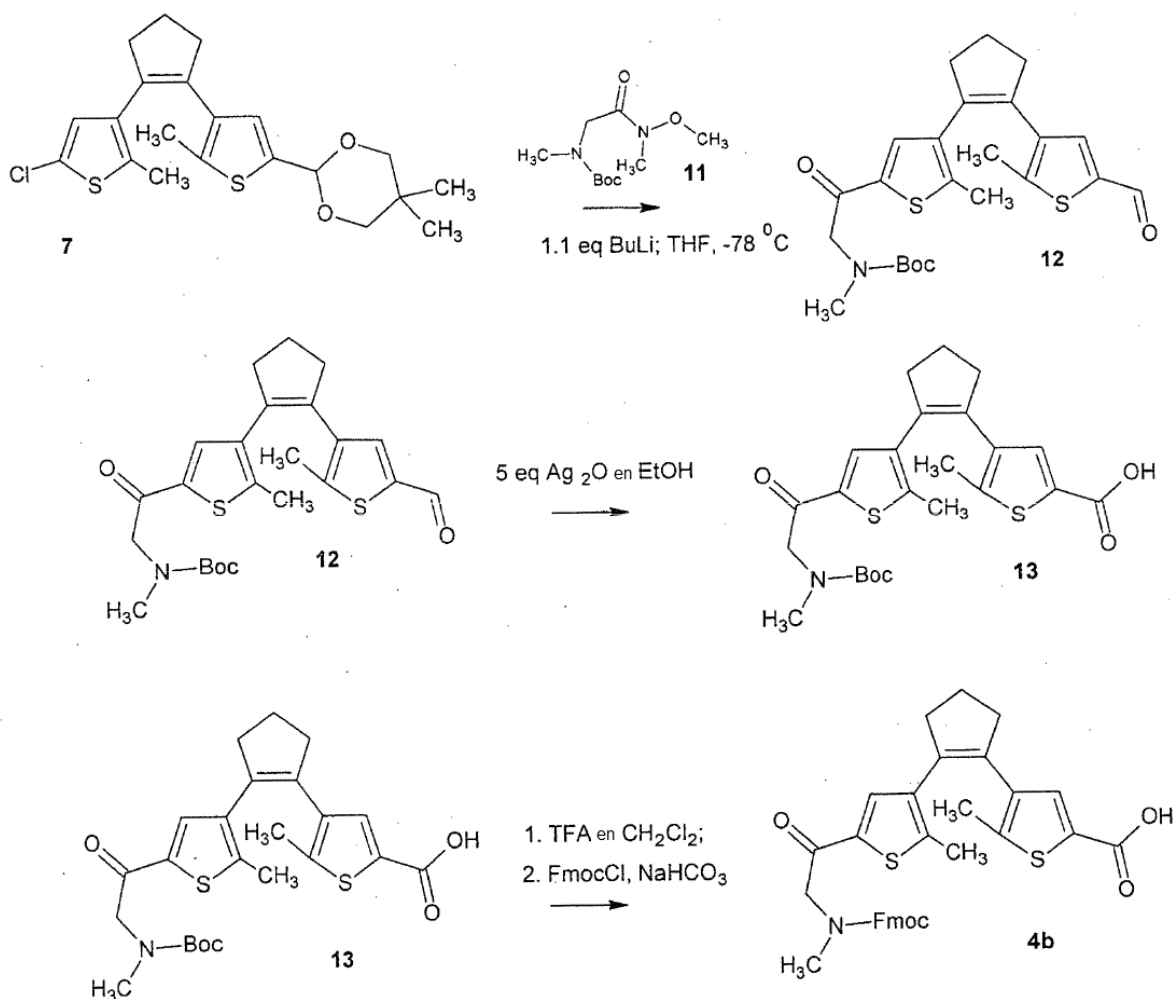
Síntesis de 4a. Los 3,2 g (0,0064 mol) de compuesto 10 se disolvieron en 20 ml de diclorometano. Se añadieron 2 ml de ácido trifluoroacético a la solución y la solución se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. Luego los disolventes volátiles se removieron a presión reducida. Luego el aceite amarillo obtenido se disolvió en 50 ml de agua/acetona 1:1. Se añadieron 1,075 g (0,0128 mol) de bicarbonato de sodio y 3,3 g (0,0128 mol) de cloruro de fluorenilmetoxicarbonilo. La solución se mantuvo bajo agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. Luego lentamente se añadieron 12,8 ml (0,0128) de ácido clorhídrico 1 M y el producto 4a se extrajo dos veces por 100 ml de éter dietílico. Las fases orgánicas separadas se combinaron y se secaron por sulfato de magnesio anhidro y los disolventes volátiles se removieron a presión reducida. El compuesto puro 4a se obtuvo después de cromatografía en columna en gel de sílice con eluyente n-hexano/acetato de etilo 5:1. El rendimiento era de 4 g (91% del teórico).



Esquema 3: Síntesis del compuesto 4a

Ejemplo 7: Síntesis del compuesto 4b

El compuesto 4b se sintetizó usando los mismos protocolos as en el caso de la preparación de 4a.



Esquema 4: Síntesis del compuesto 4b

## Ejemplo 8: Síntesis del compuesto 4c

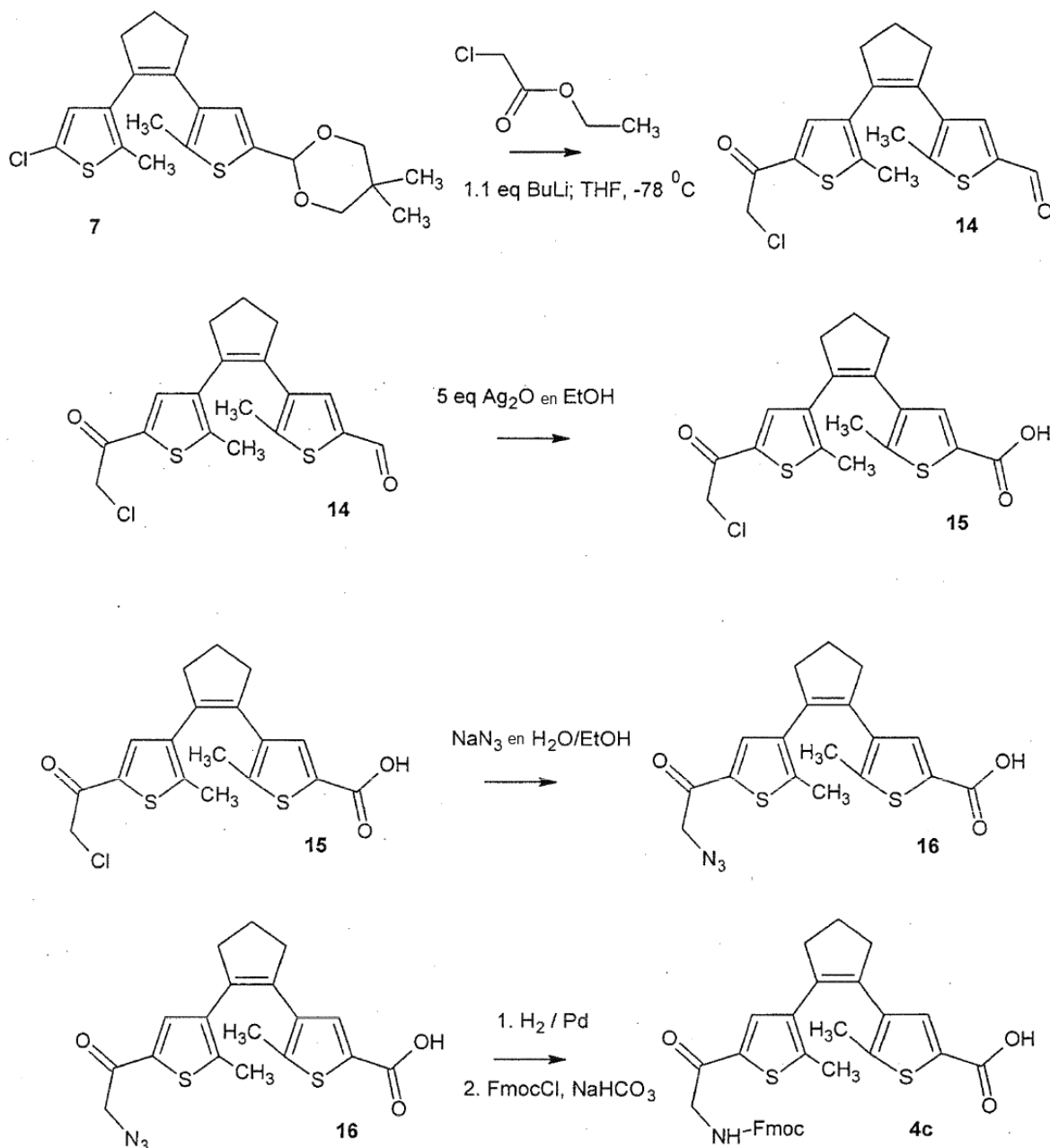
5 Síntesis de 14. Los 3 g del compuesto 7 (0,0073 mol) se disolvieron en 75 ml de tetrahidrofurano seco bajo una atmósfera inerte de argón. La solución se enfrió hasta  $-78^{\circ}\text{C}$  por medio de baño de enfriamiento con hielo seco. A la solución enfriada se añadieron 3,52 ml (0,0088) de la solución 2,5 M de butil-litio en hexano. La mezcla de reacción se dejó llegar a la temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$  y luego se enfrió otra vez hasta  $-78^{\circ}\text{C}$ . Se añadieron 1,08 g (0,0088 mol) del cloroacetato de etilo a la solución a  $-78^{\circ}\text{C}$ . La solución se calentó lentamente (durante media hora) hasta  $0^{\circ}\text{C}$  y se agitó a esa temperatura durante otra hora más. Luego la solución se vertió en 200 ml de agua y se añadieron 55 ml (0,055 mol) de ácido clorhídrico 1 M. El producto 6 se extrajo por 200 ml de éter dietílico. La fase orgánica separada se secó por sulfato de magnesio anhidro y los disolventes volátiles se removieron a presión reducida. El compuesto 14 puro se obtuvo después de cromatografía en columna en gel de sílice con eluyente n-hexano/acetato de etilo 4:1. El rendimiento era de 1,8 g (54% del teórico).

15 Síntesis de 15. La conversión del compuesto 14 en 15 se realizó usando el mismo protocolo que para convertir el compuesto 9 en 10 con un rendimiento del 100%.

20 Síntesis de 16. Se disolvieron 1,8 g (0,00472 mol) del compuesto 15 en 20 ml de agua/etanol 1:1. Se añadieron 0,5 g (0,0076 mol) de azida sódica. La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas a  $40^{\circ}\text{C}$ . Luego se añadieron 50 ml de agua y el producto 16 se extrajo por 100 ml de éter dietílico. La fase orgánica se secó por sulfato de magnesio anhidro y los disolventes volátiles se removieron a presión reducida. Los 1,81 g obtenidos de material crudo se usaron en la siguiente etapa de síntesis sin purificación.

Síntesis de 4c. Se disolvieron 1,81 g (0,00470 mol) del compuesto 16 en 20 ml de metanol en un recipiente de vidrio de 500 ml en volumen. Se añadieron 100 mg de paladio, 10% en carbón. El aire del recipiente de vidrio se bombeó hasta afuera y se bombeó gas hidrógeno hacia adentro. Después de ello, el recipiente de vidrio se conectó con el balón con

5 gas hidrógeno y la solución se mantuvo bajo agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. Luego el recipiente de vidrio se conectó con vacío para remover el gas hidrógeno y la solución se filtró. Se removió el metanol para dar un aceite amarillo. Luego el aceite amarillo obtenido se disolvió en 50 ml de agua/acetona 1:1. Se añadieron 0,79 g (0,0094 mol) de bicarbonato de sodio y 2,4 g (0,0094 mol) de cloruro de fluorenilmetoxicarbonilo. La solución se agitó activamente durante 4 horas a temperatura ambiente. Luego lentamente se añadieron 9,4 ml (0,0094) de ácido clorhídrico 1 M y el producto 4a se extrajo dos veces por 100 ml de éter dietílico. Las fases orgánicas separadas se combinaron y se secaron por sulfato de magnesio anhidro y los disolventes volátiles se removieron a presión reducida. El compuesto puro 4b se obtuvo después de cromatografía en columna en gel de sílice con eluyente n-hexano/acetato de etilo 5:1. El rendimiento era 2,74 g (90% del teórico).



10

Esquema 5: Síntesis de compuesto 4c



<221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Orn

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Orn

10 <400> 2

Pro Val Xaa Leu Xaa Pro Val Xaa  
 1 5

15 <210> 3  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> artificial

20 <220>  
 <223> Gramicidina S modificada

25 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA\_MISC  
 <222> (1)..(8)  
 <223> partes de un peptidomimético cíclico

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Orn

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Orn

40 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA\_MISC  
 <222> (7)..(7)  
 <223> D-fenilalanina

<400> 3

Val Xaa Leu Xaa Pro Val Xaa Leu  
 1 5

45 <210> 4  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> artificial

50 <220>  
 <223> Gramicidina S modificada

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Orn

60 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA\_MISC  
 <222> (1)..(8)  
 <223> parte de un peptidomimético cíclico

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC  
<222> (3)..(3)  
<223> D-fenilalanina

5 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (6)..(6)  
<223> Orn

10 <220>  
<221> CARACTERÍSTICA\_MISC  
<222> (8)..(8)  
<223> D-fenilalanina

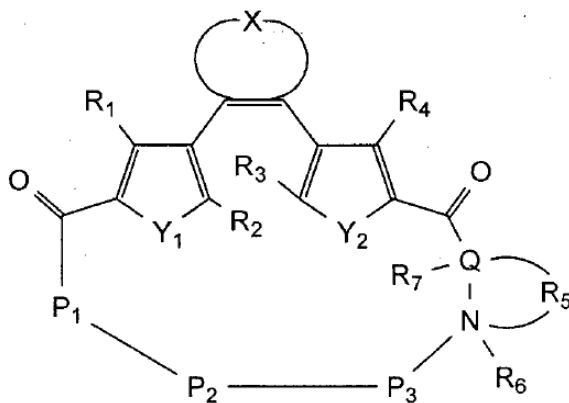
15 <400> 4

Xaa Leu Xaa Pro Val Xaa Leu Xaa  
1 5

20

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto peptidomimético representado por la fórmula general Ia o una de sus sales,

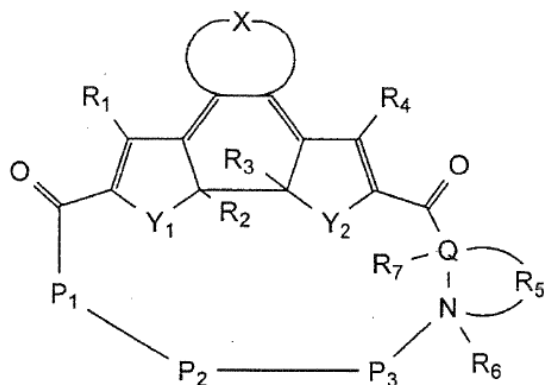


Ia

en donde

- 5 R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en H, un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;
- R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;
- X representa  $-(CH_xF_y)_z-$ , en donde  $x+y = 2$ ,  $x = 0, 1 \text{ ó } 2$ ,  $y = 0, 1 \text{ ó } 2$  y  $z = 2 \text{ a } 4$ ;
- 10 Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> se seleccionan, de modo independiente, de S, SO<sub>2</sub>, N, N-alquilo u O;
- P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> representan cada uno, de modo independiente, un residuo de aminoácido simple o una secuencia de péptidos de 2 o más residuos de aminoácidos;
- P<sub>2</sub> está ausente o representa un residuo de aminoácido simple o una secuencia de péptidos de 2 o más residuos de aminoácidos;
- 15 Q es C o N;
- R<sub>5</sub> se selecciona de H, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo o un grupo heteroalquinilo y está ligado con Q o puede formar un anillo junto con Q y N o R<sub>5</sub> está ausente;
- R<sub>6</sub> se selecciona de H, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo, grupo heteroalquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo y grupo heteroarilo o está ausente; y
- 20 R<sub>7</sub> se selecciona de H, una cadena lateral de aminoácido natural, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo, grupo heteroalquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo o un grupo heteroarilo;
- siempre que, cuando P<sub>2</sub> está ausente, P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> no estén ligados entre sí;
- siempre que, cuando Q es N, R<sub>5</sub> esté ausente y
- 25 siempre que, cuando R<sub>5</sub> forma un anillo junto con Q y N, R<sub>6</sub> esté ausente.
2. Un compuesto peptidomimético representado por la fórmula general Ib o una de sus sales,





**Ib**

en donde R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub>, X, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> a P<sub>3</sub>, Q y R<sub>5</sub> a R<sub>7</sub> son como se definen en la reivindicación 1,

siempre que, cuando P<sub>2</sub> está ausente, P<sub>1</sub> y P<sub>3</sub> no estén ligados entre sí;

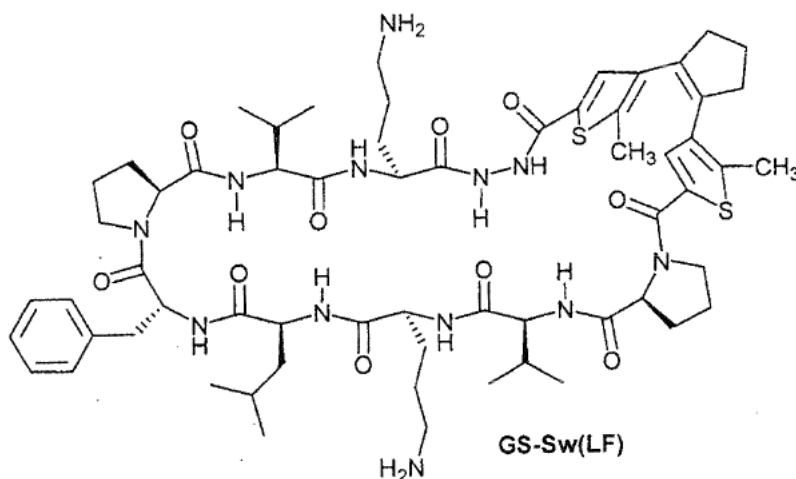
siempre que, cuando Q es N, R<sub>5</sub> esté ausente y

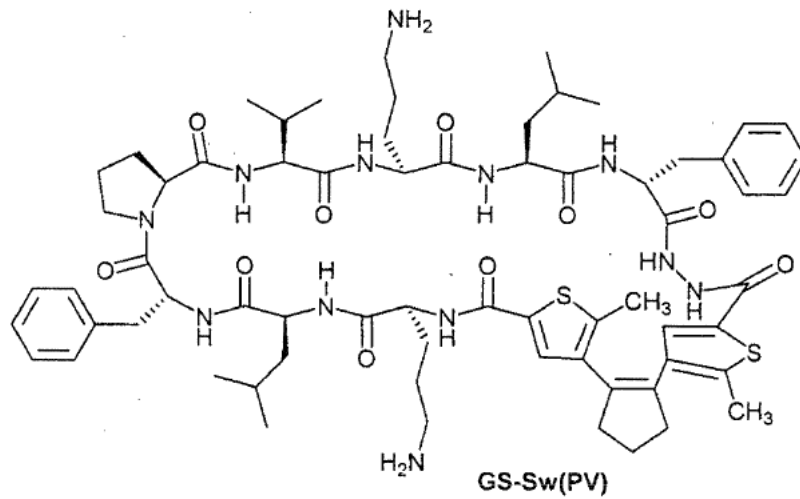
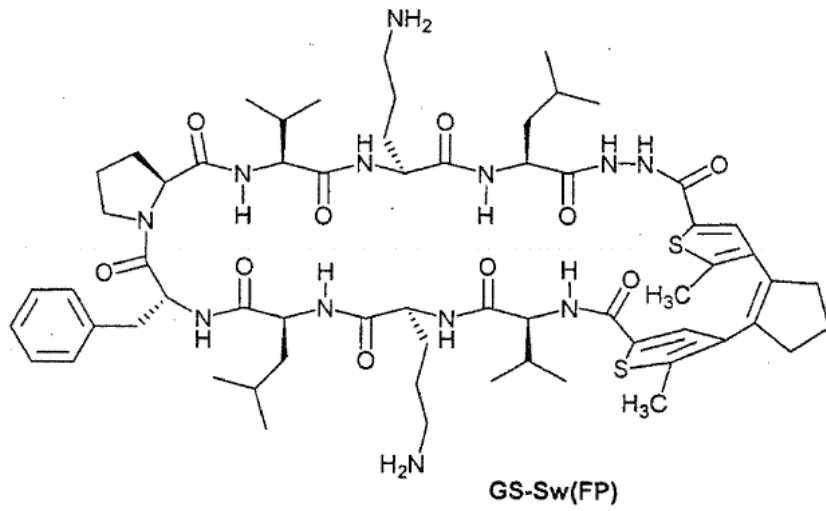
5 siempre que, cuando R<sub>5</sub> forma un anillo junto con Q y N, R<sub>6</sub> esté ausente.

3. El compuesto peptidomimético según la reivindicación 1 ó 2, en donde R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, de H y un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, de un grupo metilo y un grupo  $\begin{matrix} \text{etilo} & & \text{y} & & \text{X} \\ \text{-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-} & \text{o} & \text{-CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{-} & \text{y} & \text{es} \end{matrix}$

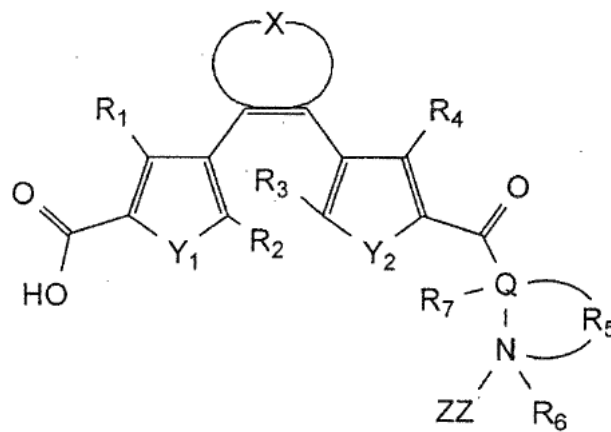
10 4. El compuesto peptidomimético según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> es H, cada uno de R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es un grupo metilo, X es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>- y cada uno de Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> es S.

5. El compuesto peptidomimético según la reivindicación 1, representado por las siguientes fórmulas GS-Sw (LF), GS-Sw (FP) y GS-Sw (PV):





6. Un compuesto intermedio representado por la fórmula general II o una de sus sales, útiles para la síntesis del compuesto peptidomimético según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5:



II

en donde

ZZ representa un grupo protector;

R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en H, un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

- 5 R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

X representa  $-(CH_xF_y)_z-$ , en donde  $x+y = 2$ ,  $x = 0, 1 \text{ ó } 2$ ,  $y = 0, 1 \text{ ó } 2$  y  $z = 2 \text{ a } 4$ ;

Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> se seleccionan, de modo independiente, de S, SO<sub>2</sub>, N, N-alquilo u O;

Q es C o N;

- 10 R<sub>5</sub> se selecciona de H, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo o un grupo heteroalquinilo y está ligado con Q o puede formar un anillo junto con Q y N o R<sub>5</sub> está ausente;

R<sub>6</sub> se selecciona de H, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo, grupo heteroalquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo y grupo heteroarilo o está ausente; y

- 15 R<sub>7</sub> se selecciona de H, una cadena lateral de aminoácidos, un grupo alquilo, grupo heteroalquilo, grupo alquenilo, grupo heteroalquenilo, grupo alquinilo, grupo heteroalquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo o un grupo heteroarilo;

siempre que, cuando Q es N, R<sub>5</sub> esté ausente y

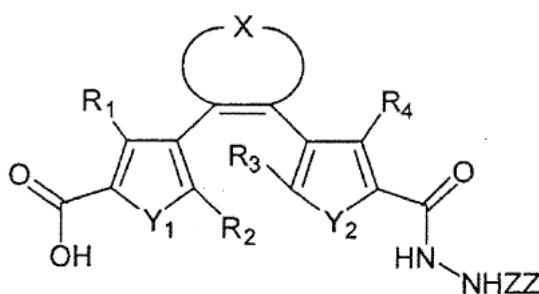
siempre que, cuando R<sub>5</sub> forma un anillo junto con Q y N, R<sub>6</sub> esté ausente.

7. El compuesto intermedio según la reivindicación 6, en donde ZZ se selecciona de t-butiloxicarbonilo (Boc) y fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc).

- 20 8. El compuesto intermedio según la reivindicación 6 ó 7, en donde R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente de H y un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, de grupo metilo y un grupo etilo y X es  $-CH_2CH_2CH_2-$  o  $-CF_2CF_2CF_2-$ .

9. El compuesto intermedio según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> es H, cada uno de R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es un grupo metilo, X es  $-CH_2CH_2CH_2-$  o  $-CF_2CF_2CF_2-$  y cada uno de Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> es S.

- 25 10. Un método de preparación del compuesto intermedio II-1 o una de sus sales definidas en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, representado por la fórmula general II, en donde Q es N, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> es H y R<sub>5</sub> está ausente



II-1

en donde

ZZ representa un grupo protector;

- 30 R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en H, un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

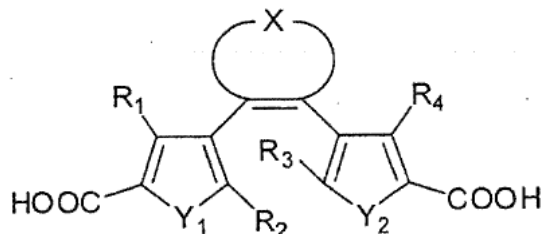
R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

X representa  $-(CH_xF_y)_z-$ , en donde  $x+y = 2$ ,  $x = 0, 1 \text{ ó } 2$ ,  $y = 0, 1 \text{ ó } 2$  y  $z = 2 \text{ a } 4$ ; e

- 35 Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> se seleccionan, de modo independiente, de S, SO<sub>2</sub>, N,N-alquilo u O;

que comprende las etapas de

a) disolver un compuesto de ácido dicarboxílico representado por la fórmula general III-1, un reactivo de acoplamiento, una base y ZZ-hidrazina en un disolvente;



III-1

5 en donde cada uno de R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub>, X, Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> es como se definió con anterioridad;

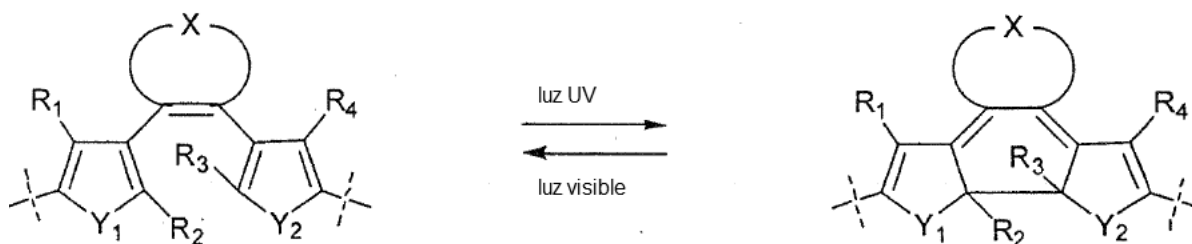
b) agitar la mezcla durante 30 minutos hasta 24 horas;

c) verter la mezcla en exceso de agua para obtener un compuesto de la fórmula II-1 anterior o una de sus sales como un precipitado; y

10 d) opcionalmente disolver el precipitado en un disolvente orgánico y lavar la solución con soluciones de bicarbonato de sodio acuoso y cloruro de hidrógeno.

11. El método según la reivindicación 10, en donde el disolvente se selecciona de dimetilformamida, dimetilsulfóxido, hexametilfosfotriamida; y/o el grupo protector se selecciona de t-butiloxycarbonilo (Boc) y fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc); y/o el reactivo de acoplamiento se selecciona del grupo que consiste en carbodiimidas, TBTU, HBTU, HATU y PyBop; y/o la base se selecciona de trietilamina y diisopropiletilamina.

15 12. Uso de un sistema molecular fotoconmutable representado por el siguiente esquema que incluye las fórmulas generales IVa y IVb, como un fragmento en un compuesto farmacéutica y/o diagnósticamente activo, que permite conmutar entre uno de sus estados activado y desactivado



IVa

IVb

en donde

20 R<sub>1</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en H, un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan, de modo independiente, del grupo que consiste en un grupo alquilo, grupo alquenilo, grupo alquinilo, grupo alcoxi, grupo arilo, grupo heteroarilo, grupo ciano, grupo nitro, grupo fosfato y grupo sulfoxilo;

X representa -(CH<sub>x</sub>F<sub>y</sub>)<sub>z</sub>-, en donde x+y = 2, x = 0, 1 ó 2, y = 0, 1 ó 2 y z = 2 a 4;

25 Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> se seleccionan, de modo independiente, de S, SO<sub>2</sub>, N, N-alquilo u O.

13. El compuesto peptidomimético según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para usar en medicina.
14. El compuesto peptidomimético según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para usar como un agente antibacteriano.
- 5 15. El compuesto peptidomimético según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para usar en un método para tratar trastornos seleccionados de infección viral, bacteriana, parásita o fúngica, inflamación, heridas, hemorragias, trastornos hiperplásicos, neoplásicos, escleróticos, trombóticos o necróticos.

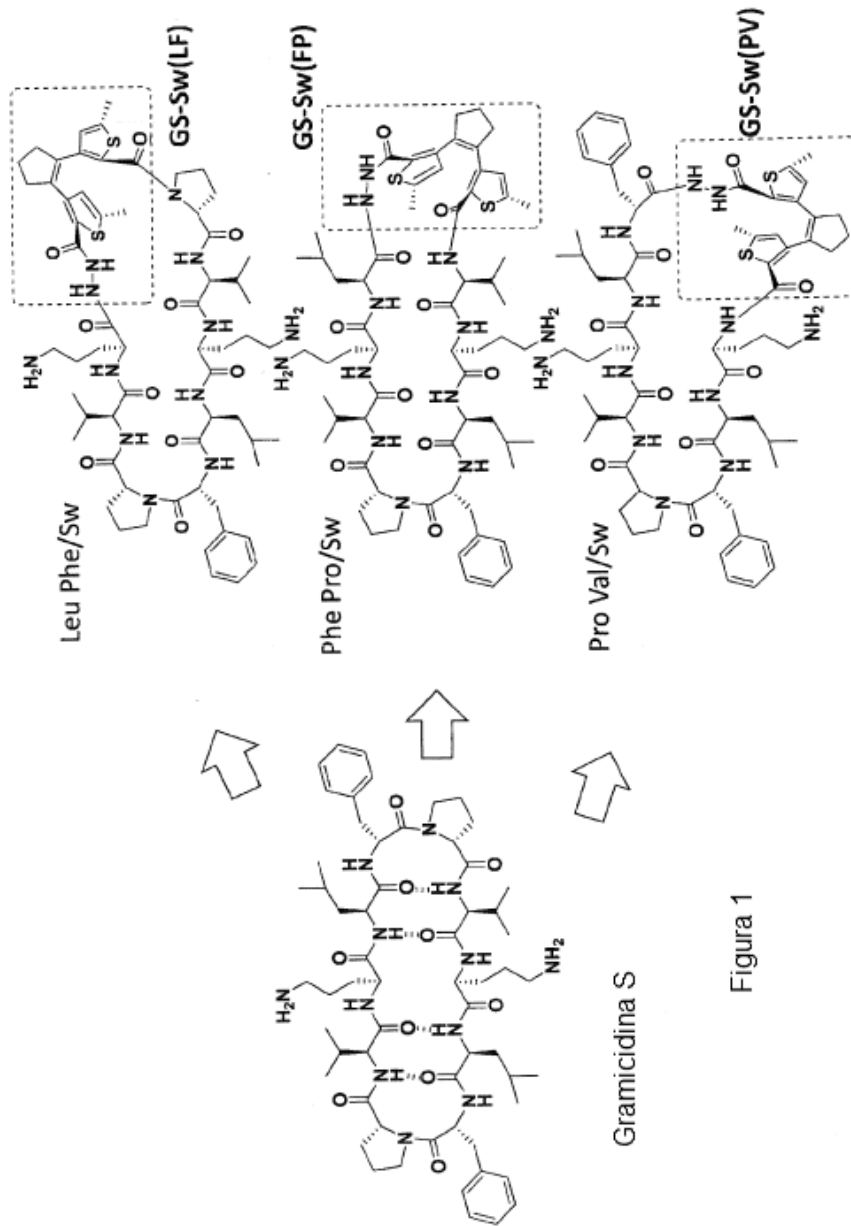


Figura 1

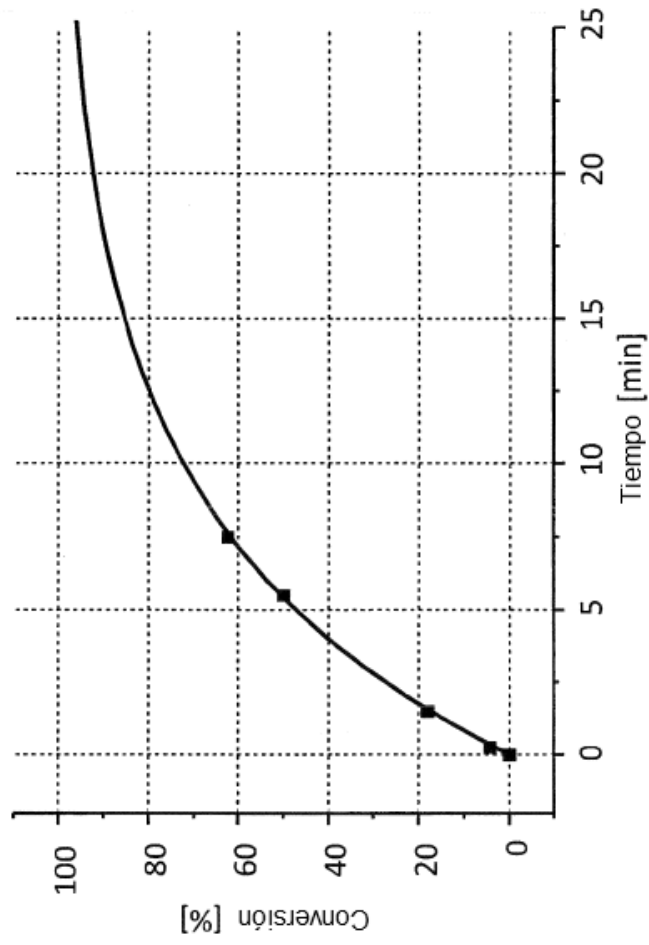


Figura 2

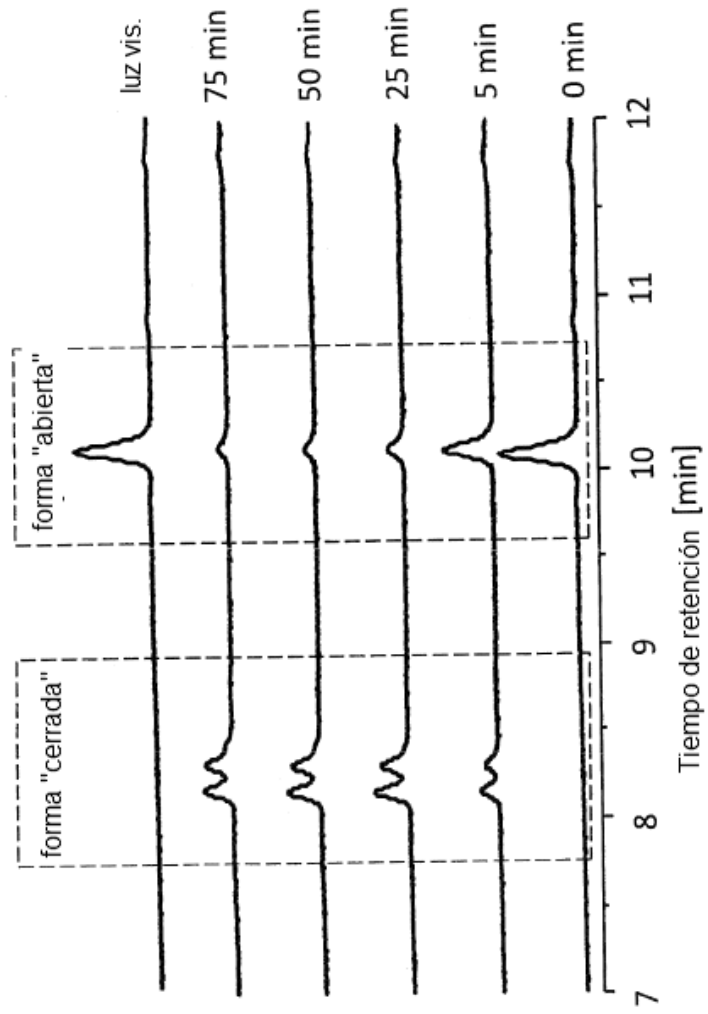


Figura 3



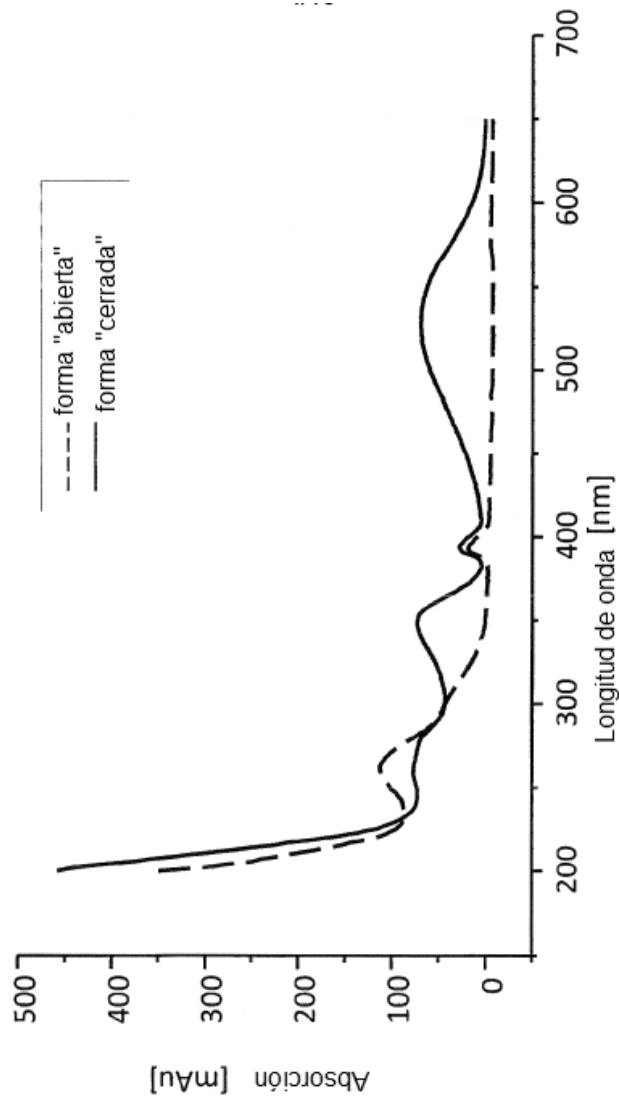


Figura 4

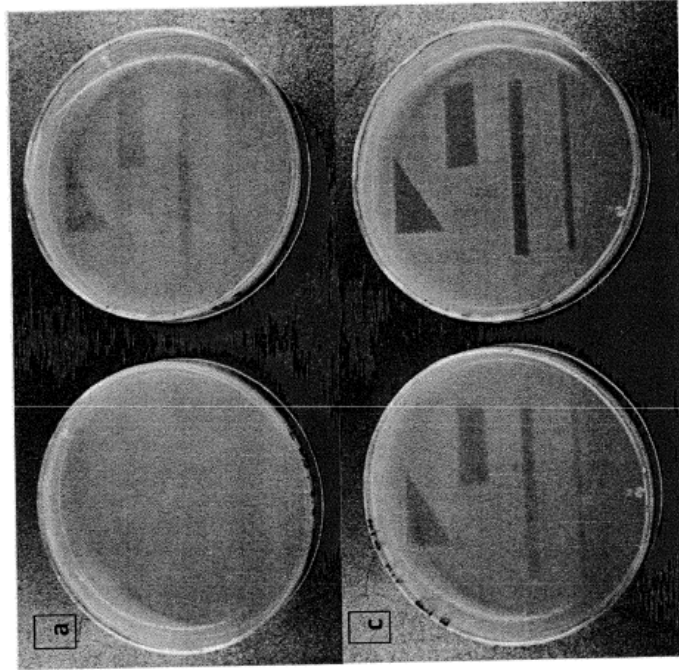


Figura 5

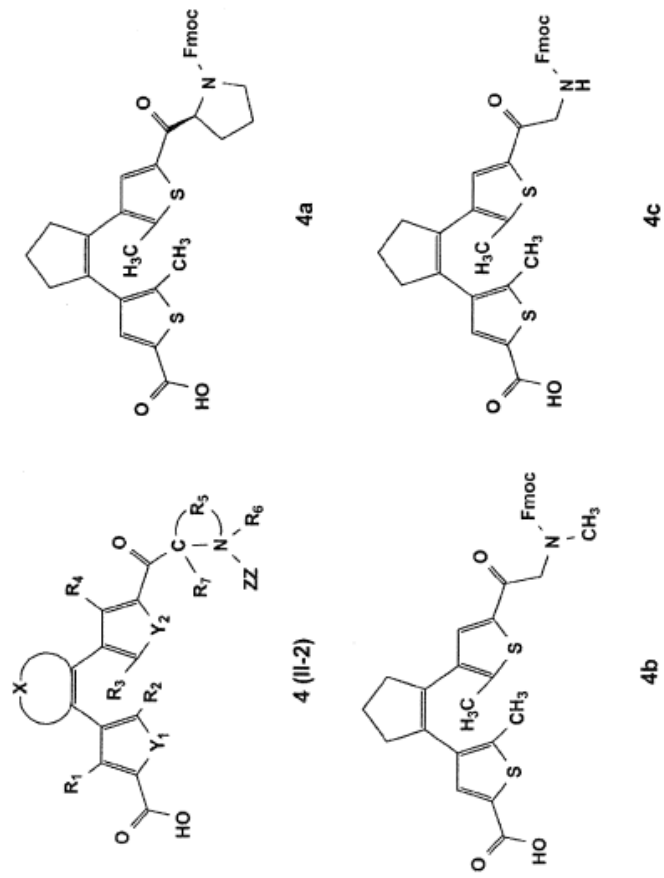


Figura 6

