

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 677 669**

51 Int. Cl.:

C07D 409/12 (2006.01)

A61K 31/381 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.11.2011 E 14191381 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 2881393**

54 Título: **Agonistas que mejoran la unión de células que expresan integrina a receptores de integrina**

30 Prioridad:

16.11.2010 US 414271 P

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

06.08.2018

73 Titular/es:

**TEXAS HEART INSTITUTE (100.0%)
6770 Bertner Avenue Suite 3SS MC2-114A
Houston, TX 77030, US**

72 Inventor/es:

**BIEDIGER, RONALD, J.;
GUNDLACH, IV, WILLIAM, C.;
MARKET, ROBERT, V.;
SAVAGE, MICHAEL, M. y
VANDERSLICE, PETER**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 677 669 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

Agonistas que mejoran la unión de células que expresan integrina a receptores de integrina

5 Antecedentes

Campo técnico

10 La presente descripción se refiere en general a compuestos amida, carbamato, urea y sulfonamida N,N-bisustituidos y a su uso como agonistas de integrina para mejorar la unión de células que expresan integrina a ligandos de unión a integrina o a receptores de integrina.

Descripción de la técnica relacionada

15 Muchas enfermedades de los seres humanos se caracterizan por un daño tisular severo que conduce a una función defectuosa o disminuida de los órganos. Se ha demostrado que las terapias que usan células madre o células progenitoras son prometedoras para mejorar los resultados funcionales y regenerar el tejido. Estos efectos positivos parecen ser el resultado de la diferenciación de las células inyectadas al tipo de célula relevante y/o de la liberación de factores paracrinos que estimulan la restauración del tejido del huésped. Las células generalmente consideradas para el uso en estos procedimientos son células madre embrionarias, células madre/progenitoras adultas o células madre pluripotentes inducidas. Las células se inyectan típicamente por vía intravenosa o directamente en, o alrededor, del tejido dañado. Independientemente del tipo de célula, el mecanismo de acción o la forma en que se suministran, es fundamental que las células migren a y permanezcan en el tejido lesionado relevante. Los bajos niveles de retención celular observados en modelos animales y en los ensayos clínicos se consideran uno de los principales impedimentos para el progreso de la terapia basada en células. Incluso cuando las células se inyectan de manera local, típicamente menos del 10 % de las células inyectadas son retenidas después de una hora y este número disminuye con el tiempo. Las tasas de retención son aún más bajas cuando se suministran de manera sistémica. Los métodos que aumentan la tasa de retención de las células suministradas de manera exógena serían aún más necesarios en la medicina regenerativa.

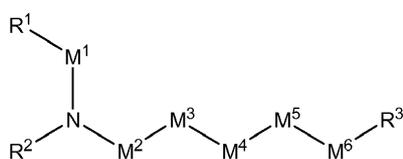
30 El proceso mediante el cual las células se adhieren a los tejidos es mediado por moléculas de adhesión expresadas en la superficie de las células. Estas moléculas de adhesión se unen a sus respectivos ligandos en las células y en la matriz extracelular que comprende el tejido. Una de las clases predominantes de moléculas de adhesión que median estas interacciones es una familia de receptores de superficie celular llamados integrinas. Las integrinas son proteínas heterodiméricas compuestas por una subunidad α y una β . Actualmente, se han identificado 18 subunidades α y 8 subunidades β que se combinan para formar no menos de 24 pares de receptores integrina diferentes, cada uno con su propia especificidad por el ligando. Los ligandos reconocidos por las integrinas incluyen moléculas de la matriz extracelular (por ejemplo, fibronectina, vitronectina, laminina, colágeno) y miembros de la super familia de genes de inmunoglobulinas (por ejemplo, molécula de adhesión de células vasculares (VCAM)-1, molécula de adhesión intracelular (ICAM)-1, molécula de adhesión celular adreína mucosa (MAdCAM)-1). Como receptores de adhesión celular, las integrinas no solo están implicadas en el retorno celular, sino también en la migración, la proliferación y la supervivencia celular.

45 En modelos animales de la enfermedad isquémica, se demostró que el pretratamiento de células progenitoras con anticuerpos u otros compuestos biológicos que pueden activar integrinas aumenta la incorporación de las células en el tejido relevante y mejora la neovascularización (Chavakis, E., y otros 2005. Role of beta2-integrins for homing and neovascularization capacity of endothelial progenitor cells. J Exp Med 201:63-72; y Chavakis, E., A., y otros 2007. High-mobility group box 1 activates integrin-dependent homing of endothelial progenitor cells. Circ Res 100:204-212). Existe un interés continuo en la adhesión mediada por integrinas y en sus posibles aplicaciones terapéuticas.

50 Resumen

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, se describen compuestos químicos que pueden mejorar la unión mediada por integrinas de células a sus respectivos ligandos. En varias modalidades, las integrinas dirigidas a estos compuestos incluyen, pero no se limitan a, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 4\beta 7$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha L\beta 2$ y $\alpha V\beta 3$. En varias modalidades, los ligandos incluyen, pero no se limitan a, VCAM-1, fibronectina, MAdCAM-1, ICAM-1, ICAM-2 y vitronectina.

55 En algunas modalidades, se proporciona un compuesto químico que tiene la fórmula general (I)



(I)

65

en donde

R¹ es arilo,

R² es arilmetilo o ariletilo

M¹ es CH₂,

5 M² es SO₂ o CO,

M³ está ausente o es CH₂,

M⁴ está ausente o es CH₂,

M⁵ es (CR¹¹R¹²),

R¹¹ es hidrógeno,

10 R¹² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo,

M⁶ es (CH₂)_q, o NR³⁴(CH₂)_q, en donde q es un entero de 0 a 6,

R³ se selecciona del grupo que consiste en CONR¹³R¹⁴, SO₂NR¹³R¹⁴, NR¹⁵COR¹⁶, NR¹⁵CONR¹³R¹⁴, y NR¹⁵SO₂R¹⁶,

R¹⁵, cuando está presente, se selecciona del grupo de hidrógeno, C₁-C₆alquilo y aralquilo,

R¹⁶, cuando está presente, es aralquilo,

15 R¹³, cuando está presente, se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo y aralquilo,

R¹⁴, cuando está presente, es aralquilo,

R³⁴, cuando está presente, se selecciona del grupo que consiste en alquilo, aralquilo, COR³⁵, y SO₂R³⁵,

R³⁵, cuando está presente, se selecciona del grupo que consiste en alquilo, arilo, y aralquilo, y

20 R¹, R², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶, R³⁴ y R³⁵, cuando están presentes, pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo, hidroxilo, alcoxi, azido, haloalcoxi, halo, haloalquilo, amino, alquilamino y dialquilamino,

siempre que cuando M₂ es CO, entonces M⁶ es NR³⁴(CH₂)_q en donde q no es 0, y en donde el término "arilo" se refiere a un grupo aromático carbocíclico que tiene de 6 a 12 átomos de carbono o un grupo aromático heterocíclico, y

25 en donde el término "aralquilo" se refiere a un radical alquilo sustituido con arilo, en donde el término "arilo" es como se definió anteriormente.

En algunas modalidades, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en 2-{butil[(2-tienilmetil)carbamoil]amino}-N,N-bis(2-tienilmetil) etanosulfonamida; 2-[[bis (2-tienilmetil)carbamoil](butil) amino]-N,N-bis (2-tienilmetil)etanosulfonamida; 2-[[bis (2-tienilmetil)carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-2-(2-tienil)acetamida; N,N-bis(2-tienilmetil)-2-[[2-tienilmetil]carbamoil]amino}etanosulfonamida; 3-[[2-[bis (2-tienilmetil)amino]-2-oxoetil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 2-[[2-[bis (2-tienilmetil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 3-[[2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 2-(acetil-2-[bis (2-tienilmetil)sulfamoil]etil)amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; y 2-(acetil-2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil)amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida.

En algunas modalidades, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida; N-{3-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]propil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-carboxamida; 2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(4-metoxibencil)propanamida; 3-[[2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida; (2S)-2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida; (2S)-2-[[2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida; and 2-[(metilsulfonil)(2-tienilmetil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida

De acuerdo con determinadas modalidades, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y un portador farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con determinadas modalidades, se proporciona un método para tratar células que expresan integrina. La integrina puede ser una o más de, por ejemplo, α4β1, α5β1, α4β7, αvβ3 y αLβ2. En algunas modalidades, el método para tratar células que expresan integrina comprende poner en contacto al menos una célula que expresa integrina *in vitro* con un agonista de dicha integrina, donde dicho agonista es un compuesto que tiene la fórmula general (I), en donde

55 R¹ es arilo,

R² es arilmetilo o ariletilo,

M¹ es CH₂,

M² es SO₂ o CO,

M³ está ausente o es CH₂,

60 M⁴ está ausente o es CH₂,

M⁵ es (CR¹¹R¹²),

R¹¹ es hidrógeno,

R¹² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo,

M⁶ es (CH₂)_q, o NR³⁴(CH₂)_q, en donde q es un número entero de 0 a 6,

65 R³ se selecciona del grupo que consiste en CONR¹³R¹⁴, SO₂NR¹³R¹⁴, NR¹⁵COR¹⁶, NR¹⁵CONR¹³R¹⁴, y NR¹⁵SO₂R¹⁶,

R¹⁵, cuando está presente, se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, C₁-C₆ alquilo, y aralquilo,

R¹⁶, cuando está presente, es aralquilo,
 R¹³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, y aralquilo,
 R¹⁴, cuando está presente, es aralquilo,
 R³⁴, cuando está presente, se selecciona del grupo que consiste en alquilo, aralquilo, COR³⁵, y SO₂R³⁵, R³⁵, cuando está
 5 presente, se selecciona del grupo que consiste en alquilo, arilo y aralquilo, y
 R¹, R², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶, R³⁴ y R³⁵, cuando está presente, puede estar no sustituido o sustituido con uno o más
 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo, hidroxilo, azido, haloalcoxi, haloalquilo, amino,
 alquilamino y dialquilamino, siempre que cuando M₂ es CO, entonces M⁶ es NR³⁴(CH₂)_q en donde q no es 0.

10 En algunas modalidades, el método para tratar células que expresan integrina comprende poner en contacto al menos
 una célula que expresa integrina *in vitro* con un agonista de dicha integrina, donde dicho agonista se selecciona del grupo
 que consiste en N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-
 tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida; N-{3-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]propil}-N-(2-
 tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-
 15 tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-carboxamida; 2-({2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-
 tienilmetil)acetamida; 3-({2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 3-({2-[bis(2-
 tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(4-metoxibencil)propanamida; 3-({2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-
 bis(2-tienilmetil)propanamida; (2S)-2-({2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida; (2S)-2-
 20 ({2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida; y 2-[(metilsulfonil)(2-tienilmetil)amino]-N,N-
 bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida

De acuerdo con determinadas modalidades, se proporciona un método para mejorar la unión de células a un ligando de
 unión a integrina, en donde el método comprende tratar *in vitro* células que expresan integrina con un agonista de integrina
 descrito anteriormente, en donde dicha integrina se selecciona del grupo que consiste en α4β1, α5β1, α4β7, αvβ3 y αLβ2;
 25 y poner en contacto las células tratadas con un ligando de unión a integrina.

En algunas modalidades, el agonista de integrina utilizado en un método descrito anteriormente es un compuesto
 seleccionado del grupo que consiste en N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida; 2-
 30 {butil((2-tienilmetil)carbamoil)amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; 2-[(metilsulfonil)(2-tienilmetil)amino]-N,N-
 bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; 2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; N-{2-
 [bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-2-(2-tienil)acetamida; N-{2-
 [bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-carboxamida; N,N-bis(2-tienilmetil)-2-[[2-
 tienilmetil]carbamoil]amino}etanosulfonamida; 2-({2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida;
 35 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)amino]-2-oxoetil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 2-{{2-[bis(2-
 tienilmetil)sulfamoil]etil}(metil)amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 3-({2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-
 bis(2-tienilmetil)propanamida; 3-({2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(4-metoxibencil)propanamida; 2-
 (acetil{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; y 2-(acetil{2-[bis(4-
 metoxibencil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida.

40 De acuerdo con algunas modalidades, dichas células que expresan integrina se seleccionan del grupo que consiste en
 células madre adultas, células madre embrionarias, células progenitoras y células madre pluripotentes inducidas.

En algunas modalidades adicionales del método descrito anteriormente para mejorar la unión de células a un ligando de
 unión a integrina, poner en contacto las células tratadas con un ligando de unión a integrina incluye poner en contacto
 45 una superficie que comprende un ligando de unión a integrina con las células tratadas con agonista, para unir las células
 tratadas con agonista a dicha superficie, en donde la unión de dichas células tratadas con agonista se mejora con relación
 a la unión de células que expresan integrina no tratadas mediante este método.

En algunas modalidades de un método descrito anteriormente, se unen a dicha superficie al menos 3 veces más las
 50 células tratadas con agonista en comparación con las células que expresan integrina no tratadas con dicho agonista. En
 algunas modalidades, la superficie que porta el ligando está en un tejido que comprende una proteína de unión a integrina
 que se selecciona del grupo que consiste en molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), fibronectina, molécula
 de adhesión celular adhesina mucosal-1 (MAdCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), molécula de
 adhesión intercelular-2 (ICAM-2) y vitronectina.

En algunas modalidades adicionales, se proporciona un agonista para el uso en un método para mejorar la retención de
 células introducidas de manera exógena en un sitio objetivo *in vivo* en un mamífero, que comprende: (a) tratar *in vitro* las
 células que expresan integrina con un agonista de integrina, en donde dicho agonista es un compuesto identificado
 60 anteriormente; (b) introducir las células tratadas con agonista en un sitio objetivo *in vivo* en el mamífero; y (c) provocar
 que un mayor número de dichas células introducidas tratadas con agonista permanezcan en dicho sitio objetivo con
 relación al número de células que se retendrían si se introducen células que expresan integrina no tratadas con dicho
 agonista en dicho sitio objetivo.

De acuerdo con ciertas modalidades se proporcionan células madre o células progenitoras que expresan integrina
 65 tratadas con agonista para su uso en un método para el tratamiento de tejido vascular dañado o enfermo de un mamífero,
 el método comprende: (a) administrar a un sitio vascular dañado o enfermo, que incluye la médula ósea, en un vaso del

5 mamífero, una pluralidad de células madre que expresan integrina tratadas con agonista o células progenitoras tratadas de acuerdo con el método descrito anteriormente, en donde dicha integrina se selecciona del grupo que consiste en $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 4\beta 7$, $\alpha v\beta 3$ y $\alpha L\beta 2$; (b) provocar que un mayor número de dichas células tratadas con agonista administradas permanezcan en dicho sitio vascular en relación al número de células retenidas si se administraron células que expresan integrina no tratadas con dicho agonista a dicho sitio vascular dañado o enfermo, en donde dicho sitio comprende células que portan un ligando de unión a integrina en una superficie celular; y (c) permitir que dichas células en dicho sitio vascular proliferen/se diferencien y/o liberen factores paracrinos.

10 Estas y otras modalidades, características y ventajas de la presente invención se harán evidentes con referencia a la siguiente descripción.

Descripción detallada

Definiciones

15 Además de tener su significado acostumbrado y habitual, las siguientes definiciones se aplican cuando el contexto lo permita en la especificación y las reivindicaciones:

20 "Composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de uno o más productos químicos, o sales farmacéuticamente aceptables de estos, con un portador adecuado, para la administración a un mamífero como un medicamento.

25 "Cantidad con eficacia terapéutica" se refiere a la cantidad del compuesto que se administra que aliviará al menos en alguna medida uno o más de los síntomas del trastorno que se trata. Por ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto para evitar, aliviar o mejorar los síntomas de la enfermedad o prolongar la sobrevivencia del sujeto que se trata.

Con respecto a una enfermedad o trastorno, el término "tratamiento" se refiere a evitar, impedir la aparición de la enfermedad o trastorno, detener, hacer retroceder o proporcionar alivio de los síntomas o efectos secundarios de la enfermedad o trastorno y/o prolongar la supervivencia del sujeto que se trata.

30 El término "alquilo" como se usa en la presente descripción solo o en combinación se refiere a radicales de cadena C_1 - C_{12} lineales o ramificadas, sustituidos o no sustituidos que se derivan de hidrocarburos saturados por la eliminación de un átomo de hidrógeno. Los ejemplos ilustrativos de grupos alquilo incluyen, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo entre otros.

35 El término "alqueno", solo o en combinación, se refiere a un radical alqueno de cadena lineal sustituido o no sustituido o de cadena ramificada sustituido o no sustituido que contiene de 2 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos de tales radicales incluyen, pero no se limitan a, etenilo, E-y Z-pentenilo, decenilo y similares.

40 El término "alquino", solo o en combinación, se refiere a un radical alquino de cadena lineal sustituido o no sustituido o ramificada sustituido o no sustituido que contiene de 2 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos de tales radicales incluyen, pero no se limitan a, etinilo, propinilo, propargilo, butinilo, hexenilo, decinilo y similares.

45 El término "inferior" que modifica "alquilo", "alqueno", "alquino" o "alcoxi" se refiere a una unidad C_1 - C_6 para una funcionalidad particular. Por ejemplo, alquilo inferior significa C_1 - C_6 alquilo.

50 El término "cicloalquilo" como se usa en la presente descripción, solo o en combinación, se refiere a un sistema de anillo alifático sustituido o no sustituido que tiene de 3 a 10 átomos de carbono y de 1 a 3 anillos, que incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, norbornilo, y adamantilo entre otros. Los grupos cicloalquilo pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes que se seleccionan independientemente de alquilo inferior, haloalquilo, alcoxi, tioalcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, hidroxilo, halo, mercapto, nitro, carboxaldehído, carboxi, alcoxycarbonilo y carboxamida. Este término pretende abarcar los grupos cicloalqueno y cicloalquino. "Cicloalquilo" incluye formas cis o trans. Además, los sustituyentes pueden estar ya sea en las posiciones endo o exo en los sistemas bicíclicos con puentes.

55 El término "cicloalqueno" como se usa en la presente descripción solo o en combinación se refiere a un carbociclo cíclico que contiene de 4 a 8 átomos de carbono y uno o más dobles enlaces. Los ejemplos de tales radicales cicloalqueno incluyen, pero no se limitan a, ciclopentenilo, ciclohexenilo, ciclopentadienilo y similares.

60 El término "cicloalquilalquilo" como se usa en la presente descripción se refiere a un grupo cicloalquilo unido a un radical alquilo inferior, que incluye, pero no se limita a, ciclohexilmetilo.

Los términos "halo" o "halógeno" como se usa en la presente descripción se refieren a I, Br, Cl o F.

65 El término "haloalquilo" como se usa en la presente descripción se refiere a un radical alquilo inferior, al que se une al menos un sustituyente halógeno, por ejemplo, clorometilo, fluoroetilo, trifluorometilo y pentafluoroetilo entre otros.

- El término "alcoxi", solo o en combinación, se refiere a un radical alquil éter, en donde el término "alquil" es como se definió anteriormente. Los ejemplos de radicales alquil éter adecuados incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, sec-butoxi, terc-butoxi y similares.
- 5 El término "alquenoxi", solo o en combinación, se refiere a un radical de fórmula alquenilo-O--, siempre y cuando el radical no sea un enol éter, en donde el término "alquenilo" es como se definió anteriormente. Los ejemplos de radicales alquenoxi adecuados incluyen, pero no se limitan a, aliloxi, E- y Z-3-metil-2-propenoxi y similares.
- 10 El término "alquinox", solo o en combinación, se refiere a un radical de fórmula alquinilo-O--, siempre y cuando el radical no sea un -inol éter. Los ejemplos de radicales alquinox adecuados incluyen, pero no se limitan a, propargiloxi, 2-butiniloxi y similares.
- El término "carboxilo" como se usa en la presente descripción se refiere al radical $-\text{CO}_2\text{H}$.
- 15 El término "tioalcoxi", se refiere a un radical tioéter de fórmula alquilo-S--, en donde "alquilo" es como se definió anteriormente.
- El término "carboxaldehído" como se usa en la presente descripción se refiere a $-\text{C}(\text{O})\text{R}$ en donde R es hidrógeno.
- 20 El término "carboxamida" como se usa en la presente descripción se refiere a $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_2$ en donde R es hidrógeno, alquilo o cualquier otro sustituyente adecuado.
- El término "alcoxialcoxi" como se usa en la presente descripción se refiere a $\text{R}_b\text{O}-\text{R}_c\text{O}-$ en donde R_b es alquilo inferior como se definió anteriormente y R_c es alquileo en donde alquileo es $-(\text{CH}_2)_{n'}$ -- en donde n' es un número entero de 1 a 6. Los ejemplos representativos de grupos alcoxialcoxi incluyen metoximetoxi, etoximetoxi y t-butoximetoxi entre otros.
- 25 El término "alquilamino" como se usa en la presente descripción se refiere a $\text{R}_d\text{NH}-$ en donde R_d es un grupo alquilo inferior, por ejemplo, etilamino, butilamino, entre otros.
- 30 El término "alquenilamino" solo o en combinación, se refiere a un radical de fórmula alquenil-NH-- o $(\text{alquenil})_2\text{N}-$, en donde el término "alquenilo" es como se definió anteriormente, siempre y cuando el radical no sea enamina. Un ejemplo de tales radicales alquenilamino es el radical alilamino.
- El término "alquilamino", solo o en combinación, se refiere a un radical de fórmula alquil-NH-- o $(\text{alquil})_2\text{N}-$ en donde el término "alquilo" es como se definió anteriormente, siempre y cuando el radical no sea una amina. Un ejemplo de tales radicales alquilamino es el radical propargilamino.
- 35 El término "dialquilamino" como se usa en la presente descripción se refiere a $\text{R}_e\text{R}_f\text{N}-$ en donde R_e y R_f se seleccionan independientemente de alquilo inferior, por ejemplo, dietilamino, y metil propilamino, entre otros.
- 40 El término "amino" como se usa en la presente descripción se refiere a $\text{H}_2\text{N}-$.
- El término "alcoxicarbonilo" como se usa en la presente descripción se refiere a un grupo alcoxilo como se definió anteriormente unido a la porción molecular progenitora a través de un grupo carbonilo. Los ejemplos de alcoxicarbonilo incluyen metoxicarbonilo, etoxicarbonilo e isopropoxicarbonilo entre otros.
- 45 El término "arilo" o "aromático" como se usa en la presente descripción solo o en combinación se refiere a un grupo aromático carbocíclico sustituido o no sustituido que tiene aproximadamente de 6 a 12 átomos de carbono, tales como fenilo, naftilo, indenilo, indanilo, azuleno, fluorenilo y antraceno; o un grupo aromático heterocíclico que se selecciona del grupo que consiste en furilo, tienilo, piridilo, pirazolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, 2-pirazolinilo, pirazolidinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, 1,3,5-triazinilo, 1,3,5-tritininilo, indolizininilo, indolilo, isoindolilo, 3H-indolilo, indolinilo, benzo[b]furanilo, 2,3-dihidrobenzofuranilo, benzo[b]tiofenilo, 1H-indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, purinilo, 4H-quinolizinilo, isoquinolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 1,8-nafridinilo, pteridinilo, carbazolilo, acridinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxiazinilo, pirazolo[1,5-c]triazinilo y similares. "Aralquilo" y "alquilarilo" emplean el término "alquilo" como se definió anteriormente. Los anillos pueden ser multisustituídos. Los anillos aromáticos pueden fusionarse con otros anillos aromáticos o no aromáticos para formar anillos multicíclicos, y también son abarcados por el término "aromático", como se usa en la presente descripción.
- 50 El término "aralquilo", solo o en combinación, se refiere a un radical alquilo sustituido con arilo, en donde los términos "alquilo" y "arilo" son como se definieron anteriormente. Los ejemplos de radicales aralquilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, fenilmetilo, fenetilo, fenilhexilo, difenilmetilo, piridilmetilo, tetrazolil metilo, furilmetilo, imidazolil metilo, indolilmetilo, tienilpropilo y similares.
- 60 El término "aralquenilo", solo o en combinación, se refiere a un radical alquenilo sustituido con arilo, en donde los términos "arilo" y "alquenilo" son como se definieron anteriormente.
- 65

5 El término "arilamino", solo o en combinación, se refiere a un radical de fórmula aril-NRg--, en donde "arilo" es como se definió anteriormente. Rg puede seleccionarse del grupo que consiste en H, alquilo inferior, arilo y aralquilo entre otros. Los ejemplos de radicales arilamino incluyen, pero no se limitan a, fenilamino(anilido), naftilamino, 2-, 3- y 4-piridilamino y similares.

El término "biarilo", solo o en combinación, se refiere a un radical de fórmula arilo-arilo, en donde el término "arilo" es como se definió anteriormente.

10 El término "tioarilo", solo o en combinación, se refiere a un radical de fórmula arilo-S--, en donde el término "arilo" es como se definió anteriormente. Un ejemplo de un radical tioarilo es el radical tiofenilo.

15 El término "aroiilo", solo o en combinación, se refiere a un radical de fórmula arilo-CO--, en donde el término "arilo" es como se definió anteriormente. Los ejemplos de radicales acilo aromáticos adecuados incluyen, pero no se limitan a, benzoilo, 4-halobenzoilo, 4-carboxibenzoilo, naftoilo, piridilcarbonilo y similares.

20 El término "heterociclilo", solo o en combinación, se refiere a un anillo no aromático de 3 a 10 miembros que contiene al menos un átomo de N, O o S endocíclico. El heterociclo puede fusionarse opcionalmente al arilo. El heterociclo también puede sustituirse opcionalmente con al menos un sustituyente que se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, trifluorometilo, trifluorometoxi, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, ciano, carboxilo, alcoxicarbonilo, carboxialquilo, oxo, arilsulfonilo y aralquilaminocarbonilo entre otros.

25 El término "alquilheterociclilo", como se usa en la presente descripción se refiere a un grupo alquilo como se definió anteriormente unido a la porción molecular progenitora a través de un grupo heterociclilo.

El término "heterociclilalquilo" como se usa en la presente descripción se refiere a un grupo heterociclilo como se definió previamente unido a la porción molecular progenitora a través de un grupo alquilo.

30 El término "aminal", como se usa en la presente descripción, se refiere a un hemiacetal de la estructura RCH(NH₂)(OH).

35 Las expresiones "extracción de electrones" o "donación de electrones" se refieren a la capacidad de un sustituyente de extraer o donar electrones con relación a la del hidrógeno si el hidrógeno ocupa la misma posición en la molécula. Estos términos son bien entendidos por un experto en la técnica y se discuten en ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY por J. March, 1985, págs. 16-18. Los grupos que retiran electrones incluyen halo, nitro, carboxilo, alquenilo inferior, alquinilo inferior, carboxaldehído, carboxiamido, arilo, amonio cuaternario, trifluorometilo y alcanilo inferior de arilo, entre otros. Los grupos que donan electrones incluyen grupos tales como hidroxilo, alquilo inferior, amino, alquilamino inferior, di(alquilo inferior) amino, ariloxi, mercapto, alquiltio inferior, alquilmercapto inferior y disulfuro entre otros. Un experto en la técnica apreciará que los sustituyentes mencionados anteriormente pueden tener propiedades de donación de electrones o de extracción de electrones en diferentes condiciones químicas. Además, la presente invención contempla cualquier combinación de sustituyentes seleccionados de los grupos identificados anteriormente.

45 Los sustituyentes donadores de electrones o que extraen electrones más preferidos son halo, nitro, alcanilo, carboxaldehído, arilalcanilo, ariloxi, carboxilo, carboxamida, ciano, sulfonilo, sulfóxido, heterociclilo, guanidina, amonio cuaternario, alquenilo inferior, alquinilo inferior, sales de sulfonio, hidroxilo, alcoxi inferior, alquilo inferior, amino, alquilamino inferior, di(alquilo inferior)amino, mercapto alquilo inferior amina, mercaptoalquilo, alquiltio y alquilditio.

50 El uso de los términos anteriores pretende abarcar porciones sustituidas y no sustituidas. La sustitución puede ser por uno o más grupos tales como alcoholes, éteres, ésteres, amidas, sulfonas, sulfuros, hidroxilo, nitro, ciano, carboxi, aminas, heteroátomos, alquilo inferior, alcoxi inferior, alcoxicarbonilo inferior, alcoxialcoxi, aciloxi, halógenos, trifluorometoxi, trifluorometilo, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, ciano, carboxi, carboalcoxi, carboxialquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterociclilo, alquilheterociclilo, heterociclilalquilo, oxo, arilsulfonilo y aralquilaminocarbonilo o cualquiera de los sustituyentes de los párrafos precedentes o cualquiera de esos sustituyentes ya sea unido directamente o mediante enlazadores adecuados. Los enlazadores son típicamente cadenas cortas de 1-3 átomos que contienen cualquier combinación de --C--, --C(O)--, --NH--, --S--, --S(O)--, --O--, --C(O)O-- o --S(O)O--. Los anillos pueden estar sustituidos varias veces.

55 El término "mamíferos" incluye seres humanos y otros animales.

60 El término "heteroátomo" como se usa en la presente descripción abarca nitrógeno, azufre y oxígeno.

El término "alfa" como se usa en la presente descripción indica la posición inmediatamente adyacente a la posición descrita.

65 Abreviaturas

Las siguientes abreviaturas se usan en la presente descripción:

- Ac acetilo
 AcOH ácido acético
 6-Ahx-OH ácido 6-aminohexanoico
 5 Bn bencilo
 Boc *terc*-butiloxicarbonilo
 nBu n-butilo
 nBuLi n-butilitio, 1,6 M en hexanos (a menos que se indique otra concentración)
 Cbz benciloxicarbonilo
 10 CDI *N,N'*-carbonyldiimidazol
 COMU (1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenaminoxi)dimetilamino-morfolino-carbenio hexafluorofosfato
 Dab 2,4-diaminobutirilo
 DBU 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
 DCE 1,2-dicloroetano
 15 DCHA dicitclohexilamina
 DCM diclorometano (cloruro de metileno)
 dioxano 1,4-dioxano
 DIPEA *N,N'*-diisopropiletilamina
 DMED *N,N'*-dimetiletileno diamina
 20 DMF *N,N'*-dimetilformamida
 DMSO dimetilsulfóxido
 Et etilo
 EtOH etanol
 Fmoc 9H-fluoren-9-ilmetiloxicarbonilo
 25 Glu ácido glutámico
 Gly Glicina
 HBTU O-(Benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio hexafluorofosfato
 HMDS hexametildisilazano
 iPr isopropilo
 30 KHMDS potasio bis(trimetilsilil)amida
 Lys lisina
 LHMDS litio bis(trimetilsilil)amida
 Me metilo
 MeOH metanol
 35 Nle norleucina
 NMM 4-metilmorfolina
 NSMC *N*-succinimidil-*N*-metilcarbamato
 OAc acetato
 Orn Ornitina
 40 pTsOH ácido *para*-toluensulfónico
 Ph fenilo
 RT temperatura ambiente
*t*Bu *terc-butilo*
 TEA trietilamina
 45 Tfa trifluoroacetilo
 THF tetrahidrofurano
 Tol tolueno
 Tyr tirosina
 Z benciloxicarbonilo
 50

Los inventores plantearon la hipótesis de que los compuestos de molécula pequeña que mejoran la adhesión mediada por integrina pueden ser beneficiosos como agentes terapéuticos, y que algunos de estos compuestos pueden resultar útiles en muchas enfermedades o afecciones que son susceptibles a la terapia basada en células. Los ejemplos no limitantes de tales enfermedades o afecciones son infarto del miocardio, insuficiencia cardíaca, enfermedad arterial periférica, diabetes, insuficiencia renal, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, fibrosis pulmonar, hipertensión pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria aguda, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, lesión de la médula espinal, infertilidad y trasplante de médula ósea. En consecuencia, se han sintetizado un grupo de compuestos químicos que mejoran la unión mediada por integrina de las células a sus respectivos ligandos. Las integrinas dirigidas por estos compuestos incluyen, pero no se limitan a, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 4\beta 7$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha L\beta 2$ y $\alpha V\beta 3$. Los ligandos correspondientes incluyen, pero no se limitan a, VCAM-1, fibronectina, MAdCAM-1, ICAM-1, ICAM-2 y vitronectina.

Se describen adicionalmente a continuación los compuestos agonistas, la capacidad de los compuestos representativos de mejorar la unión de células que expresan integrina y las aplicaciones terapéuticas de las células tratadas con agonista.

65 Células pretratadas con agonistas

Una o más células que expresan integrina se tratan primero (pretratadas) con un compuesto agonista que tiene la fórmula general I, como se describe en la presente descripción, para formar moléculas de integrina unidas a agonista en la superficie de la célula. Las células que expresan integrina pueden ser, por ejemplo, células madre embrionarias, células madre/progenitoras adultas, o células madre pluripotentes inducidas. En algunos casos, las células expresan una o más de las integrinas $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 4\beta 7$, $\alpha v\beta 3$ y $\alpha L\beta 2$. El tratamiento de las células generalmente incluye poner en contacto *in vitro* las células que expresan integrina con el agonista. En la mayoría de las aplicaciones, el compuesto agonista está presente en los medios de tratamiento a una concentración en el intervalo de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 30 μ M. En algunos casos la concentración de agonista está en el intervalo de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 10 μ M. Después de la exposición al agonista, las células resultantes tratadas con agonista tienen una capacidad mejorada para unirse a un ligando afín. La integrina se expresa en la superficie de las células, y puede ser de origen natural o expresadas transgénicamente por una célula transformada para que exprese un gen de integrina exógeno. La proteína u otro ligando afín a los que se une la integrina se expresa ya sea en una superficie celular o es parte de la matriz extracelular.

15 Unión Mejorada de Células Pretratadas a Ligandos de unión a Integrina

El agonista, como se describe en la presente descripción, disuelto en un diluyente farmacéuticamente aceptable, se añade a medios de cultivo celular o suspensión celular y se mezclan. Las células resultantes tratadas con agonista se introducen en un ligando de unión o sitio de unión a integrina, tras lo cual las células tratadas se unen, se acoplan o se adhieren en solución a los ligandos afines, o en una superficie o tejido objetivo. En algunos casos, una proteína de unión a integrina es la molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM 1), fibronectina, molécula de adhesión celular adhesina mucosal-1 (MAdCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adhesión intercelular-2 (ICAM-2) o vitronectina. Como resultado del tratamiento con agonista, la unión al ligando de las células tratadas con agonista mejora o aumenta en comparación con la unión de células que expresan integrina no tratadas con el agonista. En algunos casos, las células tratadas con agonista se unen al menos 3 veces más a una superficie recubierta con ligando que las células que expresan integrina no tratadas. En algunos casos, se unen a una proteína de unión a integrina hasta más de 3 veces las células tratadas con agonista que las células no tratadas.

30 Retención Mejorada de Células Pretratadas a Tejidos que expresan Ligandos de Unión a Integrina

Independientemente del tipo de célula, el mecanismo de acción o la forma en que se suministran, para muchas aplicaciones es fundamental que las células migren y permanezcan en un tejido lesionado relevante. Los bajos niveles de retención celular observados en modelos animales y ensayos clínicos se consideran uno de los principales impedimentos para el progreso de las terapias basadas en células. Incluso cuando las células se inyectan de manera local, típicamente menos del 10 % de las células inyectadas son retenidas después de una hora y este número disminuye con el tiempo en las terapias convencionales basadas en células. Las tasas de retención son aún más bajas cuando se suministran de manera sistémica. En comparación, muchas modalidades de los métodos descritos en la presente aumentan la tasa de retención de las células suministradas de manera exógena y potencialmente necesitarán aún más esfuerzos en la medicina regenerativa.

Un método para mejorar la retención de células introducidas de manera exógena en un sitio objetivo *in vivo* en un mamífero generalmente incluye (a) tratar *in vitro* las células que expresan integrina con un agonista de integrina, en donde el agonista es un compuesto que tiene la fórmula general I, como se describe en la presente descripción; (b) introducir las células tratadas con agonista en un sitio objetivo *in vivo* en el mamífero; y (c) provocar que un mayor número de dichas células tratadas con agonista introducidas permanezcan en dicho sitio objetivo con relación al número de células que se retendrían si se introducen células que expresan integrina no tratadas con dicho agonista en dicho sitio objetivo. El sitio objetivo incluye una proteína de unión a integrina tal como, por ejemplo, molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM 1), fibronectina, molécula de adhesión celular adhesina mucosal-1 (MAdCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) molécula de adhesión intercelular-2 (ICAM-2) o vitronectina.

50 Tratamiento Terapéutico del Tejido Vascular Dañado o Enfermo

Las células tratadas con agonista preparadas como se describió anteriormente se administran a un sitio vascular dañado o enfermo en un vaso de un mamífero. Las células se inyectan directamente dentro o alrededor de un sitio de tejido vascular dañado o enfermo, como ocurre a menudo en el tejido debido a la isquemia después de un ataque cardíaco o en una enfermedad arterial periférica. Alternativamente, en algunos casos las células tratadas con agonista se inyectan por vía intravenosa para que migren a un sitio dañado o enfermo donde se desea el tratamiento. El tejido dañado o enfermo contiene células (por ejemplo, células endoteliales) que expresan VCAM-1, y en las que VCAM-1 se encuentra en la superficie de la célula. La expresión de VCAM-1 se induce en muchos casos por citoquinas inflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral- α , la interleucina-4 y la interleucina-1 β . En algunos casos, las células o la matriz extracelular en un sitio de tratamiento o adyacente a él, expresan y contienen en su superficie una o más proteínas de unión a integrinas tales como fibronectina, molécula de adhesión celular adhesina mucosal-1 (MAdCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adhesión intercelular-2 (ICAM-2) o vitronectina. En esos casos, las células tratadas con agonista se adhieren a los ligandos afines en el sitio del tejido lesionado o enfermo, lo que provoca que un mayor número de células tratadas con agonista permanezcan en el sitio de tratamiento en comparación con el número de células no tratadas que expresan integrina que se retendrían si se administraran en su lugar. Las células tratadas con agonistas

que permanecen en el sitio de tratamiento pueden crecer y/o liberar factores paracrinicos, para regenerar tejido vascular en el sitio dañado o enfermo, por ejemplo, daño debido a isquemia, reacciones autoinmunitarias o lesión mecánica. Los factores paracrinicos son sustancias liberadas por una célula que tienen efectos sobre una célula vecina, tales como los factores de crecimiento o citocinas.

5 Terapias basadas en Células para el Tratamiento de Otras Enfermedades y Afecciones

También se contempla en varias modalidades el uso de células tratadas con agonista descritas anteriormente, para el tratamiento de varias enfermedades o trastornos que son susceptibles a la terapia basada en células. Por ejemplo, infarto del miocardio, enfermedad arterial periférica, diabetes, insuficiencia renal, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, fibrosis pulmonar, hipertensión pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria aguda, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, lesión de la médula espinal, infertilidad y trasplante de médula ósea, en algunas modalidades se tratan mediante la inyección de una suspensión celular descrita anteriormente por vía intravenosa, intraarterial o directamente en el área lesionada o alrededor de esta. Se genera nuevo tejido ya sea mediante la proliferación y diferenciación de las células inyectadas y/o mediante liberación de factores paracrinicos por las células inyectadas que inducen la proliferación y la diferenciación de las células huésped vecinas.

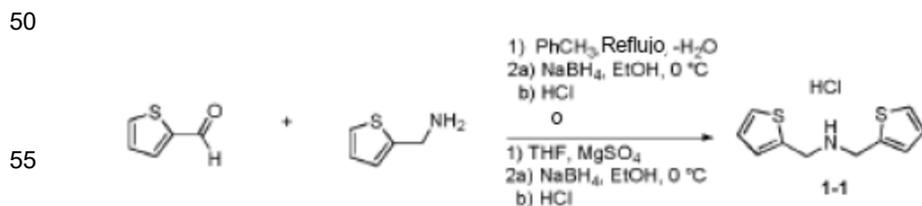
Los compuestos y procesos descritos en la presente descripción se entenderán mejor en relación con los siguientes esquemas sintéticos que ilustran los métodos mediante los cuales los compuestos descritos pueden prepararse. Una descripción detallada de la preparación de compuestos agonistas representativos se expone en los Ejemplos. Debe entenderse que los métodos sintéticos iguales o similares también pueden usarse para sintetizar otros compuestos agonistas descritos en la presente descripción. Estos Ejemplos se presentan para describir modalidades preferidas y los usos de los compuestos y de las células tratadas con agonistas, y no están destinados a limitar la invención a menos que se indique de cualquier otra manera en las reivindicaciones adjuntas a esta.

25 EJEMPLOS

Materiales

30 **Reactivos y Líneas Celulares** CS1 conjugado a BSA (CS1-BSA) se adquirió de New England Peptide (Gardner, MA). La fibronectina y la vitronectina sérica se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). La quimera MAdCAM-1 Fc humana, la quimera ICAM-1 Fc y VCAM-1 se adquirieron de R&D Systems (Minneapolis, MN). Las líneas celulares K562, HUVEC, HSB y Jurkat se obtuvieron de ATCC (Manassus, VA) y se mantuvieron en el medio de cultivo recomendado. La línea celular K562 $\alpha 4 \beta 1$ se desarrolló mediante la electroporación del ADNc de $\alpha 4$ de integrina en toda su longitud (1) en células K562 de tipo silvestre. Después de la selección por fármaco en geneticina (1 mg/ml), las células se clasificaron mediante FACS para la expresión de la integrina $\alpha 4$ mediante el uso del mAb HP2/1, después se clonaron las células individuales mediante dilución limitante. Se seleccionó un clon (K562- $\alpha 4 \beta 1$) por la alta expresión de integrina $\alpha 4$, y se verificó la adhesión celular específica a VCAM-1 con el bloqueo de la función de $\alpha 4$ y $\beta 1$ con mAb HP2/1 y 33B6 (2) respectivamente (datos no mostrados). K562- $\alpha 4 \beta 7$ se generó mediante la cotransfección de células K562 con ADNc de $\alpha 4$ y ADNc de $\beta 7$ en toda su longitud (adquirido de Origene Technologies y con secuencia verificada) en pIRES2-EGFP (Clontech). Después de la selección por fármaco en kanamicina (30 μ g/ml), las células se clasificaron por FACS basado en la expresión de EGFP, seguido por la clasificación basado en la expresión de $\alpha 4$ y $\beta 7$ mediante el uso de mAb conjugado 9F10 y FIB504 (BD Biosciences, San Jose, CA), respectivamente. Las líneas clonales se desarrollaron como se describió para la línea K562- $\alpha 4 \beta 1$. Todos los reactivos usados en la síntesis de compuestos estuvieron disponibles comercialmente de proveedores comunes. Los nombres de los compuestos se generaron con ACD/Name Chemist Version Release 12.00, Versión del Producto 12.01 de ACD Labs.

Ejemplo 1: Preparación de clorhidrato de 1-(2-tienil)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-1).



60 I. Método A

A una solución de 2-tiofenometilamina (3,87 g, 34,5 mmol) en tolueno (69 mL), se añadió 2-tiofenocarboxaldehído (3,90 g, 34,5 mmol). La solución resultante se calentó a reflujo vigoroso durante 1,75 horas mientras se eliminaba el agua formada por medio de una trampa Dean-Stark. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en etanol anhidro (69 mL), la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió borohidruro de sodio (2,71 g, 69 mmol) en porciones en el transcurso de 30 minutos. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente

durante toda la noche, se vertió en hielo y se acidificó lentamente con ácido clorhídrico acuoso (2 N). El precipitado se filtró y se secó al vacío para obtener el compuesto del título 1-1 como un sólido blanquecino a tostado (5,35 g).

Alternativamente, la amina libre de partida podría generarse a partir del clorhidrato de amina mediante la extracción con tres porciones de acetato de etilo a partir de bicarbonato de sodio acuoso con metanol añadido para solubilidad. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron, se filtraron y se concentraron. Esta variación se usó para preparar clorhidrato de 1-(4-nitrofenil)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-27) a partir de clorhidrato de 4-nitrobencilamina.

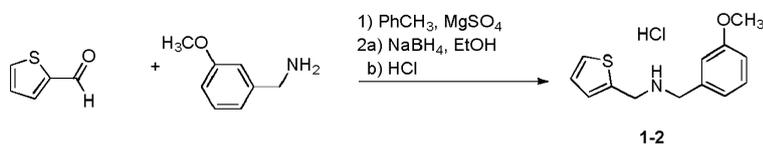
II. Método B

A una solución de 2-tiofenometilamina (4,10 g, 36,6 mmol) y 2-tiofenocarboxaldehído (4,12 g, 36,7 mmol) en tetrahidrofurano (20 mL), se añadió sulfato de magnesio anhidro (6,9 g). La mezcla se calentó a 50 °C durante 3 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró, con lavado con etanol (40 mL) y dietil éter (40 mL). Se añadió borohidruro de sodio (2,00 g, 52,9 mmol) en tres porciones a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 2 horas. La mezcla se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (2 N) y el precipitado resultante se colectó (tres cultivos) mediante filtración y se secó al vacío para obtener el compuesto del título 1-1 como un sólido blanco (7,78 g).

Este procedimiento también se usó para preparar: Clorhidrato de 1-(4-bromofenil)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-45) a partir de 4-bromobencilamina y 2-tiofenocarboxaldehído; clorhidrato de 1-(3-tienil)-N-(3-tienilmetil)metanamina (1-50) a partir de 3-tiofenometilamina y 3-tiofenocarboxaldehído; y terc-butil {5-[(2-tienilmetil)amino]pentil}carbamato (5-34) a partir de N-Boc-cadaverina y 2-tiofenocarboxaldehído.

Alternativamente, una sal de clorhidrato aislada podría convertirse en la base libre mediante la división entre acetato de etilo o diclorometano y bicarbonato de sodio saturado, el lavado de la capa orgánica con agua y salmuera, y el secado sobre sulfato de magnesio, el filtrado y la concentración. Esta variación se usó para preparar: 1-(3-tienil)-N-(3-tienilmetil)metanamina (1-47) a partir de 1-50; N-(4-metilbencil)-1-(4-metilfenil)metanamina (1-43) a partir de 4-metilbencilamina y p-tolualdehído; N-(4-clorobencil)-1-(4-clorofenil)metanamina (1-44) a partir de 4-clorobencilamina y 4-clorobenzaldehído; 1-(4-bromofenil)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-46) a partir de 1-45; 1-ciclopropil-N-(ciclopropilmetil)metanamina (1-48) a partir de ciclopropanocarboxaldehído y ciclopropilmetil-amina; y 1-ciclopropil-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-49) a partir de ciclopropanometilamina y 2-tiofenocarboxaldehído.

Ejemplo 2: Preparación de clorhidrato de 1-(3-metoxifenil)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-2).



A una solución de 3-metoxibencilamina (1,37 g, 9,99 mmol) y 2-tiofenocarboxaldehído (1,12 g, 10,0 mmol) en tolueno (10 mL), se añadió sulfato de magnesio anhidro (2 g). La mezcla se dejó reposar durante toda la noche a temperatura ambiente y se añadió borohidruro de sodio (0,5 g, 13 mmol) seguido de etanol (10 mL). La mezcla resultante se agitó durante 3 horas y se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (2 N). El precipitado resultante se filtró y se secó al vacío para obtener el compuesto del título 1-2 como un sólido blanco (1,19 g).

Este procedimiento también se usó para preparar: Clorhidrato de N-(3-metoxibencil)-1-(3-metoxifenil)metanamina (1-3) a partir de 3-metoxibencilamina y 3-metoxibenzaldehído; y clorhidrato de 2-(2-tienil)-N-(2-tienilmetil)etanamina (1-5) a partir de 2-tiofenoetilamina y 2-tiofenocarboxaldehído.

Alternativamente, podría usarse tetrahidrofurano en lugar de tolueno. Esta variación se usó para preparar clorhidrato de N-(4-metoxibencil)-1-(4-metoxifenil)metanamina (1-6) a partir de 4-metoxibencilamina y 4-metoxibenzaldehído. Esta variación se modificó más aún mediante la no adición de etanol a la reacción después de añadir el borohidruro de sodio. Esta modificación se usó para preparar: Clorhidrato de N-[4-(trifluorometoxi)bencil]-1-[4-(trifluorometoxi)fenil]metanamina (1-41) a partir de 4-(trifluorometoxi)bencilamina y 4-(trifluorometoxi)benzaldehído; y clorhidrato de 1-(4-metoxifenil)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-42) a partir de 4-metoxibencilamina y 2-tiofenocarboxaldehído (cloruro de sodio sólido añadido a la mezcla acidificada para ayudar a la precipitación).

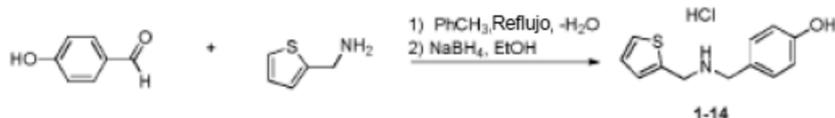
En otra variación, cuando no se formó precipitado después de la acidificación, la capa acuosa se basificó con hidróxido de sodio acuoso y se extrajo con diclorometano o éter dietílico. El extracto se lavó con salmuera, se secó, se filtró y se concentró para obtener la amina libre. Esta variación se usó para preparar: N-(2-tienilmetil)butan-1-amina (1-9) a partir de 2-tiofenometilamina y butiraldehído; 1-(2-furil)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-10) a partir de 2-aminometilfurano y 2-tiofenocarboxaldehído; 1-(2-furil)-N-(2-furilmetil)metanamina (1-11) a partir de 2-aminometilfurano y 2-furaldehído; 2-metoxi-N-(2-tienilmetil)etanamina (1-12) a partir de 2-metoxietilamina y 2-tiofenocarboxaldehído; y 3-[(2-tienilmetil)amino]propan-1-ol (1-13) a partir de 3-amino-1-propanol y 2-tiofenocarboxaldehído. Esta variación se modificó más aún mediante la no adición etanol a la reacción en tetrahidrofurano después de añadir el borohidruro de sodio. Esta

modificación se usó para preparar: 1-(2-tienil)-N-[2-(trifluorometil)encil]metanamina (1-38) a partir de 2-tiofenometilamina y 2-(trifluorometil)benzaldehído; 1-(2-tienil)-N-[2-(trifluorometoxi)encil]metanamina (1-39) a partir de 2-tiofenometilamina y 2-(trifluorometoxi)benzaldehído; y 1-[2-(difluorometoxi)fenil]-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-40) a partir de 2-tiofenometilamina y 2-(difluorometoxi)benzaldehído.

Las aminas libres preparadas de acuerdo con el procedimiento de la variación anterior también podrían tomarse en ácido clorhídrico acuoso y concentrarse para obtener las sales de clorhidrato. Este método se usó para aislar: Diclorhidrato de 1-(piridin-3-il)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-4) a partir de 3-aminometilpiridina y 2-tiofenocarboxaldehído en tolueno; triclorhidrato de 1-(piridin-3-il)-N-(piridin-3-ilmetil)metanamina (1-7) a partir de 3-(aminometil)piridina y 3-piridincarboxaldehído en tetrahidrofurano; triclorhidrato de 1-(piridin-4-il)-N-(piridin-4-ilmetil)metanamina (1-8) a partir de 4-(aminometil)piridina y 4-piridincarboxaldehído en tetrahidrofurano; y diclorhidrato de 1-(piridin-4-il)-N-(2-tienilmetil)metanamina (1-15) a partir de 4-aminometilpiridina y 2-tiofenocarboxaldehído en tolueno.

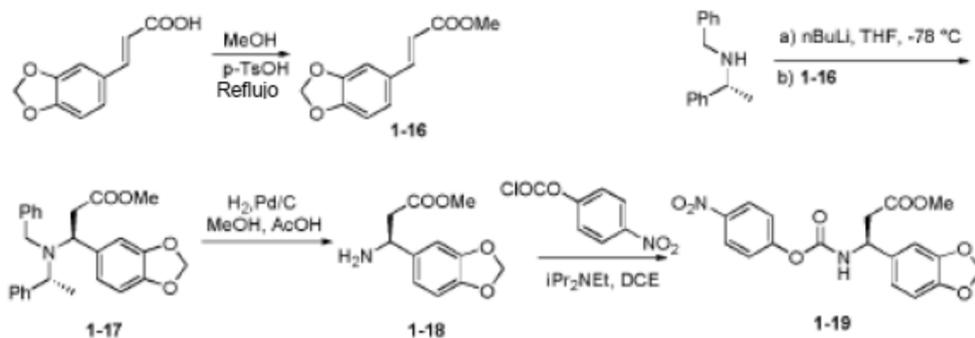
Aún en otra variación, se usó una diamina en lugar de la amina, que reacciona con 2,25 equivalentes de aldehído y exceso de borohidruro de sodio en tetrahidrofurano. Después de la acidificación, se añadió cloruro de sodio a la mezcla acuosa para ayudar a precipitar el producto. Este procedimiento se usó para preparar: Diclorhidrato de N,N'-bis(2-tienilmetil)heptano-1,7-diamina (5-19) a partir de 1,7-heptandiamina y 2-tiofenocarboxaldehído; diclorhidrato de N,N'-bis(2-tienilmetil)hexano-1,6-diamina (5-25) a partir de hexametilenodiamina y 2-tiofenocarboxaldehído; y diclorhidrato de NN'-bis(3-metoxibencil)hexano-1,6-diamina (5-27) a partir de hexametilendiamina y 3-metoxibenzaldehído.

Ejemplo 3: Preparación de clorhidrato de 4-[(2-tienilmetil)amino]metil}fenol (1-14).



Una solución de 4-hidroxibenzaldehído (0,65 g, 5,2 mmol) y 2-tiofenometilamina (0,59 g, 5,3 mmol) en tolueno (25 mL) se calentó a reflujo vigoroso durante 4 horas mientras se eliminaba el agua formada, por medio de una trampa Dean-Stark. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente, se añadieron borohidruro de sodio (exceso) y etanol (exceso) y la mezcla se agitó durante toda la noche. La mezcla se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (2 N) y se calentó suavemente hasta que cesó el desprendimiento de gas. La solución se ajustó a pH 6-7 y se extrajo con diclorometano (3 veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título 1-14 en forma de un aceite naranja (0,44 g).

Ejemplo 4: Preparación de metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[(4-nitrofenoxi)carbonil]amino}propanoato (1-19).



I. Metil (2E)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)acrilato (1-16).

A una solución de ácido 3,4-(metilendioxi)cinámico (6,2 g, 32 mmol) en metanol (0,4 L), se le añadió hidrato de ácido p-toluensulfónico (0,28 g, 1,5 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante toda la noche, se concentró a presión reducida (hasta aproximadamente 0,1 L), se diluyó con acetato de etilo caliente, y se lavó con agua (3 veces) y salmuera saturada. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se recrystalizó a partir de terc-butil metil éter/metanol para obtener el compuesto del título 1-16 como un polvo incoloro (5,35 g).

Alternativamente, el éster de etilo podría prepararse mediante el uso de etanol en lugar de metanol. Esta variación se usó para preparar etil (2E)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)acrilato (1-35).

II. Metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-{bencil[(1R)-1-feniletíl]amino}propanoato (1-17).

A una solución de (R)-(+)-N-bencil- α -metilbencilamina (6.14 g, 29.1 mmol) en tetrahidrofurano (78 mL) enfriada a -78 °C bajo una atmósfera de nitrógeno, se añadió gota a gota n-butilitio durante 30 minutos (1,6 M en hexanos, 15,7 mL, 25,2 mmol). Una vez completada la adición de butil litio, se añadió gota a gota una solución de 1-16 (3,43 g, 16,6 mmol) en tetrahidrofurano (70 mL) durante 30 minutos. La solución resultante se agitó a -78 °C durante 4 horas, se añadió metanol (8 mL) y la mezcla se vertió en cloruro de amonio acuoso saturado. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 veces), y las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio (anhidro), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (30:1 a 19:1) para obtener el compuesto del título 1-17 (5,71 g).

Alternativamente, podría usarse (S)-(-)-N-bencil- α -metilbencilamina en lugar de (R)-(+)-N-bencil- α -metilbencilamina en la etapa II para obtener la configuración opuesta de los centros quirales. Este procedimiento se usó para preparar: etil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-{bencil[(1S)-1-feniletíl]amino}propanoato (1-36) a partir de 1-35; y metil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-{bencil[(1S)-1-feniletíl]amino}propanoato (1-28) a partir de 1-16.

III. Metil (3S)-3-amino-3-(1,3-benzodioxol-5-il)propanoato (1-18).

A una solución de 1-17 (4,73 g, 11,3 mmol) en metanol (75 mL), ácido acético glacial (0,4 mL), se añadió metal paladio sobre carbón (Degussa tipo E101 NE/W, 50 % de H₂O, 10 % de Pd en base al peso en seco, 1,8 g, 0,83 mmol de Pd). La atmósfera se reemplazó con hidrógeno (alternando varias veces entre el vacío y el hidrógeno de un tanque) y la reacción se agitó durante toda la noche. La mezcla se filtró a través de Celite® y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se llevó a acetato de etilo, se lavó con carbonato de sodio acuoso saturado y la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 1-18 como un aceite amarillo pálido (2,1 g).

Este procedimiento también se usó para preparar: etil (3R)-3-amino-3-(1,3-benzodioxol-5-il)propanoato (1-20) a partir de 1-36; y metil (3R)-3-amino-3-(1,3-benzodioxol-5-il)propanoato (1-29) a partir de 1-28.

IV. Metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[(4-nitrofenoxi)carbonil]amino}propanoato (1-19).

A una solución de 4-nitrofenilcloroformiato (1,28 g, 6,35 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (1,46 mL, 8,4 mmol) en dicloroetano (50 mL) enfriada a 0 °C, se añadió mediante una jeringa una solución de 1-18 (1,3 g, 5,6 mmol) en dicloroetano (11 mL). El baño de hielo se retiró y la reacción se agitó durante toda la noche y se concentró a presión reducida. El residuo se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua y bicarbonato de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (9:1 a 2:1) para obtener el compuesto del título 1-19 como un aceite amarillo (0,92 g).

Para este procedimiento o cualquiera de las siguientes variaciones, puede usarse un clorhidrato de amina con un equivalente adicional de base de amina terciaria en lugar de la amina.

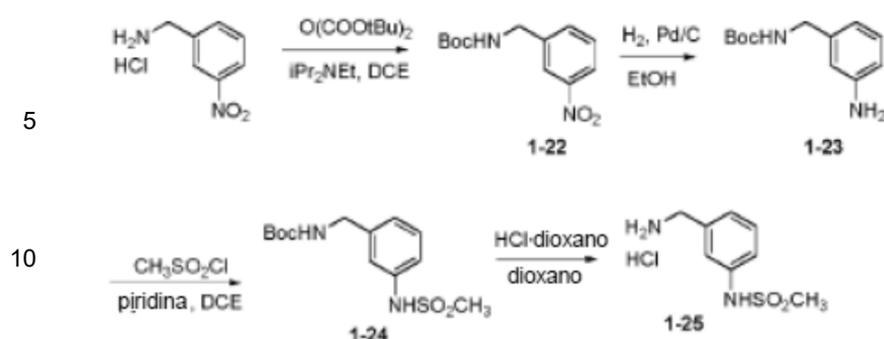
Este procedimiento se usó para preparar: etil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-1[(4-nitrofenoxi)carbonil]amino}propanoato (1-21) a partir de 1-20; bencil {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-54) a partir de 3-13 y bencilcloroformiato; bencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[(etoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-76) a partir de 3-66•HCl y cloroformiato de etilo; y bencil {(2S)-6-[(benciloxi)carbonil]amino]-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-77) a partir de 3-66 y bencilcloroformiato.

Alternativamente, puede usarse diclorometano o tetrahidrofurano en lugar de dicloroetano. Esta variación se usó para preparar: 4-nitrofenil bis(2-tienilmetil)carbamato (1-33) a partir de 1-1 en tetrahidrofurano; 4-nitrofenil [(2S)-1-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]oxi]hexan-2-il]carbamato (2-10) a partir de 2-4 en diclorometano; y bencil {6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-113) a partir de 3-103 y cloroformiato de bencilo en diclorometano.

En otra variación, se usó piridina en lugar de N,N-diisopropiletilamina. Esta variación se usó para preparar: metil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[[(4-nitrofenoxi)carbonil]amino]propanoato (1-32) a partir de 1-29; 4-nitrofenil{(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-44) a partir de 3-13 en diclorometano; bencil [(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[[[(4-nitrofenoxi)carbonil]amino]-6-oxohexil]carbamato (3-67) a partir de 3-66 en dicloroetano; y (2S)-2-[[[(4-nitrofenoxi)carbonil]amino]hexil (2-metoxietil)(2-tienilmetil)carbamato (2-106) a partir de 2-104 en dicloroetano;

Aún en otra variación, se usó un biscloroformiato en lugar del cloroformiato, que reacciona con 2 equivalentes de 1-1 y 6 equivalentes de N,N-diisopropiletilamina en diclorometano. Este método se usó para preparar: 3-oxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4,7,10-trioxa-2-azadodecan-12-il bis(2-tienilmetil)carbamato (6-20) a partir de trietilenglicol biscloroformiato; y etano-1,2-diil bis[bis(2-tienilmetil)carbamato] (6-25) a partir de etileno(biscloroformiato).

Ejemplo 5: Preparación de clorhidrato de N-[3-(aminometil)fenil]metanosulfonamida (1-25).



I. *tert*-Butil (3-nitrobenzil)carbamato (1-22).

A una solución de clorhidrato de 3-nitrobenzilamina (0,847 g, 4,5 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (4,0 mL, 23 mmol), en 1,2-dicloroetano (15 mL) a 0 °C y bajo una atmósfera de nitrógeno seco, se añadió una solución de di-*tert*-butil dicarbonato (1,24 g, 5,7 mmol) en 1,2-dicloroetano (5 mL). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente lentamente, se agitó durante toda la noche, se diluyó con acetato de etilo:hexanos 1:1 y se lavó con agua, ácido clorhídrico acuoso (1 N), bicarbonato de sodio acuoso saturado, agua y salmuera saturada. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice, eluyendo con hexanos: acetato de etilo (19:1 a 1:1) para obtener el compuesto del título 1-22 como un sólido blanquecino (1,1 g).

Alternativamente, puede usarse una amina libre en lugar del clorhidrato de amina y la base de amina terciaria, y puede usarse tetrahidrofurano en lugar de dicloroetano. Esta variación de este procedimiento se usó para preparar *tert*-butil(2-tienilmetil)carbamato (2-30) a partir de 2-tienilmetilamina.

En otra variación, se usaron trietilamina y diclorometano en lugar de *N,N*-diisopropiletilamina y dicloroetano. Esta variación se usó para preparar metil 4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]butanoato (3-143) a partir de clorhidrato de éster metílico de ácido 4-aminobutírico.

II. *tert*-Butil (3-aminobencil)carbamato (1-23).

A una solución de 1-22 (0,53 g, 2,10 mmol) en etanol absoluto (25 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno seco, se añadió metal paladio sobre carbón (Degussa tipo E101 NE/W, 50 % de H₂O, 10 % de Pd en base al peso en seco, 0,22 g, 0.10 mmol de Pd). La atmósfera se reemplazó con hidrógeno (alternando varias veces entre el vacío y el hidrógeno de un tanque) y la reacción se agitó durante toda la noche, se lavó con N₂ y se filtró a través de un agente de filtro Celite®, con enjuague con etanol. El filtrado se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 1-23 como un jarabe marrón oscuro (0,38 g).

III. *tert*-Butil {3-[(metilsulfonyl)amino]benzil}carbamato (1-24).

A una solución de 1-23 (71 mg, 0,32 mmol) en piridina (0,13 mL, 1,61 mmol) y 1,2-dicloroetano (0,4 mL), se añadió cloruro de metanosulfonylo (0,028 mL, 0,36 mmol). El recipiente de reacción se selló y se agitó a temperatura ambiente durante 2 días, se diluyó con acetato de etilo, se lavó secuencialmente con agua (3 veces) y salmuera saturada. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía automatizada en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de acetato de etilo/hexanos (de 10 a 100 %) para obtener el compuesto del título 1-24 como un sólido amarillo claro (72 mg).

IV. Clorhidrato de *N*-[3-(Aminometil)fenil]metanosulfonamida (1-25).

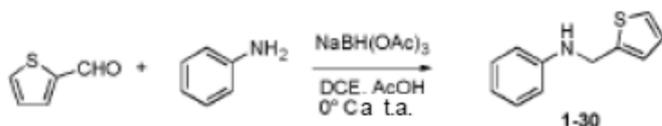
A una solución de 1-24 (55 mg, 0,18 mmol) en 1,4-dioxano (0,5 mL), se añadió cloruro de hidrógeno (4 M en 1,4-dioxano, 0,5 mL, 2 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 días y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 1-25 como un sólido blanquecino (52 mg).

Este procedimiento también se usó para preparar: Clorhidrato de *N*-metil-1-(2-tienil)metanamina (2-32) a partir de 2-31; clorhidrato de (2*S*)-2-amino-6-[[benciloxi]carbonil]amino]hexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-57) a partir de 2-56; clorhidrato de (2*R*)-2-aminohexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-61) a partir de 2-60; clorhidrato de 2-(metilamino)-*N,N*-bis(2-tienilmetil)acetamida (3-17) a partir de 3-9; clorhidrato de bencil {(5*R*)-5-amino-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil]carbamato (3-63) a partir de 3-62; clorhidrato de bencil {(5*S*)-5-amino-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil]carbamato (3-66•HCl) a partir de 3-65; clorhidrato de bencil [(5*S*)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-(metilamino)-6-oxohexil]carbamato (3-84) a partir de 3-83; clorhidrato de (2*S*)-2-aminohexil bis(4-metoxibencil)carbamato (2-68) a partir de 2-67; clorhidrato de (2*S*)-2-aminohexil dibencilcarbamato (2-73) a partir de 2-72; clorhidrato de (2*S*)-2-aminohexil bis(4-

metilbencil)carbamato (2-77) a partir de 2-76; clorhidrato de (2S)-2-aminohehexil bis(4-clorobencil)carbamato (2-81) a partir de 2-80; clorhidrato de (2S)-2-aminohehexil (4-bromobencil)(2-tienilmetil)carbamato (2-85) de 2-84; clorhidrato de (2S)-2-aminohehexil fenil(2-tienilmetil)carbamato (2-90) a partir de 2-89; clorhidrato de (2S)-2-aminohehexil bis(3-tienilmetil)carbamato (2-94) a partir de 2-93; clorhidrato de (2S)-2-aminohehexil butil(2-tienilmetil)carbamato (2-99) a partir de 2-98; clorhidrato de (2S)-2-aminohehexil (2-metoxietil)(2-tienilmetil)carbamato (2-104) a partir de 2-103; clorhidrato de (2S)-2-aminohehexil diisobutilcarbamato (2-115) a partir de 2-114; y clorhidrato de S-[(2S)-2-aminohehexil] bis(2-tienilmetil)carbamato (2-119) a partir de 2-118.

Ejemplo 6: Preparación de N-(2-tienilmetil)anilina (1-30).

10



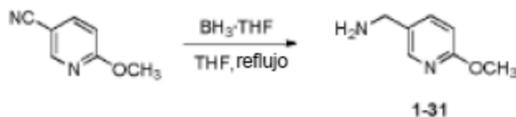
15

A una solución de anilina (186 mg, 2,0 mmol), se añadió 2-tiofenocarboxaldehído (673 mg, 6,0 mmol) y ácido acético (0,7 mL, 12,0 mmol) en dicloroetano (7 mL) a 0 °C, triacetoxiborohidruro de sodio (1,27 g, 6,0 mmol). El baño de hielo se retiró y la mezcla se agitó durante toda la noche. La reacción se diluyó con bicarbonato de sodio saturado acuoso y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con agua y salmuera (dos veces), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título 1-30 como un aceite ámbar (135 mg).

20

Ejemplo 7: Preparación de 1-(6-metoxipiridin-3-il)metanamina (1-31).

25



30

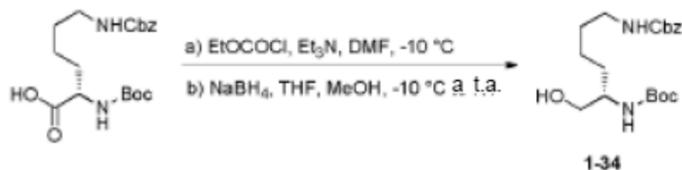
A una solución agitada de 2-metoxipiridin-5-carbonitrilo (0,95 g, 7,1 mmol) en tetrahidrofurano (25 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno seco, se añadió gota a gota borano·THF (1,0 M en THF, 8,0 mL, 8,0 mmol). La solución resultante se calentó a reflujo durante toda la noche, se añadió borano·THF adicional (8 mL, 8,0 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante toda la noche. Se añadió borano·THF adicional (18 mL, 18,0 mmol) y la mezcla se agitó a reflujo durante toda la noche, después a temperatura ambiente durante 7 días. La reacción se enfrió a 0 °C, se inactivó con agua, se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (6 N) y se calentó a reflujo durante 2 h. La mezcla resultante se extrajo con diclorometano (4 veces). La capa acuosa se basificó con hidróxido de sodio acuoso (1 N) y se extrajo con diclorometano (5 veces). Se combinaron los extractos orgánicos de la capa acuosa básica, se lavaron secuencialmente con bicarbonato de sodio acuoso saturado (dos veces) y salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título 1-31 como un jarabe marrón denso (0,30 g).

35

40

Ejemplo 8: Preparación de bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-hidroxihehexil}carbamato (1-34).

45



50

A una solución de Boc-Lys(Z)-OH (3,00 g, 7,89 mmol) y trietilamina (1,2 mL, 8,7 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 mL) a -10 °C bajo una atmósfera de nitrógeno seco, se añadió gota a gota cloroformiato de etilo (0,83 mL, 8,7 mmol). La reacción se agitó durante 30 minutos y se filtró, con enjuague con tetrahidrofurano (3 veces con 2 mL). El filtrado se enfrió a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno seco, y se añadió borohidruro de sodio (895 mg, 23,7 mmol). A esta mezcla, se añadió gota a gota metanol (100 mL). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora, se acidificó cuidadosamente con ácido clorhídrico acuoso (2 N) y se concentró a presión reducida. El residuo se dividió entre agua y acetato de etilo y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (dos veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron sucesivamente con ácido clorhídrico acuoso (1 N), agua, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera (dos veces), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el producto del título 1-34 como un aceite incoloro (2,58 g).

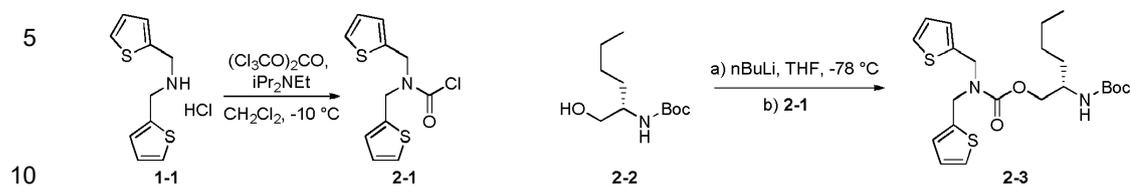
55

60

Alternativamente, podría usarse N-metilmorfolina en lugar de trietilamina. Esta variación del procedimiento en este ejemplo se usó para preparar: terc-butil [(2S)-1-hidroxihehexan-2-il]carbamato (2-2) a partir de N-terc-butoxicarbonilnorleucina (Boc-Nle-OH); y terc-butil [(2R)-1-hidroxihehexan-2-il]carbamato (2-59) a partir de Boc-D-Nle-OH.

65

Ejemplo 9: Preparación de terc-butil [(2S)-1-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]oxi]hexan-2-il]carbamato (2-3).



I. Cloruro de bis(2-tiofenilmetil)carbámico (2-1).

15 A una solución agitada de trifosgeno (381 mg, 1.28 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (0.60 mL, 3.5 mmol) en diclorometano (15 mL) a -10 °C bajo nitrógeno, se añadió gota a gota una solución de 1-1 (757 mg, 3.08 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (0.60 mL, 3.5 mmol) en diclorometano (5 mL). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 24 horas. Se añadió trifosgeno adicional (162 mg, 0.54 mmol) y la mezcla se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo:hexanos (1:1), se lavó secuencialmente con agua, ácido clorhídrico (1 N), bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 2-1 como un aceite ámbar (934 mg). Este material se usó sin purificación.

20

25 Este procedimiento también se usó para preparar: cloruro de metil(2-tienilmetil)carbámico (2-33) a partir de 2-32; y cloruro de {2-[[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]butil}carbámico (7-5) a partir de 7-4. Alternativamente, puede usarse tetrahidrofurano como disolvente. Esta variación se usó para preparar: cloruro de bis(4-metoxibencil)carbámico (2-65) a partir de 1-6; cloruro dibencilcarbámico (2-71) a partir de dibencilamina; cloruro de bis(4-metilbencil)carbámico (2-75) a partir de 1-43; cloruro de bis(4-clorobencil)carbámico (2-79) a partir de 1-44; cloruro de (4-bromobencil)(2-tienilmetil)carbámico (2-83) a partir de 1-46; cloruro de fenil(2-tienilmetil)carbámico (2-88) a partir de 1-30; cloruro de bis(3-tienilmetil)carbámico (2-92) a partir de 1-47; cloruro de butil(2-tienilmetil)carbámico (2-96) a partir de 1-9; cloruro de (2-metoxietil)(2-tienilmetil)carbámico (2-101) a partir de 1-12; cloruro de bis(ciclopropilmetil)carbámico (2-109) a partir de 1-48; y cloruro de diisobutilcarbámico (2-113) a partir de diisobutilamina.

30

35 Alternativamente, podría usarse una amina primaria en lugar del clorhidrato de amina secundaria, obteniéndose un isocianato en lugar de un cloruro carbámico. Esta variación se usó para preparar 2-tienilmetilisocianato (3-157) a partir de 2-tiofenilmetilamina.

II. terc-Butil [(2S)-1-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]oxi]hexan-2-il]carbamato (2-3).

40 A una solución agitada de 2-2 (0,66 g, 3,0 mmol) en tetrahidrofurano (15 mL) a -78 °C bajo una atmósfera de nitrógeno seco, se añadió gota a gota *n*-butil litio (1,6 M en hexanos, 2,2 mL, 3,4 mmol). Después de 10 minutos, se añadió gota a gota una solución de 2-1 en tetrahidrofurano (1 mL). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente lentamente y se agitó durante 2 días. La reacción se diluyó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo (tres veces). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera saturada. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (9:1 a 1:1) para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (0,37 g).

45

50 Este procedimiento también se usó para preparar los siguientes compuestos: terc-butil (2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]oxi]etil)carbamato (2-15) a partir de terc-butil 2-hidroxietilcarbamato y 2-1; y (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]hexil metil(2-tienilmetil)carbamato (2-34) a partir de 2-2 y 2-33.

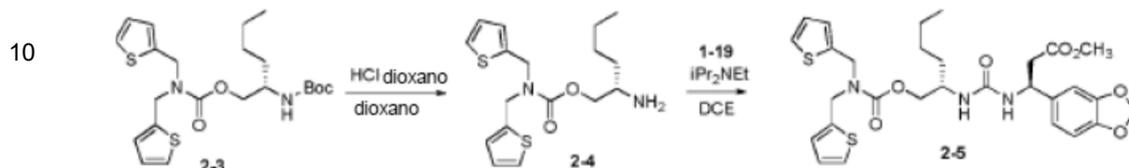
55 Alternativamente, podría usarse bis(trimetilsilil)amida de potasio (0,5 M en tolueno) en lugar de butillitio. Esta variación se usó para preparar: bencil {(5S)-6-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]oxi]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]hexil}carbamato (2-56) a partir de 1-34 y 2-1; y terc-butil[(2R)-1-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]oxi]hexan-2-il] carbamato (2-60) a partir de 2-59 y 2-1. Esta variación también se realizó mediante el uso de litio bis(trimetilsilil)amida (1,0 M en tetrahidrofurano) como base para preparar: bencil {(5S)-6-[[bis(4-metoxibencil)carbamoil]oxi]-5-[(terc-butil)butoxicarbonil]amino]hexil}carbamato (2-66) a partir de 1-34 y 2-65; terc-butil [(2S)-1-[[bis(4-metoxibencil)carbamoil]oxi]hexan-2-il]carbamato (2-67) a partir de 2-2 y 2-65; (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]hexil dibencilcarbamato (2-72) a partir de 2-2 y 2-71; terc-butil [(2S)-1-[[bis(4-metilbencil)carbamoil]oxi]hexan-2-il]carbamato (2-76) a partir de 2-2 y 2-75; terc-butil [(2S)-1-[[bis(4-clorobencil)carbamoil]oxi]hexan-2-il]carbamato (2-80) a partir de 2-2 y 2-79; (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]hexil (4-bromobencil)(2-tienilmetil)carbamato (2-84) a partir de 2-2 y 2-83; (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]hexil fenil(2-tienilmetil)carbamato (2-89) a partir de 2-2 y 2-88; terc-butil [(2S)-1-[[bis(3-tienilmetil)carbamoil]oxi]hexan-2-il]carbamato (2-93) a partir de 2-2 y 2-92; bencil [(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[[butil(2-tienilmetil)carbamoil]oxi]hexil]carbamato (2-97) a partir de 1-34 y 2-96; (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]hexil butil(2-tienilmetil)carbamato (2-98) a partir de 2-2 y 2-96; bencil [(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[[2-metoxietil](2-tienilmetil)carbamoil]oxi]hexil]carbamato (2-102) a

60

65

partir de 1-34 y 2-101; (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]hexil (2-metoxietil)(2-tienilmetil)carbamato (2-103) a partir de 2-2 y 2-101; y terc-butil [(2S)-1-[[bis(ciclopropilmetil)carbamoil]oxi]hexan-2-il]carbamato (2-110) a partir de 2-2 y 2-109; y (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]hexil diisobutilcarbamato (2-114) a partir de 2-2 y 2-113.

5 Ejemplo 10: Preparación de metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-5).



I. (2S)-2-Aminohexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-4).

20 A una solución de 2-3 (0,49 g, 1,0 mmol) en 1,4-dioxano (3 mL), se añadió cloruro de hidrógeno (4 M en dioxano, 2,7 mL, 11 mmol). El recipiente de la reacción se selló con un tapón de goma y se agitó durante toda la noche. La mezcla se enfrió después a 0 °C y se basificó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 2-4 como un aceite de color marrón oscuro (0,40 g). Este material se usó sin purificación adicional.

25 Los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con este procedimiento: (S)-2-(metilamino)hexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-7) a partir de 2-6; 2-aminoetil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-16) a partir de 2-15; (2S)-2-aminohexil metil(2-tienilmetil)carbamato (2-35) a partir de 2-34; (2S)-2-amino-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-13) a partir de 3-12; (2R)-2-amino-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-57) a partir de 3-10; y bencil {(5S)-5-amino-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-66) a partir de 3-65.

35 En otra variación, podría usarse ácido trifluoroacético en lugar de cloruro de hidrógeno. Los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con esta variación del procedimiento: 2-amino-N,N-bis(tiofen-2-ilmetil)acetamida (3-2) a partir de 3-1; y 3-amino-N,N-bis(tiofen-2-ilmetil)propanamida (3-5) a partir de 3-4. Esta variación también se modificó adicionalmente mediante el uso de diclorometano como disolvente para preparar: 6-amino-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-103) a partir de 3-102; 6-amino-N,N-bis(4-metoxibencil)hexanamida (3-135) a partir de 3-134; 4-amino-N,N-bis(2-tienilmetil)butanamida (3-146) a partir de 3-145; y 3-(butilamino)-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (3-155) a partir de 3-154; y 3-(metilamino)-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (7-33) a partir de 7-32.

40 II. Metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-5).

45 A una solución de 1-19 (86 mg, 0,22 mmol) en 1,2-dicloroetano (1,5 mL), se añadió una solución de 2-4 (87 mg, 0,25 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,080 mL, 0,46 mmol) en 1,2-dicloroetano (0,5 mL). La mezcla de reacción resultante de color amarillo brillante se selló y se agitó durante 2 días, se diluyó con acetato de etilo/hexanos (1:1), se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (8-9 veces) y salmuera saturada. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice, eluyendo con hexano:acetato de etilo (13:7 a 11:9) para obtener el compuesto del título 2-5 como un jarabe de color amarillo claro a tostado (107 mg).

50 Este procedimiento también se usó para preparar: metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-7-metil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-8) a partir de 2-7 y 1-19; etil (6S,10R)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-7-metil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-9) a partir de 2-7 y 1-21; (2S)-2-[[1,3-benzodioxol-5-ilmetil]carbamoil]amino]hexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-11) a partir de piperonilamina y 2-10; metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-9-metil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-38) a partir de 2-10 y 2-37; (2S)-2-[[1,3-benzodioxol-5-ilmetil]carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-46) a partir de 3-44 y piperonilamina; (2S)-2-[[4-hidroxibencil]carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-47) a partir de 3-44 y 4-hidroxibencilamina; (2S)-2-[[3-(morfolin-4-il)bencil]carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-50) a partir de 3-44 y (3-morfolinofenil)metilamina; (2S)-2-[[piridin-3-ilmetil]carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-51) a partir de 3-44 y 3-(aminometil)piridina; (2S)-2-[[6-metoxipiridin-3-il]metil]carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-52) a partir de 3-44 y 1-31; metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{(2R)-1-[bis(tiofen-2-ilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il]carbamoil]amino]propanoato (3-58) a partir de 3-57 y 1-19; bencil [(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxo-5-[[piridin-3-ilmetil]carbamoil]amino]hexil]carbamato (3-79) a partir de 3-(aminometil)piridina y 3-67; bencil [(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[[3-(morfolin-4-il)bencil]carbamoil]amino]-6-oxohexil]carbamato (3-80) a partir de (3-morfolinofenil)metilamina y 3-67; etil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il]carbamoil]amino]propanoato (3-120) a partir de 3-13 y 1-21; y etil (3R)-3-(1,3-

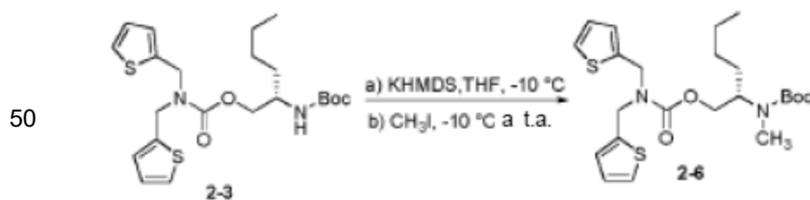
benzodioxol-5-il)-3-(((2R)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il)carbamoilo)amino]propanoato (3-126) a partir de 3-57 y 1-21.

Alternativamente, la sal de clorhidrato de la amina puede usarse mediante el aumento de la cantidad de base. Esta variación se usó para preparar: metil (6S)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-14) a partir de clorhidrato de éster metílico de α -alanina y 2-10; metil (9S,13S)-13-(1,3-benzodioxol-5-il)-9-(((bis(2-tienilmetil)carbamoil)oxi)metil)-3,11-dioxo-1-fenil-2-oxa-4,10,12-triazapentadecan-15-oato (2-58) a partir de 2-57 y 1-19; metil (6R,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-62) a partir de 2-61 y 1-19; metil (6R,10R)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-63) a partir de 2-61 y 1-32; (2S)-2-(((4-(dimetilamino)bencil)carbamoil)amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-48) a partir de 3-44 y clorhidrato de 4-dimetilaminobencilamina; metil 3-(((2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il)carbamoil)amino]propanoato (3-49) a partir de 3-44 y clorhidrato de éster metílico de beta-alanina; metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(((2R)-6-(((benciloxi)carbonil)amino)-1-[bis(tiofen-2-ilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il)carbamoil)amino]propanoato (3-64) a partir de 3-63 y 1-19; bencil ((5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-(((3-((metilsulfonil)amino)bencil)carbamoil)amino)-6-oxohexil)carbamoato (3-68) a partir de 3-67 y 1-25; metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-2-(4-metoxibencil)-1-(4-metoxifenil)-3,8-dioxo-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-69) a partir de 2-68 y 1-19; metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-bencil-6-butil-3,8-dioxo-1-fenil-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-74) a partir de 2-73 y 1-19; metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-2-(4-metilbencil)-1-(4-metilfenil)-3,8-dioxo-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-78) a partir de 2-77 y 1-19; metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-2-(4-clorobencil)-1-(4-clorofenil)-3,8-dioxo-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-82) a partir de 2-81 y 1-19; metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-(4-bromobencil)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-86) a partir de 2-85 y 1-19; metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-2-fenil-1-(2-tienil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-91) a partir de 2-90 y 1-19; metil (3S,7S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-7-butil-5,10-dioxo-11-(2-tienilmetil)-9-oxa-4,6,11-triazapentadecan-1-oato (2-100) a partir de 2-99 y 1-19; metil (9S,13S)-13-(1,3-benzodioxol-5-il)-9-butil-6,11-dioxo-5-(2-tienilmetil)-2,7-dioxa-5,10,12-triazapentadecan-15-oato (2-105) a partir de 2-104 y 1-19; (2S)-2-(((3-((metilsulfonil)amino)bencil)carbamoil)amino)hexil (2-metoxietil)(2-tienilmetil)carbamoato (2-107) a partir de 1-25 y 2-106; (2S)-2-(((4-bromobencil)carbamoil)amino)hexil bis(2-tienilmetil)carbamoato (2-111) a partir de 4-bromobencilamina y 2-10; metil (8S,12S)-12-(1,3-benzodioxol-5-il)-8-butil-4-isobutil-2-metil-5,10-dioxo-6-oxa-4,9,11-triazatetradecan-14-oato (2-116) a partir de 2-115 y 1-19; y metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-tia-2,7,9-triazadodecan-12-oato (2-120) a partir de 2-119 y 1-19.

En otra variación, podría usarse tetrahydrofurano en lugar de dicloroetano. Este procedimiento se usó para preparar: etil (6S,10R)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-28) a partir de 2-4 y 1-21; metil (6S,10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-2-metil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-36) a partir de 1-19 y 2-35; metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(((2-bis(2-tienilmetil)amino)-2-oxoetil)carbamoil)amino]propanoato (3-3) a partir de 3-2 y 1-19; y metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(((3-bis(2-tienilmetil)amino)-3-oxopropil)carbamoil)amino]propanoato (3-6) a partir de 3-5 y 1-19.

Se usó diclorometano como disolvente para preparar: metil (6S,10S)-6-butil-3,8-dioxo-10-fenil-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-13) a partir de 2-10 y 2-12; metil ((bis(2-tienilmetil)carbamoil)(metil)amino)acetato (2-50) a partir de clorhidrato de éster metílico de sarcosina y 1-33; y metil (2R)-(((2S)-1-[bis(tiofen-2-ilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il)carbamoil)amino)(fenil)etanoato (3-45) a partir de 3-44 y (R)-(-)-clorhidrato de éster metílico de 2-fenilglicina.

Ejemplo 11: Preparación de terc-butil ((2S)-1-(((bis(2-tienilmetil)carbamoil)oxi)hexan-2-il)metil)carbamoato (2-6).



A una solución agitada de 2-3 (153 mg, 0,34 mmol) en tetrahydrofurano (1,3 mL) a -10 °C bajo una atmósfera de nitrógeno seco, se añadió gota a gota bis(trimetilsilil)amida de potasio (KHMDS, 0,5 M en tolueno, 0,7 mL, 0,35 mmol). Después de 15 minutos, se añadió yodometano (0,028 mL, 0,45 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 días. Se añadieron KHMDS (0,2 mL, 0,10 mmol) y yodometano (0,02 mL, 0,32 mmol) adicionales secuencialmente y la mezcla se agitó durante 2 días. Se añadieron más KHMDS (0,4 mL, 0,20 mmol) y yodometano (0,02 mL, 0,32 mmol) secuencialmente y la mezcla se agitó durante toda la noche. La reacción se diluyó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó secuencialmente con bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (23:2 a 17:3) para obtener el compuesto del título 2-6 como un jarabe incoloro (80 mg).

Este procedimiento también se usó para preparar terc-butil metil(2-tienilmetil)carbamato (2-31) a partir de 2-30.

Alternativamente, podría usarse dioxano en lugar de tetrahidrofurano. Esta variación se usó para preparar (2S)-2-[acetil(metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-55) a partir de 3-37.

5

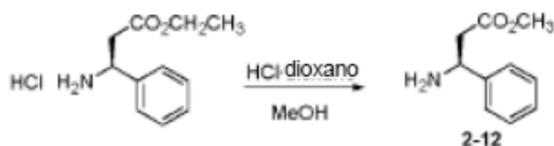
En otra variación, podría usarse hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceite mineral) y N,N-dimetilformamida a temperatura ambiente en lugar de KHMDS y tetrahidrofurano. En algunos casos, la reacción se calentó después de mezclar todos los reactivos. Esta variación se usó para preparar: terc-butil {[bis(2-tienilmetil)carbamoil](butil)amino}acetato (2-52) a partir de 2-51 y n-butilyoduro; metil {[bis(2-tienilmetil)carbamoil](butil)amino}acetato (2-54) a partir de 2-53 y n-butilyoduro; N-{6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}-N-(3-metoxibencil)tiofeno-2-carboxamida (3-115) a partir de 3-107 y bromuro de 3-metoxibencilo; terc-butil {(2S)-6-[bencil(trifluoroacetil)amino]-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-123) a partir de 3-90 y cloruro de bencilo; N-{6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}-N-metiltiofeno-2-carboxamida (3-139) a partir de 3-107 y yodometano a 50 °C; 6-[(3-metoxibencil)(2-tienilacetil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-140) a partir de 3-112 y bromuro de 3-metoxibencilo; terc-butil {3-[bis(2-tienilmetil)amino]-3-oxopropil}butilcarbamato (3-154) a partir de 3-4 y butilyoduro a 50 °C; y terc-butil {3-[bis(2-tienilmetil)amino]-3-oxopropil}metilcarbamato (7-32) a partir de 3-4 y yodometano a 50 °C. Esta variación también se usó para alquilar sulfonamida 7-8 con alquil cloruro 7-9 a 50 °C para obtener N-{3-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]propil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida (7-10).

Aún en otra variación, la disulfonamida 5-32 se trató con 0,5 equivalentes de hidruro de sodio en tetrahidrofurano seguido de 0,75 equivalentes de bromuro de 3-metoxibencilo para obtener N-(3-metoxibencil)-N-{5-[(2-tienilsulfonil)amino]pentil}tiofeno-2-sulfonamida (5-33).

En otra variación, la diamida simétrica, 5-36, se trató con 1,1 equivalentes de litio bis(trimetilsilil)amida en tetrahidrofurano seguido de 1,1 equivalentes de 3-metoxibencilbromuro para obtener predominantemente N-(3-metoxibencil)-N-{5-[(2-tienilcarbonil)amino]pentil}tiofeno-2-carboxamida (5-37). Se preparó N,N'-pentano-1,5-diilbis[N-(3-metoxibencil)tiofeno-2-carboxamida] (5-38) mediante esta variación con el aumento a 2,2 equivalentes de cada uno de bis(trimetilsilil)amida de litio y 3-metoxibencilbromuro.

Ejemplo 12: Preparación de metil (3S)-3-amino-3-fenilpropanoato (2-12).

35

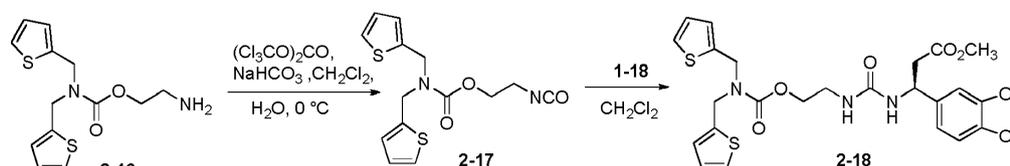


A una solución agitada de etil (S)-3-amino-3-fenilpropanoato (102 mg, 0,44 mmol) en metanol (10 mL), se añadió cloruro de hidrógeno (4 M en 1,4-dioxano anhidro, 0,2 mL, 0,8 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante toda la noche, se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título 2-12 como un aceite amarillo (36 mg). Este material se usó sin purificación adicional.

45

Ejemplo 13: Preparación de metil (10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-18).

50



55

I. 2-Isocianatoetil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-17)

60

A una mezcla agitada de 2-16 (90 mg, 0,30 mmol) en diclorometano (1 mL) y bicarbonato de sodio acuoso saturado (1 mL) a 0 °C, se añadió una solución de trifosgeno (38 mg, 0,13 mmol) en diclorometano (0,2 mL). Después de 2,5 h, la reacción se diluyó con diclorometano y bicarbonato de sodio acuoso saturado y la fase acuosa se lavó con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título 2-17 en forma de un aceite amarillo pardo (75 mg). Este material se usó sin purificación.

65

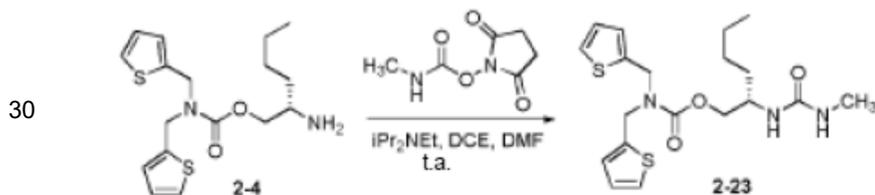
II. Metil(10S)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-18).

A una solución de 2-17 (75 mg, 0,23 mmol) en diclorometano (0,50 mL), se añadió una solución de 1-18 (66 mg, 0,30 mmol) en diclorometano (0,25 mL) seguido de dos enjuagues con diclorometano (0,25 mL). Después de 2 días, la reacción se purificó directamente mediante cromatografía en columna en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo/hexanos (2:3 a 1:4) para obtener el compuesto del título 2-18 como un sólido incoloro (72 mg).

Este procedimiento también se usó para preparar: (2S)-2-[(bencilcarbamoil)amino]hexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-20) a partir de 2-4 e isocianato de bencilo; (2S)-2-[(terc-butilcarbamoil)amino]hexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-21) a partir de 2-4 e isocianato de terc-butilo; (2S)-2-[(isopropilcarbamoil)amino]hexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-22) a partir de 2-4 e isopropil isocianato; (2S)-2-[(terc-butilcarbamoil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-38) a partir de 3-13 y terc-butilisocianato; (2S)-2-[(isopropilcarbamoil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-39) a partir de 3-13 e isopropilisocianato en dicloroetano; (2S)-2-[(bencilcarbamoil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-53) a partir de 3-13 e isocianato de bencilo; y (2R)-2-[(bencilcarbamoil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-61) a partir de 3-57 e isocianato de bencilo.

Alternativamente, el isocianato podría hacerse reaccionar con una amina o clorhidrato de amina en presencia de una base de amina terciaria, tal como N,N-diisopropiletilamina o piridina, y la mezcla de reacción en bruto se sometió a un tratamiento acuoso estándar. Esta variación se usó para preparar: metil 3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-19) a partir de 2-17 y clorhidrato de éster metílico de beta-alanina con N,N-diisopropiletilamina; bencil ((5S)-5-[(bencilcarbamoil)amino]-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil)carbamato (3-78) a partir de isocianato de bencilo y 3-66•HCl con piridina; y 3-{butil[(2-tienilmetil)carbamoil]amino}-N,N-bis(2-tienilmetil) propanamida (3-158) a partir de 3-157 y 3-155 con N,N-diisopropiletilamina.

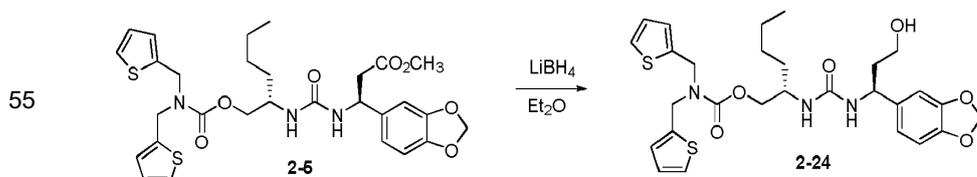
Ejemplo 14: Preparación de (2S)-2-[(metilcarbamoil)amino]hexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-23).



35 A una suspensión de 2-4 (39 mg, 0,11 mol) en 1,2-dicloroetano (0,25 mL), se añadió una solución de N-succinimidil-N-metilcarbamato (NSMC, 29 mg, 0,17 mmol) en 1,2-dicloroetano (0,5 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 día y se añadió N,N-dimetilformamida (0,50 mL) para mejorar la solubilidad. La mezcla se agitó durante 2 días y se añadió NSMC adicional (38 mg, 0,22 mmol). La mezcla se agitó durante 2 días más y se añadió NSMC (98 mg, 0,57 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,20 mL, 1,2 mmol). La reacción se agitó durante 3 horas, se diluyó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo:hexanos (1:1). La capa orgánica se lavó secuencialmente con bicarbonato de sodio acuoso saturado, ácido clorhídrico (0,1 N), agua (3 veces) y salmuera saturada. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con metanol (1 a 1,5 %) en acetato de etilo:hexanos (3:2) para obtener el compuesto del título 2-23 en forma de un sólido incoloro (22 mg).

45 Este procedimiento también se usó para preparar (2S)-2-[(metilcarbamoil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-40) a partir de 3-13.

50 Ejemplo 15: Preparación de (2S)-2-(((1S)-1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-hidroxiopropil)carbamoil)amino)hexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-24).



60

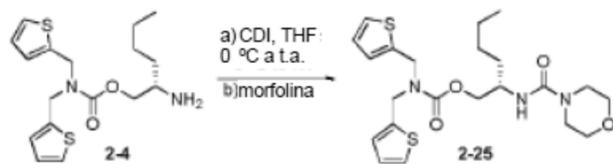
65

A una solución de 2-5 (90 mg, 0,15 mmol) en éter dietílico (1,5 mL), se añadió borohidruro de litio (7 mg, 0,32 mmol). La mezcla se agitó durante 90 minutos y se diluyó con acetato de etilo, agua y HCl (2 N). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio (anhidro), se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 2-24 como un sólido blanco (44 mg).

Este procedimiento también se usó para preparar: 3-[(2S)-1-hidroxihexan-2-il]-1,1-bis(2-tienilmetil)urea (2-45) a partir de 2-40; y 3-[(2R)-1-hidroxihexan-2-il]-1,1-bis(2-tienilmetil)urea (2-46) a partir de 2-39.

Alternativamente, podría usarse tetrahidrofurano en lugar de éter dietílico. Esta variación se usó para preparar: (2R)-2-(((1S)-1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-hidroxiopropil]carbamoil]amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-59) a partir de 3-58; 2-(hidroximetil)-N,N-bis(3-metoxibencil)tiofeno-3-sulfonamida (4-40) a partir de 4-16; y (2S)-2-(((1S)-1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-hidroxiopropil]carbamoil]amino)hexil bis(4-metoxibencil)carbamatato (2-70) a partir de 2-69.

Ejemplo 16: Preparación de (2S)-2-[(morfolin-4-ilcarbonil)amino]hexil bis(2-tienilmetil)carbamatato (2-25).

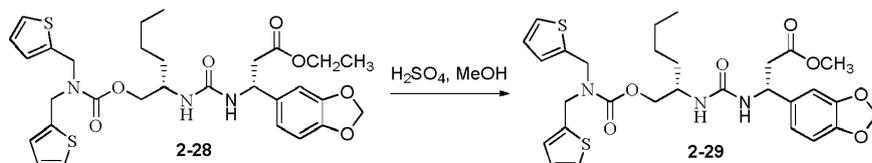


A una solución de 2-4 (39,6 mg, 0,113 mmol) en THF a 0 °C, se añadió carbonildiimidazol (24,3 mg, 0,150 mmol), y se retiró el baño de hielo para permitir que la solución alcanzara la temperatura ambiente. Se añadió una solución de morfolina (15,5 mg, 0,180 mmol) en THF (0,5 mL) a temperatura ambiente con una jeringa. La mezcla resultante se agitó durante 60 horas y se purificó directamente mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (1:1 a 1:3) para obtener el compuesto del título. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo 2-25 (50,4 mg).

Este procedimiento también se usó para preparar: (2S)-2-[(3-metoxipropil]carbamoil]amino}hexil bis(2-tienilmetil)carbamatato (2-26) a partir de 2-4 y 3-metoxipropilamina; (2S)-2-[(2-metoxietil]carbamoil]amino}hexil bis(2-tienilmetil)carbamatato (2-27) a partir de 2-4 y 2-metoxietilamina; y metil(3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{2-bis(2-tienilmetil)amino}-2-oxoetil]carbamoil]amino]propanoato (3-7) a partir de 1-29 y 3-2. Este procedimiento también podría realizarse mediante la adición de N-metilmorfolina a la mezcla de reacción. Esta modificación se usó para preparar: metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{4-bis(2-tienilmetil)amino}-4-oxobutil]carbamoil]amino]propanoato (3-147) a partir de 3-146 y 1-18 con N,N-diisopropiletilamina (1,3 equivalentes); N,N-bis(2-tienilmetil)-3-[[{2-tienilmetil]carbamoil]amino}propanamida (3-164) a partir de 3-5 y 2-tiofenometilamina con N-metilmorfolina (0,8 equivalentes); y N,N-bis(2-tienilmetil)-2-[[{2-tienilmetil]carbamoil]amino}etanosulfonamida (7-18) a partir de 7-13 y 2-tiofenometilamina con N-metilmorfolina (0,8 equivalentes).

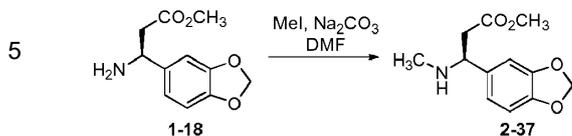
Alternativamente, puede usarse un clorhidrato de amina junto con N,N-diisopropiletilamina para cualquiera de las aminas que reaccionan o ambas. Esta variación se usó para preparar metil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{2-bis(2-tienilmetil)amino}-2-oxoetil](metil)carbamoil]amino]propanoato (3-19) a partir de 1-29 y 3-17. Esta variación se modificó adicionalmente mediante el uso de N-metilmorfolina como base y la adición de N,N-dimetilformamida después de combinar todos los reactivos para mejorar la solubilidad. Este método se usó para preparar: metil (2S)-6-[[{benciloxi]carbonil]amino}-2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]hexanoato (2-47) a partir de H-Lys(Z)-OMe•HCl y 1-1; y metil (2R)-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino](fenil)acetato (2-48) a partir de (R)-metil 2-amino-2-fenilacetato y 1-1.

Ejemplo 17: Preparación de metil (6S,10R)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-2-(2-tienilmetil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-29).



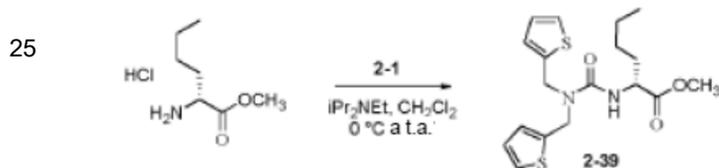
A una solución de 2-28 (0,11 g, 0,18 mmol) en metanol (1,8 mL), se añadió ácido sulfúrico (4 gotas). La solución se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente y después se calentó a reflujo brevemente. La solución se enfrió, se diluyó con diclorometano y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio (anhidro), se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un aceite amarillo pálido que se solidifica en un soporte. Este material se purificó mediante recristalización en hexanos y acetato de etilo para obtener el compuesto del título 2-29 como un sólido blanco (40,6 mg).

Ejemplo 18: Preparación de metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(metilamino)propanoato (2-37).



10 A una solución de 1-18 (275 mg, 1,23 mmol) en N,N-dimetilformamida (4,1 mL) a temperatura ambiente, se añadió yodometano (0,084 mL, 1,36 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 40 horas y después se calentó a 50 °C durante 2 horas. Se añadió una porción adicional de yodometano (0,084 mL, 1,36 mmol) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 1 hora. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió Na₂CO₃ (260 mg, 2,46 mmol) y la mezcla se agitó durante 20 horas. Se añadió una porción adicional de yodometano (0,084 mL, 1,36 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua (4 veces) y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se filtró a través de una pequeña almohadilla de gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (3:2) seguido de acetato de etilo:metanol (9:1). El lavado con acetato de etilo:metanol se concentró a presión reducida para obtener un aceite amarillo pálido (103 mg) que contenía el compuesto del título 2-37 junto con el material de partida y otras impurezas. Este material se usó sin purificación adicional.

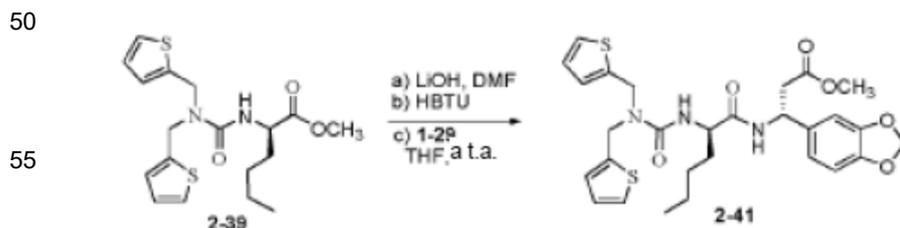
Ejemplo 19: Preparación de metil (2R)-2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]hexanoato (2-39).



30 A una solución de clorhidrato de éster metílico de D-norleucina (134 mg, 0,74 mmol) en diclorometano (3 mL) y N,N-diisopropiletilamina (0,30 mL, 1,6 mmol) a 0 °C, se añadió 2-1 (0,07 g/ml en diclorometano, 3,0 mL, 0,78 mmol). El baño de hielo se retiró y la mezcla se agitó durante 3 días, y se aplicó directamente al gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (3:1) para producir el compuesto del título 2-39 en forma de un aceite incoloro (169 mg).

35 Este procedimiento también se usó para preparar: metil (2S)-2-[[bis(2-tienilmetil)-carbamoil]amino]hexanoato (2-40) a partir de clorhidrato de éster metílico de D-norleucina; terc-butil [[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]acetato (2-51) a partir de clorhidrato de terc-butilglicina; metil [[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]acetato (2-53) a partir de clorhidrato de éster metílico de glicina; 2-[[butil((2-tienilmetil)carbamoil]amino)-N,N-bis(2-tienilmetil) etanosulfonamida (7-6) a partir de 7-5 y 2-tiofenometilamina; 2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (7-7) a partir de 7-5 y 1-1; y 2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (7-14) a partir de 7-13 y 2-1; 3-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (3-153) de 3-5 y 2-1; y 3-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (3-156) a partir de 3-155 y 2-1; y 3-butyl-1,1-bis(2-tienilmetil)urea (3-159) a partir de butilamina y 2-1.

Ejemplo 20: Preparación de metil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[2-(2-tienilmetil)carbamoil]amino]hexanoil]amino]propanoato (2-41).

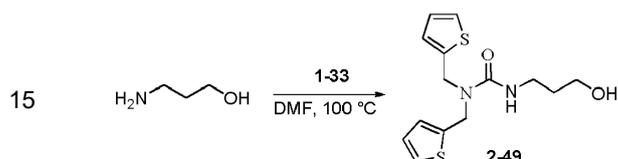


55 A una solución de 2-39 (103 mg, 0,272 mmol) en dimetilformamida (1,0 mL) a temperatura ambiente, se añadió hidróxido de litio en polvo (9,0 mg, 0,380 mmol). La solución se agitó durante 1 hora, se calentó a 65 °C y se agitó durante toda la noche. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y se añadió HBTU (103 mg, 0,22 mmol) para formar una solución concentrada del ácido carboxílico activado de 2-39. A una solución de 1-29 (34 mg, 0,148 mmol) en THF (0,5 mL), se añadió la solución concentrada del ácido carboxílico activado (0,5 mL, 0,136 mmol). La mezcla resultante se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente, se diluyó con hexanos:diclorometano (2:1) y se lavó con HCl acuoso (2 N,

dos veces) y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se filtró a través de gel de sílice. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se llevó a dietiléter y hexanos. El precipitado resultante se filtró y se secó a vacío para obtener el compuesto del título 2-41 como un sólido blanco (20,6 mg).

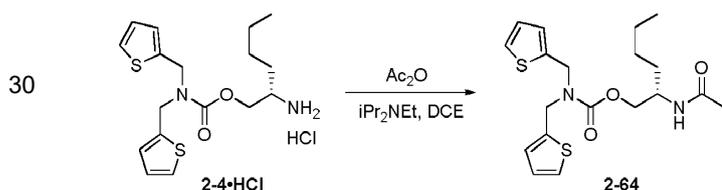
5 Este procedimiento también se usó para preparar: metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(((2R)-2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]hexanoil)amino)propanoato (2-42) a partir de 2-39 y 1-18; metil (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(((2S)-2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]hexanoil)amino)propanoato (2-43) a partir de 2-40 y 1-18, y metil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(((2S)-2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]hexanoil)amino)propanoato (2-44) a partir de 2-40 y 1-19.

10 Ejemplo 21: Preparación de 3-(3-hidroxipropil)-1,1-bis(2-tienilmetil)urea (2-49).



20 A una solución de 1-33 (0,100 g, 0,258 mmol) en N,N-dimetilformamida (0,25 mL), se añadió 3-amino-1-propanol (0,080 mL, 1,1 mmol) y se calentó a 100 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 1 hora, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl acuoso (2 N) y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se decantó y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (1:1) para obtener el compuesto del título 2-49 como un polvo amarillo (36,8 mg).

25 Ejemplo 22: Preparación de (2S)-2-acetamidohexil bis(2-tienilmetil)carbamato (2-64).

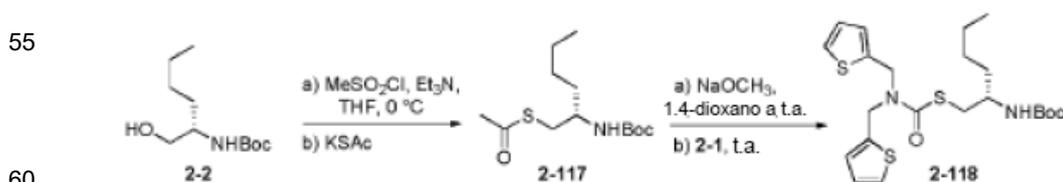


35 A una solución de 2-4-HCl (22 mg, 0,057 mmol) en 1,2-dicloroetano (0,4 mL) a temperatura ambiente, se añadió N,N-diisopropiletilamina (0,040 mL, 0,23 mmol) y anhídrido acético (0,0065 mL, 0,069 mmol). La mezcla se agitó durante toda la noche, se diluyó con hexanos:acetato de etilo 1:1 y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (3:1 a 1:1) para obtener el compuesto del título 2-64 como un sólido blanco (17 mg).

45 Este procedimiento también se usó para preparar: (2R)-2-acetamido-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-60) a partir de 3-57; bencil ((5S)-5-acetamido-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil)carbamato (3-73) a partir de 3-66-HCl; y bencil ((5S)-5-[acetil(metil)amino]-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil)carbamato (3-85) a partir de 3-84.

50 Alternativamente, podría usarse trietilamina en lugar de N,N-diisopropiletilamina y/o diclorometano en lugar de dicloroetano. Esta variación se usó para preparar (2S)-2-acetamido-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-37) a partir de 3-13.

Ejemplo 23: Preparación de terc-butil [(2S)-1-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]tio]hexan-2-il]carbamato (2-118).



65

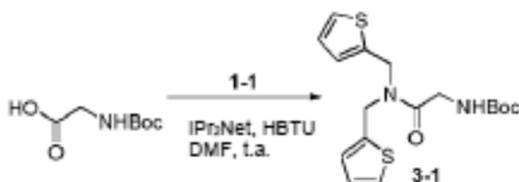
I. S-((2S)-2-[(terc-Butoxicarbonil)amino]hexil) etanotioato (2-117).

A una solución agitada de 2-2 (0,192 g, 0,88 mmol) y trietilamina (0,37 mL, 2,6 mmol) en diclorometano (3 mL) a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno seco se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (0,10 mL, 1,3 mmol). Después de 50 minutos, se añadió tioacetato de potasio (132 mg, 1,2 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente lentamente y se agitó durante toda la noche. La reacción se diluyó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo con hexanos:acetato de etilo (1:1, tres veces). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con ácido clorhídrico acuoso (0,1 N), bicarbonato de sodio acuoso saturado, agua y salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía automatizada en gel de sílice (Biotage®), eluyendo con un gradiente de hexanos:acetato de etilo para obtener el compuesto del título 2-117 como un sólido de bajo punto de fusión (34 mg).

II. terc-Butil [(2S)-1-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]tio]hexan-2-il]carbamatato (2-118).

A una solución de 2-117 (29 mg, 0,10 mmol) en 1,4-dioxano (1 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno seco, se añadió metóxido de sodio (7,2 mg, 0,13 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se añadió metóxido de sodio adicional (2 mg, 0,037 mmol) y la reacción se agitó durante 1,5 horas. A la mezcla resultante, se le añadió gota a gota 2-2 (0,050 g, 0,18 mmol) y la reacción se agitó durante 75 minutos y se diluyó con hexanos:acetato de etilo (1:1). La mezcla se lavó con agua (3 veces) y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía automatizada en gel de sílice (Biotage®), eluyendo con un gradiente de hexanos:acetato de etilo para obtener el compuesto del título 2-118 en forma de un sólido cristalino incoloro (25 mg).

Ejemplo 24: Preparación de terc-butil {2-[bis(2-tienilmetil)amino]-2-oxoetil}carbamatato (3-1).



A una solución de Boc-Gly-OH (200 mg, 1,14 mmol) en N,N-dimetilformamida (4,5 mL), se añadieron secuencialmente diisopropiletilamina (0,44 mL, 2,5 mmol) y HBTU (500 mg, 1,25 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se añadió 1-1 (278 mg, 1,14 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 48 horas, se diluyó con hexanos:acetato de etilo (1:1) y se lavó con HCl acuoso (2 N), agua, cloruro de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó en gel de sílice con hexanos:acetato de etilo (3:1) para obtener el compuesto del título 3-1 en forma de un aceite transparente (0,30 g).

La amina/clorhidrato de amina y el ácido carboxílico típicamente se premezclaron antes de añadir N,N-diisopropiletilamina y HBTU. Este procedimiento también se usó para preparar: terc-butil {3-[bis(2-tienilmetil)amino]-3-oxopropil}carbamatato (3-4) a partir de Boc- α -alanina y 1-1; terc-butil {2-[bis(2-tienilmetil)amino]-2-oxoetil}(metil)carbamatato (3-9) a partir de 3-8 y 1-1; terc-butil {(2R)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamatato (3-10) a partir de Boc-D-Nle-OH y 1-1; terc-butil {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamatato (3-12) a partir de Boc-Nle-OH y 1-1; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(4-nitrobencil)(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil} carbamatato (3-21) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-27; bencil {(5R)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(4-nitrobencil)(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamatato (3-23) a partir de Boc-D-Lys(Z)-OH y 1-27; bencil {(5R)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(3-metoxibencil)(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamatato (3-25) a partir de Boc-D-Lys(Z)-OH y 1-2; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(3-metoxibencil)(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamatato (3-26) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-2; bencil {(5R)-6-[bis(3-metoxibencil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamatato (3-27) a partir de Boc-D-Lys(Z)-OH y 1-3; bencil {(5S)-6-[bis(3-metoxibencil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil} carbamatato (3-28) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-3; bencil [(5R)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxo-6-[[2-(2-tienil)etil](2-tienilmetil)amino]hexil]carbamatato (3-29) Boc-D-Lys(Z)-OH y 1-5; bencil [(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxo-6-[[2-(2-tienil)etil](2-tienilmetil)amino]hexil]carbamatato (3-30) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-5; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[butil(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil} carbamatato (3-31) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-9; bencil {(5S)-6-[bis(4-metoxibencil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamatato (3-32) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-6; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxo-6-[(piridin-3-ilmetil)(2-tienilmetil)amino]hexil}carbamatato (3-33) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-4; bencil {(5S)-6-[bis(piridin-4-ilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamatato (3-34) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-8; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxo-6-[(piridin-4-ilmetil)(2-tienilmetil)amino]hexil}carbamatato (3-36) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-15; terc-butil {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-hidroxi-1-oxohexan-2-il} carbamatato (3-41) a partir de ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-6-hidroxihexanoico y 1-1; metil (5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexanoato (3-43) a partir de 3-42 y 1-1; bencil {(5R)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamatato (3-62) a partir de Boc-(D)-Lys(Z)-OH y 1-1; bencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamatato (3-65) a partir de Boc-Lys(Z)-

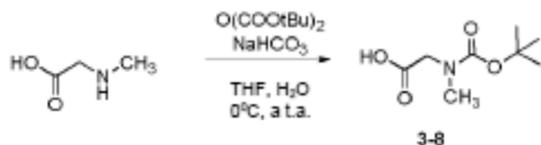
OH y 1-1; y N,N,N'-tris(2-tienilmetil)pentanodiamida (6-2) a partir de 6-1 y 2-tiofenometilamina; N-(3-metoxibencil)-N,N,N'-tris(2-tienilmetil)pentanodiamida (6-3) a partir de 6-1 y 1-2; N'-[2-(2-tienil)etil]-N,N-bis(2-tienilmetil)pentanodiamida (6-4) a partir de 6-1 y 2-(2-tienil)etilamina; N-[2-(2-tienil)etil]-N,N,N'-tris(2-tienilmetil)pentanodiamida (6-5) a partir de 6-1 y 1-5; N,N-bis(3-metoxibencil)-N,N'-bis(2-tienilmetil)pentanodiamida (6-6) a partir de 6-1 y 1-3; N,N-bis(piridin-4-ilmetil)-N,N'-bis(2-tienilmetil)pentanodiamida (6-7) a partir de 6-1 y 1-8; N,N-bis(piridin-3-ilmetil)-N,N'-bis(2-tienilmetil)pentanodiamida (6-8) a partir de 6-1 y 1-7; bencil {(5S)-6-[bis(4-(trifluorometoxi)bencil) amino] -5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil} carbamato (3-130) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-41; bencil [(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxo-6-[(2-tienilmetil)[2-(trifluorometil)bencil]amino]hexil]carbamato (3-131) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-38; bencil [(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxo-6-[(2-tienilmetil)[2-(trifluorometoxi)bencil]amino]hexil]carbamato (1-132) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-39; bencil [(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(2-(difluorometoxi)bencil](2-tienilmetil)amino)-6-oxohexil]carbamato (1-133) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-40; terc-butyl {6-[bis(4-metoxibencil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-134) a partir de Boc-6-Ahx-OH y 1-6; 8-hidroxi-N,N-bis(2-tienilmetil)quinolina-2-carboxamida (4-45) a partir de ácido 8-hidroxiquinolina-2-carboxílico y 1-1; 6-bromo-N,N-bis(2-tienilmetil)nicotinamida (4-46) a partir de ácido 6-bromonicotínico y 1-1; metil 3-[bis(2-tienilmetil)carbamoi]benzoato (4-47) a partir de mono-metil isoftalato y 1-1; terc-butyl {4-[bis(2-tienilmetil)amino]-4-oxobutil}carbamato (3-145) a partir de 3-144 y 1-1; 4-(1,1-dioxido-1,2-tiazolidin-2-il)-N,N-bis(2-tienilmetil)butanamida (3-163) a partir de 3-162 y 1-1; bencil {(5S)-6-[bis(ciclopropilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil} carbamato (3-176) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-48; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(ciclopropilmetil)(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-177) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-49; terc-butyl {(2S)-1,6-bis[bis(2-tienilmetil)amino]-1,6-dioxohexan-2-il}carbamato (6-34) a partir de 6-33 y 1-1; 2-[(2-bis(2-tienilmetil)sulfamoi]etil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (7-21) a partir de 7-20 y 1-1 (3 equivalentes); 3-[(2-bis(2-tienilmetil)sulfamoi]etil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (7-28) a partir de 7-27 y 1-1 (3 equivalentes); 3-[(2-bis(2-tienilmetil)sulfamoi]etil)amino]-N,N-bis(4-metoxibencil)propanamida (7-29) a partir de 7-27 y 1-6 (3 equivalentes); 2-(acetil[2-bis(2-tienilmetil)sulfamoi] etil) amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (7-40) a partir de 7-39 y 1-1; y 2-(acetil[2-bis(4-metoxibencil)sulfamoi] etil) amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (7-44) a partir de 7-43 y 1-1.

Alternativamente, un ácido dicarboxílico podría hacerse reaccionar con 2 equivalentes de cada uno de un clorhidrato de amina y HBTU en presencia de 8 equivalentes de N,N-diisopropiletilamina. Esta variación se usó para preparar: N,N,N,N'-tetrakis(2-tienilmetil)piridina-3,5-dicarboxamida (6-27) a partir de ácido 3,5-piridindicarboxílico y 1-1; N,N,N,N'-tetrakis(2-tienilmetil)piridina-2,6-dicarboxamida (6-28) a partir de ácido 2,6-piridindicarboxílico y 1-1; N,N,N,N'-tetrakis(2-tienilmetil)piridina-2,4-dicarboxamida (6-29) a partir de ácido 2,4-piridindicarboxílico y 1-1; y 2,2'-(1,4-fenileno) bis[N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida] (6-30) a partir de ácido 1,4-fenilendiácético y 1-1.

En otra variación, COMU® podría usarse en lugar de HBTU. Esta variación se usó para preparar: bencil {(3S)-4-[bis(tiofen-2-ilmetil)amino]-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-4-oxobutil}carbamato (3-69) a partir de Boc-Dab(Z)-OH (preparado a partir a partir de Boc-Dab(Z)-OH•DCHA de acuerdo con el procedimiento descrito en notas técnicas en <https://www.bachem.com/service-support/technical-library/technical-notes/Conversion of a DCHA salt to the free acid>) y 1-1; bencil {(4S)-5-[bis(2-tienilmetil)amino]-4-[(terc-butoxicarbonil)amino]-5-oxopentil}carbamato (3-70) a partir de Boc-Orn(Z)-OH y 1-1; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[metil(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-72) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 2-32; bencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxo-5-[(3-fenoxipropanil)amino]hexil}carbamato (3-75) a partir de 3-66 y ácido 3-fenoxipropiónico; metil (4S)-5-[bis(2-tienilmetil)amino]-4-[(terc-butoxicarbonil)amino]-5-oxopentanoato (3-81) a partir de Boc-Glu(OMe)-OH (preparado a partir de Boc-Glu(OMe)-OH•DCHA) y 1-1; terc-butyl [(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-3-(4-hidroxifenil)-1-oxopropan-2-il]carbamato (3-82) a partir de Boc-Tyr-OH y 1-1; bencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-83) a partir de Boc-N-Me-Lys(Z)-OH (preparado a partir de Boc-N-Me-Lys(Z)-OH•DCHA) y 1-1; terc-butyl {(2S)-6-acetamido-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-89) a partir de H-Lys(Ac)-OH y 1-1; terc-butyl {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxo-6-[(trifluoroacetil)amino]hexan-2-il}carbamato (3-90) a partir de Boc-Lys(Tfa)-OH y 1-1; 9H-fluoren-9-ilmetil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-91) a partir de Boc-Lys(Fmoc)-OH y 1-1; terc-butyl {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxo-6-[(2-tienilcarbonil)amino]hexan-2-il}carbamato (3-95) a partir de ácido 2-tiofenocarboxílico y 3-92; terc-butyl {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxo-6-[(piridin-3-ilmetil)amino]hexan-2-il}carbamato (3-97) a partir de Boc-Lys(nicotinil)-OH y 1-1; terc-butyl {6-[bis(tiofen-2-ilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-102) a partir de Boc-6-Ahx-OH y 1-1; N-{6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida (3-106) a partir de 3-105 y ácido 2-tiofenocarboxílico; N-{6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}tiofeno-2-carboxamida (3-107) a partir de 3-103 y ácido 2-tiofenocarboxílico; bencil [(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-(dibencilamino)-6-oxohexil]carbamato (3-117) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y dibencilamina; terc-butyl [(1R)-2-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-(4-hidroxifenil)-2-oxoetil]carbamato (3-119) de 3-118 y 1-1; bencil {(5S)-6-[(4-bromobencil)(2-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-172) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-45, terc-butyl {(2S)-1-[(4-bromobencil)(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-174) a partir de Boc-Nle-OH y 1-45; y bencil {(5S)-6-[bis(3-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-175) a partir de Boc-Lys(Z)-OH y 1-50.

Ejemplo 25: Preparación de ácido [(terc-butoxicarbonil)(metil)amino] acético (3-8).

5



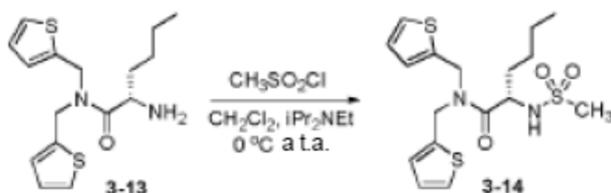
10 A una suspensión de sarcosina (223 mg, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (4 mL) y agua (4 mL), se añadieron bicarbonato de sodio (0,28 g, 3,3 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (0,55 g, 2,5 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, después se diluyó con hexanos:acetato de etilo (3:1). La capa acuosa se acidificó con HCl acuoso (2 N) y se extrajo con acetato de etilo (dos veces). Los dos extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para obtener el compuesto del título 3-8 como un aceite transparente (0,53 g).

15 Este procedimiento también se usó para preparar ácido (2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-metoxi-6-oxohexanoico (3-42) a partir de clorhidrato de (S)-2-amino-6-metoxi-6-ácido oxohexanoico (H-Aad(OMe)-O·HCl).

20 Alternativamente, podría usarse hidróxido de sodio y dioxano en lugar de bicarbonato de sodio y tetrahidrofurano. Esta variación se usó para preparar ácido (2R)-[(terc-butoxicarbonil)amino](4-hidroxifenil)acético (3-118) a partir de D-(-)-4-hidroxifenilglicina.

25 Ejemplo 26: Preparación de (2S)-2-[(metilsulfonyl)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-14).

25



30

35 A una solución de 3-13 (50 mg, 0,15 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,028 mL, 0,16 mmol) en diclorometano (0,750 mL) a 0 °C, se añadió cloruro de metanosulfonylo (0,013 mL, 0,16 mmol). El baño de hielo se retiró, y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se diluyó con diclorometano, se lavó con HCl acuoso (2 N) y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 3-14 como un sólido tostado (46,2 mg).

40

Para este procedimiento, o cualquiera de las siguientes variaciones, puede usarse clorhidrato de amina en lugar de la amina mediante el aumento de la cantidad de base de la amina terciaria. Además, el dicloroetano o el tetrahidrofurano podrían usarse indistintamente con diclorometano.

45 Este procedimiento también se usó para preparar: (2S)-2-[(fenilsulfonyl)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-15) a partir de 3-13 y cloruro de bencenosulfonylo; 2-[metil(fenilsulfonyl)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (3-18) a partir de 3-17 y cloruro de bencenosulfonylo; y (2S)-2-[[3-(4-metoxifenoxi)propil]sulfonyl]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-56) a partir de 3-13 y cloruro de 3-(4-metoxifenoxi)-1-propanosulfonylo.

50 Alternativamente, puede usarse trietilamina en lugar de N,N-diisopropiletilamina. Esta variación se usó para preparar: bencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxo-5-[(2-tienilsulfonyl)amino]hexil}carbamato (3-88) a partir de 3-66 y cloruro de 2-tiofenosulfonylo; terc-butil {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxo-6-[(fenilsulfonyl)amino]hexan-2-il}carbamato (3-96) a partir de 3-92 y cloruro de bencenosulfonylo; terc-butil {(2S)-6-[(bencilsulfonyl)amino]-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-99) a partir de 3-92 y cloruro de fenilmetanosulfonylo; terc-butil [(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxo-6-[[trifluorometil]sulfonyl]amino]hexan-2-il}carbamato (3-101) a partir de 3-92 y cloruro de trifluorometanosulfonylo; N,N-bis(2-tienilmetil)-6-[(2-tienilsulfonyl)amino]hexanamida (3-104) a partir de 3-103 y cloruro de 2-tiofenosulfonylo; 6-[(bencilsulfonyl)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-111) a partir de 3-103 y cloruro de fenilmetanosulfonylo; 2-[(fenilsulfonyl)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (3-125) a partir de 3-2·HCl y cloruro de bencenosulfonylo; N,N-bis(2-tienilmetil)metanosulfonylamida (4-3) a partir de 1-1 y cloruro de metanosulfonylo; N,N-bis(2-tienilmetil)bencenosulfonylamida (4-4) a partir de 1-1 y cloruro de bencenosulfonylo; 2-cloro-N,N-bis(2-tienilmetil)bencenosulfonylamida (4-5) a partir de 1-1 y cloruro de 2-clorobencenosulfonylo; 3-cloro-N,N-bis(2-tienilmetil)bencenosulfonylamida (4-6) a partir de 1-1 y cloruro de 3-clorobencenosulfonylo; 4-cloro-N,N-bis(2-tienilmetil)bencenosulfonylamida (4-7) a partir de 1-1 y cloruro de 4-clorobencenosulfonylo; 4-metoxi-N,N-bis(2-tienilmetil)bencenosulfonylamida (4-8) a partir de 1-1 y cloruro de 4-metoxibencenosulfonylo; 3-metoxi-N,N-bis(2-tienilmetil)bencenosulfonylamida (4-9) a partir de 1-1 y cloruro de 3-metoxibencenosulfonylo; 4-metil-N,N-bis(2-tienilmetil)bencenosulfonylamida (4-10) a partir de 1-1 y cloruro de 4-metilbencenosulfonylo; 2-metil-N,N-bis(2-

65

tienilmetil)bencenosulfonamida (4-11) a partir de 1-1 y cloruro de 2-metilbencenosulfonilo; 3-metil-N,N-bis(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-12) a partir de 1-1 y cloruro de 3-metilbencenosulfonilo; N,N-bis(4-metoxibencil)bencenosulfonamida (4-13) a partir de 1-6 y cloruro de bencenosulfonilo en tetrahidrofurano; N,N-bis(4-metoxibencil)tiofeno-2-sulfonamida (4-14) a partir de 1-6 y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; N,N-bis(3-metoxibencil)tiofeno-2-sulfonamida (4-15) a partir de 1-3 y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; metil 3-[bis(3-metoxibencil)sulfamoil]tiofeno-2-carboxilato (4-16) a partir de 1-3 y cloruro de 2-carbometoxi-3-tiofenosulfonilo N-(2-metoxietil)-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida (4-17) a partir de 1-12 y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; N-butil-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-18) a partir de 1-9 y cloruro de bencenosulfonilo en tetrahidrofurano; N-(3-hidroxiopropil)-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-19) a partir de 1-13 y cloruro de bencenosulfonilo; N,N-bis(piridin-3-ilmetil)bencenosulfonamida (4-20) a partir de 1-7 y cloruro de bencenosulfonilo; N,N-bis(piridin-4-ilmetil)bencenosulfonamida (4-21) a partir de 1-8 y cloruro de bencenosulfonilo; N-(piridin-3-ilmetil)-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-22) a partir de 1-4 y cloruro de bencenosulfonilo en tetrahidrofurano; N-(2-furylmetil)-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-23) a partir de 1-10 y cloruro de bencenosulfonilo; N,N-bis(2-furilmetil)bencenosulfonamida (4-24) a partir de 1-11 y cloruro de bencenosulfonilo; N-(3-metoxibencil)-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-25) a partir de 1-2 y cloruro de bencenosulfonilo; N,N-bis(3-metoxibencil)bencenosulfonamida (4-26) a partir de 1-3 y cloruro de bencenosulfonilo en dicloroetano; N-[2-(2-tienil)etil]-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-27) a partir de 1-5 y cloruro de bencenosulfonilo en dicloroetano; N,N-dibencilbencenosulfonamida (4-28) a partir de dibencilamina y cloruro de bencenosulfonilo; 2-metil-N,N-bis(2-tienilmetil)propano-1-sulfonamida (4-29) a partir de 1-1 y cloruro de isobutanosulfonilo; N-fenil-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-30) a partir de 1-30 y cloruro de bencenosulfonilo; N-(2-tienilmetil)propano-2-sulfonamida (4-32) a partir de 2-tiofenometilamina y cloruro de isopropilsulfonilo; 2-metil-N-(2-tienilmetil)propano-1-sulfonamida (4-34) a partir de 2-tiofenometilamina y cloruro de isobutanesulfonilo; N-feniltiofeno-2-sulfonamida (4-36) a partir de anilina y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; N-fenilbencenosulfonamida (4-38) a partir de anilina y cloruro de bencenosulfonilo; N-(2-metoxietil)-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-41) a partir de 1-12 y cloruro de bencenosulfonilo; 1-fenil-N,N-bis(2-tienilmetil)metanosulfonamida (4-43) a partir de 1-1 y cloruro de fenilmetanosulfonilo; metil (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-2-[[fenilsulfonil]amino]hexanoato (5-1) a partir de H-Lys(Z)-OMe•HCl y cloruro de bencenosulfonilo; metil (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-2-[[2-tienilsulfonil]amino]hexanoato (5-3) a partir de H-Lys(Z)-OMe•HCl y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; metil (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-2-[[isobutilsulfonil]amino]hexanoato (5-7) a partir de H-Lys(Z)-OMe•HCl y cloruro de isobutanesulfonilo; bencil {(5S)-5-[[terc-butoxicarbonil]amino]-6-[[2-tienilmetil](2-tienilsulfonil)amino]hexil]carbamato (5-12) a partir de 5-11 y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; bencil {(5S)-5-[[terc-butoxicarbonil]amino]-6-[[fenilsulfonil](2-tienilmetil)amino]hexil]carbamato (5-13) a partir de 5-11 y cloruro de bencenosulfonilo; bencil {(5S)-5-[[terc-butoxicarbonil]amino]-6-[[metilsulfonil](2-tienilmetil)amino]hexil]carbamato (5-15) a partir de 5-11 y cloruro de metanosulfonilo; bencil [(5S)-5-[[terc-butoxicarbonil]amino]-6-[[4-metoxifenil]sulfonil](2-tienilmetil)amino]hexil]carbamato (5-17) a partir de 5-11 y cloruro de 4-metoxibencenosulfonilo; 6-[[3-cloropropil]sulfonil]amino]-N,N-bis(4-metoxibencil)hexanamida (3-150) a partir de 3-135 y cloruro de 3-cloropropanesulfonilo; metil 4-[[3-cloropropil]sulfonil]amino]butanoato (3-160) a partir de clorhidrato de éster metílico del ácido 4-aminobutírico y cloruro de 3-cloropropanosulfonilo; terc-butil {5-[[2-tienilsulfonil]amino]pentil} carbamato (5-29) a partir de clorhidrato de N-1-Boc-1-5-diaminopentano y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida (7-2) a partir de 7-1 y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida (7-8) a partir de 2-tiofenometilamina y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; 3-cloro-N,N-bis(2-tienilmetil)propano-1-sulfonamida (7-9) a partir de 1-1 y cloruro de 3-cloropropanosulfonilo; 2-[[metilsulfonil](2-tienilmetil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (7-11) a partir de 7-1 y cloruro de metanosulfonilo; 2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (7-12) a partir de 1-1 y cloruro de 2-(ftalimido)etanosulfonilo; y N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-sulfonamida (7-15) a partir de 7-13 y cloruro de 2-tiofenosulfonilo.

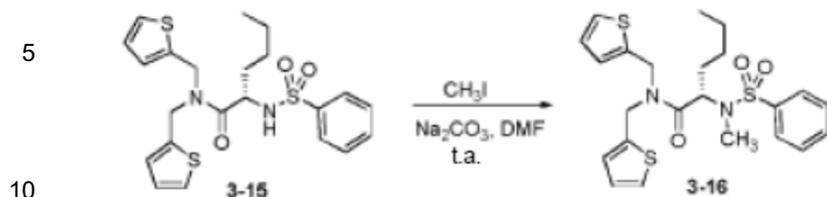
45 Cuando se usó cloruro de 2-cloroetanosulfonilo en esta variación, la eliminación beta concomitante de HCl acompañó la formación de sulfonamida. Este método se usó para preparar: N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (4-48) a partir de 1-1; N,N-bis(4-metoxibencil)-6-[[vinilsulfonil]amino]hexanamida (3-149) a partir de 3-135; y N,N-bis(4-metoxibencil)etanosulfonamida (7-30) a partir de 1-6.

50 También se usó piridina en lugar de N,N-diisopropiletilamina. Esta variación se usó para preparar: terc-butil {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxo-6-[[2-tienilsulfonil]amino]hexan-2-il}carbamato (3-93) a partir de cloruro de 3-92 y 2-tiofenosulfonilo; terc-butil {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-[[metilsulfonil]amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-94) a partir de 3-92 y cloruro de metanosulfonilo; N-fenil-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida (4-31) a partir de 1-30 y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; 3-(4-metoxifenoxi)-N,N-bis(2-tienilmetil)propano-1-sulfonamida (4-42) a partir de 1-1•base libre (preparada dividiendo 1-1 entre acetato de etilo y bicarbonato de sodio acuoso saturado y secado, filtrando y concentrando al vacío) y cloruro de 3-(4-metoxifenoxi)-1-propanosulfonilo en dicloroetano; y N-(4-hidroxibencil)-3-metoxi-N-(2-tienilmetil)bencenosulfonamida (4-44) a partir de cloruro de 1-14 y 3-metoxibencenosulfonilo.

60 En otra variación, se usó una diamina simétrica o diclorhidrato de diamina en lugar de la amina, mediante el uso de 2,2 equivalentes de cloruro de sulfonilo y N,N-diisopropiletilamina o trietilamina, cada uno, (4,4 equivalentes de base para el diclorhidrato) en diclorometano, para obtener disulfonamidas simétricas. Esta variación del procedimiento se usó para preparar: N,N'-heptano-1,7-diilbis[N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida] (5-22) a partir de cloruro de 5-19 y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; N,N'-heptano-1,7-diilditiofeno-2-sulfonamida (5-23) a partir de 1,7-heptandiamina y cloruro de 2-tiofenosulfonilo; y N,N'-pentano-1,5-diilditiofeno-2-sulfonamida (5-31) a partir de cadaverina y cloruro de 2-tiofenosulfonilo.

65

Ejemplo 27: Preparación de (2S)-2-[metil(fenilsulfonil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-16).



15 A una solución de 3-15 (0,15 mmol teóricos) en N,N-dimetilformamida (0,7 mL) a temperatura ambiente, se añadió carbonato de sodio (0,25 g) y yoduro de metilo (0,070 mL). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C en un tubo sellado y después se enfrió a temperatura ambiente cuando el material de partida se consumió completamente. La mezcla resultante se diluyó con HCl acuoso (2 N) y se extrajo con hexanos:acetato de etilo (2:1). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice mediante el uso de hexanos:acetato de etilo (4:1 a 3:1) para obtener el compuesto del título dando 3-16 como un semisólido de color amarillo claro (27,9 mg).

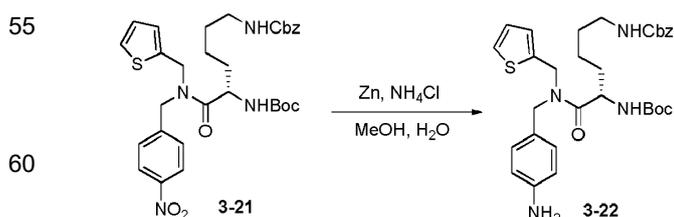
20 Este procedimiento también se usó para preparar 6-[metil(2-tienilsulfonil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-110) a partir de 3-104 a 50 °C.

25 Alternativamente, puede usarse carbonato de cesio en lugar de carbonato de sodio y la reacción tiene lugar a temperatura ambiente. Esta variación se usó para preparar: terc-butil {(2S)-6-[bencil(2-tienilsulfonil)amino]-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-100) a partir de 3-93 y cloruro de bencilo; 6-[bencil(2-tienilsulfonil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-109) a partir de 3-104 y cloruro de bencilo; N-(3-metoxibencil)-N-(2-tienilmetil)propano-2-sulfonamida (4-33) a partir de 4-32 y bromuro de 3-metoxibencilo; N-(3-metoxibencil)-2-metil-N-(2-tienilmetil)propano-1-sulfonamida (4-35) a partir de 4-34 y bromuro de 3-metoxibencilo; N-(3-metoxibencil)-N-feniltiofeno-2-sulfonamida (4-37) a partir de 4-36 y bromuro de 3-metoxibencilo calentando a 40 °C; N-(3-metoxibencil)-N-fenilbencenosulfonamida (4-39) a partir de 4-38 y bromuro de 3-metoxibencilo; metil (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino-2-[bencil(fenilsulfonil)amino]hexanoato (5-2) a partir de 5-1 y cloruro de bencilo; metil (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino-2-[bencil(2-tienilsulfonil)amino]hexanoato (5-4) a partir de 5-3 y cloruro de bencilo; metil (2S)-2-[bencil(isobutilsulfonil)amino]-6-[[benciloxi]carbonil]amino hexanoato (5-8) a partir de 5-7 y cloruro de bencilo; terc-butil {5-[[4-metoxibencil](2-tienilsulfonil)amino]pentil}carbamato (5-30) a partir de 5-29 y cloruro de 4-metoxibencilo. Este procedimiento también se usó para afectar la ciclación intramolecular de 3-160 (1,1 equivalentes de morfolina añadidos además del carbonato de cesio) para obtener metil 4-(1,1-dioxido-1,2-tiazolidin-2-il)butanoato (3-161), y la alquilación de 4-45 con bromuro de alquilo 1-37 para obtener 8-{2-[bis(2-tienilmetil)amino]-2-oxoetoxi}-N,N-bis(2-tienilmetil)quinolina-2-carboxamida (6-31).

40 En otra variación, la reacción se intentó en diclorometano a temperatura ambiente mediante el uso de N,N-diisopropiletilamina como la base. Cuando la reacción no se produjo, se añadió carbonato de cesio y la reacción se completó después de agitar durante toda la noche a temperatura ambiente. Esta variación se usó para preparar 6-[[3-metoxibencil](2-tienilsulfonil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-114) a partir de 3-104 y bromuro de 3-metoxibencilo; 6-[[bencil(sulfonil)(3-metoxibencil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-116) a partir de 3-111 y bromuro de 3-metoxibencilo;

45 Aún en otra variación, se hizo reaccionar una disulfonamida simétrica, 5-23, con 4,2 equivalentes de bromuro de 3-metoxibencilo, 3,4 equivalentes de carbonato de sodio, 2,4 equivalentes de yoduro de sodio en DMF a 85 °C para obtener N,N'-heptano-1,7-diilbis[N-(3-metoxibencil)tiofeno-2-sulfonamida] (5-24). Otra disulfonamida simétrica, 5-31, se trató con bromuro de 3-metoxibencilo y carbonato de cesio a temperatura ambiente en DMF para obtener N,N'-pentano-1,5-diilbis[N-(3-metoxibencil)tiofeno-2-sulfonamida] (5-32).

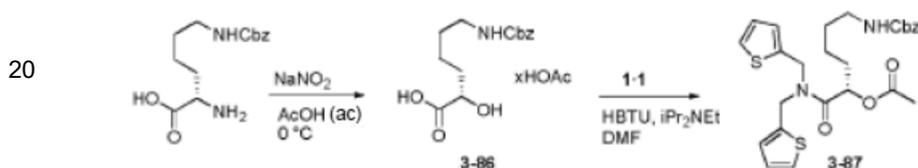
Ejemplo 28: Preparación de terc-butil [(2S)-1-[(4-aminobencil)(2-tienilmetil)amino]-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-1-oxohexan-2-il]carbamato (3-22).



5 A una solución de 3-21 (105 mg, 0,172 mmol) en metanol (2,5 mL), se añadieron zinc (45 mg, 0,69 mmol) y cloruro de amonio acuoso saturado (2 mL). La mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 3 horas, se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se filtró a través de Celite®, lavando con metanol. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se recogió en acetato de etilo y bicarbonato de sodio acuoso saturado. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (dos veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron sucesivamente con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con hexanos:acetato de etilo (1:1) para obtener el compuesto del título 3-22 como un sólido amarillo (45 mg).

Este procedimiento se usó para preparar terc-butil [(2R)-1-[(4-aminobencil)(2-tienilmetil)amino]-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-1-oxohexan-2-il]carbamato (3-24) a partir de 3-23.

15 Ejemplo 29: Preparación de acetato de (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-ilo (3-87).



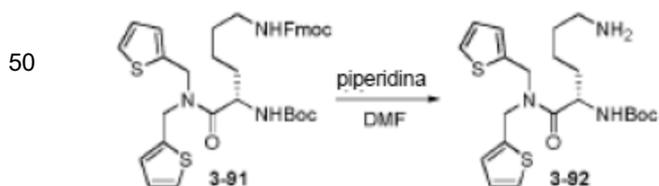
25 I. Ácido (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-2-hidroxihexanoico (3-86).

30 A una suspensión de H-Lys(Z)-OH (2,0 g, 7,2 mmol) en ácido acético acuoso (50 % v/v, 140 mL) a 0 °C, se añadió gota a gota una solución de nitrito de sodio (3,7 g, 54 mmol) en agua (10 mL) enfriada a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 35 minutos, y la reacción fría se extrajo con dietiléter 4 veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el título del compuesto 3-86. Este material contenía ácido acético y otras impurezas además de 3-86 pero se usó en la reacción posterior sin purificación.

35 Acetato de (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-ilo (3-87).

40 A una solución de 3-86 (material en bruto de la etapa I, 7 mmol teóricos, contiene ácido acético), se añadieron 1-1 (4,5 g, 18 mmol) en N,N-dimetilformamida (40 mL), N,N-diisopropiletilamina (6,5 mL, 37 mmol) y HBTU (7,5 g, 20 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, después se diluyó con agua y se extrajo con hexanos:acetato de etilo (3:1, cinco veces). La capa orgánica se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con un gradiente en etapas de hexanos:acetato de etilo (20 a 55 % en 7 etapas de 5 %). Las fracciones que contenían el residuo de interés se concentraron y el residuo se purificó adicionalmente mediante cromatografía automatizada en columna (Biotage®) en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de acetato de etilo/hexanos (30 a 50 %) con metanol (constante 1 %) para obtener 3-87 como un jarabe amarillo claro (0,45 g).

45 Ejemplo 30: Preparación de terc-butil {(2S)-6-amino-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-92).

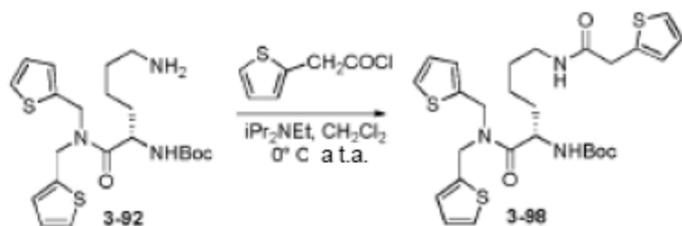


55 A una solución de 3-91 (382 mg, 0,58 mmol) en N,N-dimetilformamida (6 mL), se añadió piperidina (1,0 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 2 horas, se añadió piperidina adicional (1,0 mL). La reacción se agitó durante toda la noche, se diluyó con agua y el precipitado se filtró y se lavó con agua. El filtrado se extrajo con acetato de etilo (dos veces). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (varias veces) y salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título 3-92 como un aceite ligeramente amarillo (194 mg).

65 En una preparación alternativa, una mezcla de 3-90 (500 mg, 0,94 mmol) y carbonato de potasio anhidro (518 mg, 3,75 mmol) en metanol (5 mL) se calentó a reflujo durante toda la noche, y se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano (3 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua y

salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título 3-92 como un aceite ligeramente amarillo (291 mg).

Ejemplo 31: Preparación de terc-butil {(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxo-6-[(2-tienilacetil)amino]hexan-2-il}carbamato (3-98).



A una solución de 3-92 (40 mg, 0,091 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,035 mL, 0,2 mmol) en diclorometano (0,3 mL), se añadió gota a gota cloruro de 2-tiofenoacetilo (0,012 mL, 0,1 mmol). La reacción se agitó a 0 °C durante 15 minutos, el baño de hielo se retiró y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla resultante se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con agua, bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera, se secaron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía automatizada en columna (Biotage®) en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo para obtener el compuesto del título 3-98 en forma de un sólido tostado (34 mg).

El dicloroetano podría usarse indistintamente con diclorometano. Este procedimiento también se usó para preparar: bencil {(5S)-5-(benzoilamino)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-74) a partir de 3-66•HCl y cloruro de benzoilo en dicloroetano; 6-[(2-tienilacetil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (3-112) a partir de 3-103 y cloruro de 2-tiofenoacetilo; bencil [(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-(butirilamino)-6-oxohexil]carbamato (3-124) a partir de 3-66•HCl y cloruro de n-butirilo en dicloroetano; N,N-bis(2-tienilmetil)benzamida (4-2) a partir de 1-1 y cloruro de benzoilo; metil (2S)-6-[(benciloxi)carbonil]amino}-2-[(2-tienilacetil)(2-tienilmetil)amino]hexanoato (5-6) a partir de 5-5 y cloruro de 2-tiofenoacetilo; metil (2S)-6-[(benciloxi)carbonil]amino}-2-[(2-tienilacetil)(2-tienilmetil)amino]hexanoato (5-9) a partir de 5-5 y cloruro de 2-tiofenocarbonilo; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(2-tienilacetil)(2-tienilmetil)amino]hexil}carbamato (5-14) a partir de 5-11 y cloruro de 2-tiofenoacetilo; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(2-tienilacetil)(2-tienilmetil)amino]hexil}carbamato (5-16) a partir de 5-11 y cloruro de 2-tiofenocarbonilo; bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(4-metoxibenzoil)(2-tienilmetil)amino]hexil}carbamato (5-18) a partir de 5-11 y cloruro de 4-metoxibenzoilo; 2-bromo-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (1-37) a partir de 1-1 y cloruro de bromoacetilo; N-[6-[bis(4-metoxibencil)amino]-6-oxohexil]-4-metoxibenzamida (3-136) a partir de 3-135 y cloruro de 4-metoxibenzoilo; N-[6-[bis(4-metoxibencil)amino]-6-oxohexil]-4-metoxi-N-(4-metoxibencil)benzamida (3-138) a partir de 3-137 y cloruro de 4-metoxibenzoilo; terc-butil {5-[(2-tienilacetil)(2-tienilmetil)amino]pentil}carbamato (5-35) a partir de 5-34 y cloruro de 2-tiofenocarbonilo; N-[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida (7-3) a partir de 7-1 y cloruro de 2-tiofenocarbonilo; N-[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]-2-(2-tienil)acetamida (7-16) a partir de 7-13 y cloruro de 2-tiofenoacetilo; N-[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]tiofeno-2-carboxamida (7-17) a partir de 7-13 y cloruro de 2-tiofenocarbonilo; metil (acetil{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)acetato (7-38) a partir de 7-19 y cloruro de acetilo; y metil (acetil{2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil}amino)acetato (7-42) a partir de 7-41 y cloruro de acetilo.

En otra variación, se usó una diamina simétrica/diclorhidrato de diamina en lugar de la amina, mediante el uso de 2,2 equivalentes de cloruro ácido y N,N-diisopropiletilamina en exceso en diclorometano para obtener diamidas simétricas. Los siguientes compuestos se prepararon mediante esta variación: N,N'-heptano-1,7-diilbis[N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida] (5-20) a partir de 5-19 y cloruro de 2-tiofenocarbonilo; N,N'-heptano-1,7-diilbis[N-(2-tienilmetil)benzamida] (5-21) a partir de cloruro de benzoilo; N,N'-hexano-1,6-diilbis[N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida] (5-26) a partir de 5-25 y cloruro de 2-tiofenocarbonilo; N,N'-hexano-1,6-diilbis[N-(3-metoxibencil)tiofeno-2-carboxamida] (5-28) a partir de 5-27 y cloruro de 2-tiofenocarbonilo; y N,N'-pentano-1,5-diiliditiofeno-2-carboxamida (5-36) a partir de cadaverina y cloruro de 2-tiofenocarbonilo.

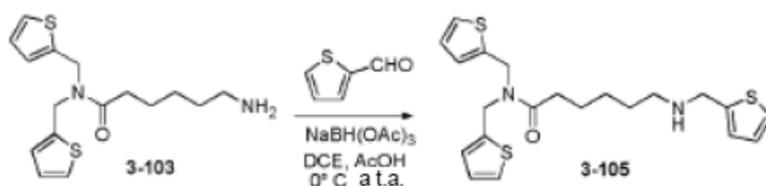
En otra variación más, se usó un cloruro de diácido simétrico en lugar del cloruro de ácido, que reacciona con 2 equivalentes del clorhidrato de amina y 6 equivalentes de N,N-diisopropiletilamina. Esta variación del procedimiento se usó para preparar: N,N,N',N'-tetrakis(2-tienilmetil)hexanodiamida (6-9) a partir de cloruro de adipoilo y 1-1; N,N,N',N'-tetrakis(3-metoxibencil)hexanodiamida (6-10) a partir de cloruro de adipoilo y 1-3; N,N,N',N'-tetraquis(4-metoxibencil)hexanodiamida (6-11) a partir de cloruro de adipoilo y 1-6; (3E)-N,N,N',N'-tetrakis(2-tienilmetil)hex-3-enediamida (6-14) a partir de 6-13 y 1-1; N,N,N',N'-tetrakis(2-tienilmetil)pentanodiamida (6-15) a partir de cloruro de glutarilo y 1-1; N,N,N',N'-tetrakis(4-metoxibencil)pentanodiamida (6-16) a partir de cloruro de glutarilo y 1-6; 2,2'-oxibis[N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida] (6-17) a partir de dicloruro de diglicolilo y 1-1; N,N,N',N'-tetrakis(2-tienilmetil)octandiamida (6-18) a partir de cloruro de suberoilo y 1-1; N,N,N',N'-tetrakis(2-tienilmetil)heptanodiamida (6-19) a partir de cloruro de pimeloilo y 1-1; 2,2'-(1,3-fenileno)bis[N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida] (6-22) a partir de 6-21 y 1-1; N,N,N',N'-tetrakis(4-metoxibencil)heptanodiamida (6-23) a partir de cloruro de pimeloilo y 1-6; N,N,N',N'-tetraquis(4-metoxibencil)succinamida (6-24) a partir de cloruro de succinilo y 1-6; N,N,N',N'-tetrakis(4-metoxibencil)octanodiamida (6-

26) a partir de cloruro de suberoilo y 1-6; y N,N'-bis(4-metoxibencil)-N,N'-bis(2-tienilmetil)hexanodiamida (6-32) a partir de cloruro de adipoilo y 1-42.

Ejemplo 32: Preparación de N,N-bis(2-tienilmetil)-6-[(2-tienilmetil)amino]hexanamida (3-105).

5

10



15

A una solución de 3-103 (170 mg, 0,53 mmol) y 2-tienocarbaldéido (0,044 mL, 0,48 mmol) en dicloroetano (2,7 mL) y ácido acético (0,18 mL, 3,2 mmol) a 0 °C, se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (337 mg, 1,6 mmol). El baño de hielo se retiró y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La reacción se diluyó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo (3 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron sucesivamente con agua y salmuera (dos veces), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el producto del título 3-105 como un aceite amarillo (130 mg).

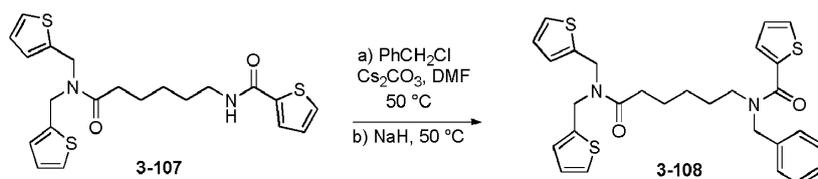
20

Este procedimiento también se usó para preparar N,N-bis(4-metoxibencil)-6-[(4-metoxibencil)amino]hexanamida (3-137) a partir de 3-135 y p-anisalaldeído.

25

Ejemplo 33: Preparación de N-bencil-N-{6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}tiefeno-2-carboxamida (3-108).

30



35

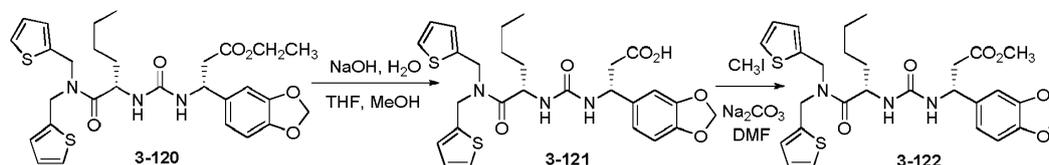
A una solución de 3-107 (50 mg, 0,12 mmol) en N,N-dimetilformamida (1 mL) a temperatura ambiente, se añadió carbonato de cesio (113 mg, 0,35 mmol). La mezcla se agitó durante una hora, se añadió cloruro de bencilo (0,015 mL, 0,13 mmol) y la reacción se calentó a 50 °C durante toda la noche. Se añadió hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceite mineral, 5,2 mg, 0,13 mmol) y la reacción se calentó a 50 °C durante toda la noche. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (dos veces). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron sucesivamente con bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con hexanos:acetato de etilo para obtener el compuesto del título 3-108 como un aceite amarillo (46 mg).

40

45

Ejemplo 34: Preparación de metil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il)carbamoil]amino]propanoato (3-122).

50



55

I. Ácido (3R)-3-(1,3-Benzodioxol-5-il)-3-[[{(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamoil]amino]propanoico (3-121).

60

A una solución de 3-120 (85 mg, 0,14 mmol) en tetrahidrofurano (1,3 mL), se añadió hidróxido de sodio acuoso (2 N, 0,9 mL, 1,8 mmol) y metanol (0,4 mL). La reacción se agitó 15 minutos, se diluyó con agua, se acidificó con hidrógeno sulfato de potasio (1 M) y se extrajo con acetato de etilo (dos veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título como un jarabe lechoso blanquecino (69 mg).

65

Este procedimiento también se usó para preparar: ácido (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{(2R)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il}carbamoil]amino]propanoico (3-127) a partir de 3-126; y ácido 4-[(terc-butoxicarbonil)amino]butanoico (3-144) a partir de 3-143; ácido 4-(1,1-dióxido-1,2-tiazolidin-2-il)butanoico (3-162) a partir de 3-161; ácido (5S)-6-[bis(2-

tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexanoico (6-33) a partir de 3-43; ácido (acetil {2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)acético (7-39) a partir de 7-38; y ácido (acetil{2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil}amino)acético (7-43) a partir de 7-42.

5 Alternativamente, el tratamiento se modificó para permitir el aislamiento de aminoácidos. Una vez completada la hidrólisis de un aminoéster, la mezcla de reacción se acidificó con ácido clorhídrico (2 N). Se añadió bicarbonato de sodio acuoso saturado a la solución hasta que se volvió turbia. El precipitado se recolectó mediante filtración y se añadió bicarbonato de sodio adicional a la fase acuosa para precipitar más producto, que se recolectó. Los sólidos se combinaron y se secaron al vacío. Esta modificación se usó para preparar: Ácido ({2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)acético (7-20) de 7-19; y
10 ácido 3-({2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)propanoico (7-27) a partir de 7-26.

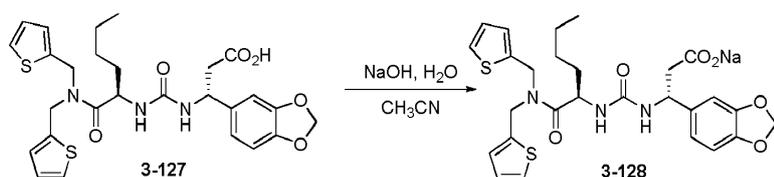
II. Metil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il]carbamoil]amino]propanoato (3-122).

15 A una solución de 3-121 (69 mg, 0,12 mmol) en N,N-dimetilformamida (0,5 mL) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno seco, se añadieron carbonato de sodio (30 mg, 0,28 mmol) y yodometano (0,010 mL, 0,16 mmol). La reacción se agitó 1 día y se añadieron N,N-dimetilformamida (0,5 mL) y yodometano (0,030 mL, 0,48 mmol) adicionales. La reacción se agitó durante 5 días y se añadió yodometano adicional (0,020 mL, 0,32 mmol). La reacción se agitó durante
20 toda la noche, se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo:hexanos (1:1, cuatro veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (3 veces) y salmuera saturada (dos veces), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (7:3 a 13:7) para obtener el compuesto como un 3-122 como un sólido tostado claro (56 mg).

25 Este procedimiento también se usó para preparar metil (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{(2R)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexano-2-il]carbamoil]amino]propanoato (3-129) a partir de 3-128.

Ejemplo 35: Preparación de (3R)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[[{(2R)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexano-2-il]carbamoil]amino]propanoato (3-128).

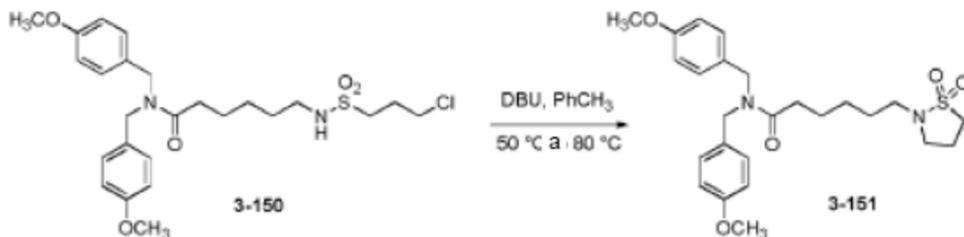
30



40 Una solución de 3-127 (1,68 g, 3,01 mmol) en acetonitrilo (30 mL) e hidróxido de sodio acuoso (0,1000 N, 30,7 mL) se agitó, se filtró y se diluyó con agua (100 mL). La solución turbia se congeló a -78 °C y se liofilizó a presión reducida para obtener el compuesto del título como un 3-128 como un sólido blanquecino (1,73 g).

Ejemplo 36: Preparación de 6-(1,1-dioxido-1,2-tiazolidin-2-il)-N,N-bis(4-metoxibencil)hexanamida (3-151).

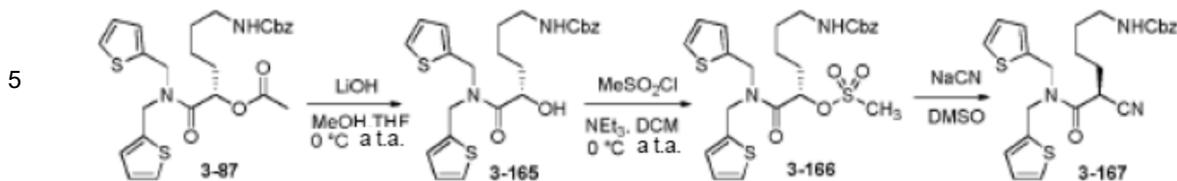
45



55 A una solución de 3-150 (85 mg, 0,17 mmol) en tolueno (1,7 mL), se añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (0,03 mL, 0,18 mmol). La mezcla se calentó a 50 °C durante cuatro horas, y después a 80 °C durante toda la noche. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl acuoso (0,5 N), agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna automatizada (Biotage®) en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo para obtener el compuesto del
60 título 3-151 como un aceite transparente (42 mg).

Ejemplo 37: Preparación de bencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-ciano-6-oxohexil}carbamato (3-167).

65



I. Bencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-hidroxi-6-oxohexil}carbamato (3-165).

A una solución de 3-87 (446 mg, 0,87 mmol) en tetrahidrofurano (5 mL) a 0 °C, se añadieron hidróxido de litio (27 mg, 1,1 mmol) y metanol (2 mL). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con bicarbonato de sodio saturado acuoso y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 3-165 como un jarabe turbio blanquecino (352 mg).

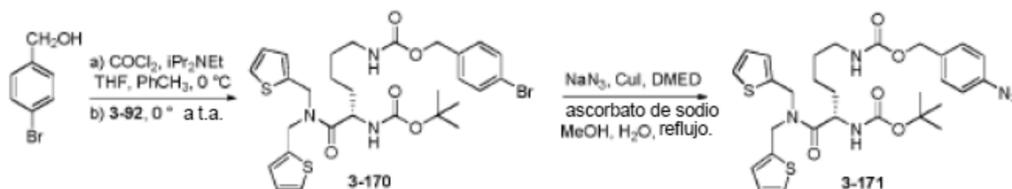
II. Metanosulfonato de (2S)-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il (3-166).

A una solución de 3-165 (160 mg, 0,338 mmol) en diclorometano (1,5 mL) y trietilamina (0,25 mL, 1,8 mmol) enfriada a 0 °C, se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,060 mL, 0,77 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente, se agitó durante toda la noche, y se diluyó con hexanos:acetato de etilo (1:1) y agua. La capa orgánica se lavó con bicarbonato de sodio saturado (dos veces), agua y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para obtener el compuesto del título 3-166 como un jarabe de color amarillo claro (140 mg).

III. Bencil 1(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-ciano-6-oxohexil}carbamato (3-167).

Una mezcla de 3-166 (21 mg, 0,038 mmol) y cianuro de sodio (3,8 mg, 0,078 mmol) en dimetilsulfóxido anhidro (0,2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (tres veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (dos veces) y salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna automatizada (Biotage®) en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (3:1 a 3:2 con metanol al 1 %) para obtener el compuesto del título 3-167 como un jarabe amarillo (10 mg). Alternativamente, podrían usarse otros nucleófilos en lugar de cianuro de sodio y dimetilformamida como disolvente. Esta variación se usó para preparar: bencil {(5R)-5-azido-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-168) a partir de 3-166 y azida sódica; y S-{(2R)-6-[[benciloxi]carbonil]amino]-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-1-oxohexan-2-il} etanotioato (3-169) a partir de 3-166 y tioacetato de potasio.

Ejemplo 38: Preparación de 4-azidobencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-171).



I. terc-Butil[(2S)-1-[bis(2-tienilmetil)amino]-6-[[4-(4-bromobencil)oxi]carbonil]amino]-1-oxohexan-2-il}carbamato (3-170).

A una solución de fosgeno (20 % en tolueno, 1,0 mL, 1,89 mmol) en tetrahidrofurano (2 mL) a 0 °C bajo nitrógeno, se añadió gota a gota una solución de alcohol 4-bromobencílico (301 mg, 1,61 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (1,1 mL, 6,32 mmol) en tetrahidrofurano (1,5 mL). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos, después a temperatura ambiente durante 75 minutos. A la mezcla resultante, se añadió gota a gota una solución de 3-92 (400 mg, 0,91 mmol) en tetrahidrofurano (2 mL). La mezcla se agitó durante toda la noche, después se diluyó con hexanos:acetato de etilo (1:1) y se lavó con agua, HCl (1 N), bicarbonato de sodio acuoso saturado, agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna automatizada (Biotage®) en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de hexanos:acetato de etilo (4:1 a 1:3) para obtener el compuesto del título 3-170 como un sólido blanquecino (305 mg).

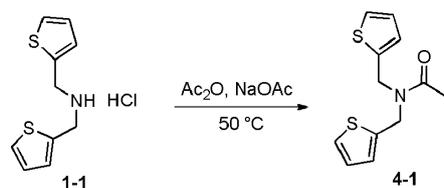
II. 4-Azidobencil {(5S)-6-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamato (3-171).

A una suspensión de yoduro de cobre(I) (7,7 mg, 0,040 mmol) en metanol:agua 1:1 (2 mL, burbujeado con N2 antes de su uso), se añadió secuencialmente N,N'-dimetiletilendiamina (DMED, 7,4 mg, 0,084 mmol), ascorbato de sodio (2,2 mg,

0,011 mmol) y azida sódica (9,0 mg, 0,14 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y después se añadió a una solución de 3-170 (77 mg, 0,12 mmol) en metanol:agua 1:1 (1 mL, burbujeado con N₂ antes del uso) bajo una atmósfera de nitrógeno seco. La mezcla se calentó a 80 °C durante 6 horas, después se enfrió hasta la temperatura ambiente, se diluyó con salmuera, y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía automatizada en gel de sílice (Biotage®), eluyendo con un gradiente de hexanos:acetato de etilo para obtener el compuesto del título 3-171 como un sólido incoloro (60 mg).

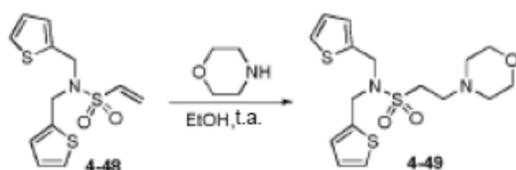
Este procedimiento también se usó para preparar: terc-butil [(2S)-1-[(4-azidobencil)(2-tienilmetil)amino]-6-[[[(benciloxi)carbonil]amino]-1-oxohexan-2-il]carbamato (3-173) a partir de 3-172; metil (6S,10S)-2-(4-azidoobencil)-10-(1,3-benzodioxol-5-il)-6-butil-3,8-dioxo-1-(2-tienil)-4-oxa-2,7,9-triazadodecano-12-ato (2-87) a partir de 2-86; y (2S)-2-[[[(4-azidobencil)carbamoyl]amino]hexilbis(2-tienilmetil)carbamato (2-112) a partir de 2-111.

Ejemplo 39: Preparación de N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (4-1).



A una suspensión de 1-1 (100 mg, 0,410 mmol) en anhídrido acético (2,0 mL), se añadió acetato de sodio (0,5 g, 3,7 mmol). La mezcla resultante se agitó a 50 °C durante toda la noche, se diluyó con diclorometano y bicarbonato de sodio acuoso saturado y se agitó hasta que cesó todo el desprendimiento de gases. La capa acuosa se extrajo con diclorometano (dos veces). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se decantaron, se filtraron a través de gel de sílice y se concentraron para obtener el compuesto del título 4-1 como un aceite (73 mg).

Ejemplo 40: Preparación de 2-(morfolin-4-il)-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (4-49).



A una solución de 4-48 (100 mg, 0,33 mmol) en etanol (3 mL), se añadió morfolina (0,29 mL, 3,3 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y se diluyó con HCl acuoso (0,5 N) y se extrajo con acetato de etilo (dos veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con agua, bicarbonato de sodio acuoso y salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo para obtener el compuesto del título 4-49 como un aceite ámbar (23 mg).

Este procedimiento también se usó para preparar: N,N-bis(2-tienilmetil)-2-[(2-tienilmetil)amino]etanosulfonamida (7-1) a partir de 4-48 y 2-tiofenometilamina; y N,N-bis(4-metoxibencil)-6-[[2-(morfolin-4-il)etil]sulfonil]amino]hexanamida (3-152) a partir de 3-149 y morfolina.

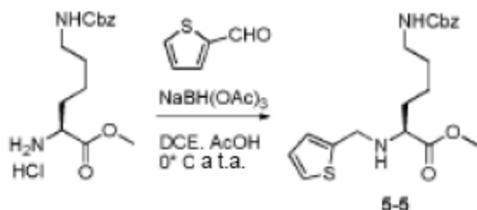
Alternativamente, podría añadirse a la reacción trietilamina (6,5 a 10 equivalentes). En algunos casos se requirió calentamiento. Esta variación se usó para preparar: 2-(butilamino)-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (7-4) a partir de 4-48 y n-butilamina; 2-amino-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (7-13) a partir de 4-48 y amoníaco (2M en etanol); 2-(metilamino)-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida (7-23) a partir de 4-48 y metilamina (2,0 M en tetrahidrofurano); 3-[[2-bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (7-31) a partir de 7-30 y 3-5 a 50 °C; 3-[[2-bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (7-34) a partir de 4-48 y 7-33 a 50 °C; 3-[[2-bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (7-35) a partir de 7-30 y 7-33 a 50 °C; (2S)-2-[[2-bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (7-36) a partir de 4-48 y 3-13 a 50 °C; y (2S)-2-[[2-bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida (7-37) a partir de 7-30 y 3-13. Esta variación también se usó cuando se usó un clorhidrato de amina como la fuente del nucleófilo. Esta modificación se usó para preparar: metil ((2-bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino)acetato (7-19) a partir de 4-48 y clorhidrato de éster metílico de glicina a 90 °C; metil 3-[[2-bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]propanoato (7-26) a partir de 4-48 y clorhidrato de éster metílico de □-alanina a 70 °C (se produjo un poco de esterificación trans); y metil ((2-bis(4-

metoxibencil)sulfamoi]etil]amino)acetato (7-41) a partir de 7-30 y clorhidrato de éster metílico de glicina a 70 °C (reacción realizada en metanol).

Ejemplo 41: Preparación de metil (2S)-6-[[[(benciloxi)carbonil]amino]-2-[(2-tienilmetil)amino] hexanoato (5-5).

5

10



15

A una solución agitada de H-Lys(Z)-OMe·HCl (500 mg, 1,51 mmol) y 2-tiufenocarboxaldehído (186 mg, 1,7 mmol) en dicloroetano (5 mL) y ácido acético (0,26 mL, 4,53 mmol) a 0 °C, se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (640 mg, 3,02 mmol). El baño de hielo se retiró y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La reacción se diluyó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo (tres veces). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron sucesivamente con agua y salmuera dos veces, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo (9:1 a 1:1). El producto del título 5-5 se aisló como un aceite transparente (364 mg).

20

25

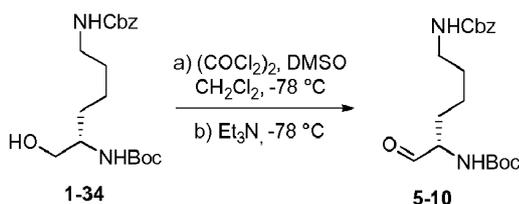
Alternativamente, puede usarse una amina libre en lugar del clorhidrato de amina. Esta variación se usó para preparar bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-[(2-tienilmetil)amino]hexil}carbamato (5-11) a partir de 5-10 y 2-tiufenometilamina.

30

Ejemplo 42: Preparación de bencil {(5S)-5-[(terc-butoxicarbonil)amino]-6-oxohexil}carbamato (5-10).

30

35



40

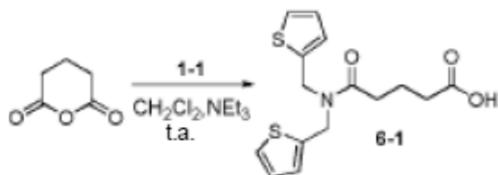
A una solución de cloruro de oxalilo (0,57 mL, 5,97 mmol) en diclorometano (30 mL) a -78 °C bajo una atmósfera de nitrógeno, se añadió gota a gota dimetilsulfóxido (0,85 mL). Después de agitar durante 10 minutos, la reacción se transfirió mediante el uso de una cánula a una solución de 1-34 en diclorometano (30 mL) a -78 °C bajo una atmósfera de gas nitrógeno. Esta solución se agitó a -78 °C durante 30 minutos, se añadió trietilamina (1,7 mL, 11,9 mmol) y se retiró el baño de hielo seco/acetona. La reacción se agitó durante 30 minutos mientras se calentaba a temperatura ambiente, y se diluyó con diclorometano y agua. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo dos veces. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron sucesivamente con ácido clorhídrico acuoso (0,5 N), bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título 5-10 como un aceite (1,38 g).

45

Ejemplo 43: Preparación de ácido 5-[bis(2-tienilmetil)amino]-5-oxopentanoico (6-1).

50

55

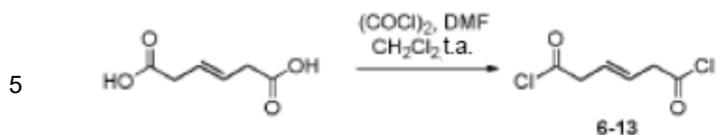


60

A una solución de anhídrido glutárico (374 mg, 3,28 mmol) en diclorometano (10 mL) y trietilamina (0,750 mL), se añadió 1-1 (811 mg, 3,28 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, se diluyó con dietiléter y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso diluido (2 veces). Las capas acuosas combinadas se acidificaron con HCl acuoso (2 N) y se extrajeron con dietiléter. El extracto de dietiléter de la mezcla acuosa ácida se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título 6-1 como un aceite transparente (1,00 g).

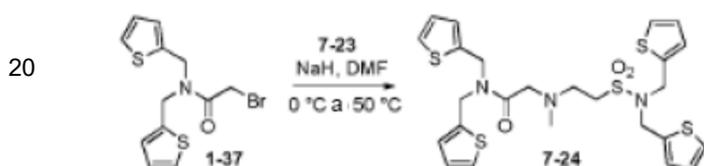
65

Ejemplo 44: Preparación de dicloruro de (3E)-Hex-3-enedioilo (6-13).



10 A una solución de ácido trans- α -hidromucónico (186 mg, 1,29 mmol) en diclorometano (6 mL) a temperatura ambiente, se añadieron secuencialmente N,N-dimetilformamida (4-5 gotas) y cloruro de oxalilo (0,275 mL puro, 3,2 mmol, disuelto en diclorometano). La mezcla se agitó durante toda la noche y se concentró hasta desecación a presión reducida. El residuo se disolvió en diclorometano (6 ml) para producir una solución concentrada que se usó en reacciones posteriores. Este procedimiento también se usó para preparar una solución concentrada de cloruro de 2,2'-(1,3-fenileno)diacetilo (6-21) a partir de ácido 1,3-fenilendiácético.

15 Ejemplo 45: Preparación de 2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (7-24).



25 A una solución de 7-23 (155 mg, 0,47 mmol) en N,N-dimetilformamida (2 mL) enfriada a 0 °C en atmósfera de nitrógeno seco, se añadió hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceite mineral, 21 mg, 0,52 mmol). La mezcla se agitó durante 10 minutos y se añadió una solución de 1-37 (172 mg, 0,52 mmol) en N,N-dimetilformamida (1 mL). La mezcla resultante se calentó a 50 °C durante toda la noche, se diluyó con agua, y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con HCl (0,5 N), agua, y bicarbonato de sodio acuoso saturado, y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice automatizada (Biotage®), eluyendo con un gradiente de hexanos:acetato de etilo para obtener el compuesto del título 7-24 como un aceite ligeramente amarillo (170 mg).

30 Este procedimiento también se usó para preparar: 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)amino]-2-oxoetil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida (7-22) a partir de 3-155 y 1-37; y 2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida (7-25) a partir de 7-4 y 1-37.

35 Ejemplo 46: Ensayos de adhesión

40 Los ensayos se realizaron de acuerdo con los procedimientos descritos anteriormente (Vanderslice, P., D. G. Woodside, A. R. Caivano, E. R. Decker, C. L. Munsch, S. J. Sherwood, W. S. Lejeune, Y. J. Miyamoto, B. W. McIntyre, R. G. Tilton, y R. A. Dixon. Potent in vivo suppression of inflammation by selectively targeting the high affinity conformation of integrin alpha4beta1. *Biochem Biophys Res Commun* 400:619-624.) Ensayos para evaluar la unión celular potenciada mediada por $\alpha_4\beta_1$ mediante el uso de células K562 que se unen a CS1-BSA, células K562 que se unen a fibronectina, HUVEC que se une a vitronectina, células HSB que se unen a ICAM-1 y células K562 que se unen a MADCAM-1, respectivamente. Para cada ensayo, las células expresaron el receptor de integrina apropiado ya sea en forma recombinante (K562- $\alpha_4\beta_1$, K562- $\alpha_4\beta_1$) o de manera endógena (K562- $\alpha_4\beta_1$, HUVEC- $\alpha_4\beta_1$ HSB). Se recubrieron placas Pro-Bind de 96 pocillos directamente con sustrato de adhesión (fibronectina, vitronectina, CS1-BSA, VCAM-1, ICAM-1 o MADCAM-1) a 4 °C durante toda la noche. La concentración de proteína sustrato añadida a los pocillos fue una dosis subóptima para la adhesión celular (~EC10) como se determinó previamente mediante curvas de unión dependiente de la dosis. Los pocillos se bloquearon con BSA al 1 % a temperatura ambiente durante 2 horas y después se lavaron con tampón de unión antes de la adición de las células. Las células que expresan integrina se marcaron con calceína-AM (Molecular Probes) durante 30 minutos a 37 °C. Las HUVEC se digirieron con tripsina y se resuspendieron en medio de cultivo antes del marcaje. Las células se resuspendieron en tampón de unión. Los compuestos se disolvieron en DMSO para obtener una solución concentrada a 100 mM. Se realizaron diluciones seriadas en DMSO de manera que las concentraciones del compuesto de trabajo fueron a 100X. Los compuestos se diluyeron después 1:100 en tampón de unión que contenía las células para producir las concentraciones de trabajo deseadas y una concentración final de DMSO de 1 %, y 2 x 10⁵ células dispensadas en cada pocillo. El tampón de unión fue TBS, pH 7,4 con MnCl₂ 1 mM para todos los ensayos. Después de 30 min de incubación a 37 °C, los pocillos se lavaron con el tampón de unión apropiado y se cuantificó el número de células unidas en un lector de placas fluorescentes TECAN Ultra384 o SAFIRE2. EC50 se define como la concentración de compuesto necesaria para alcanzar el 50 % de la respuesta máxima.

60 Para los siguientes compuestos, a los que se hace referencia mediante sus números de identificación en los Ejemplos anteriores, EC50 <10 μ M: 2-3, 2-5, 2-8, 2-9, 2-11, 2-18, 2-20, 2-21, 2-24, 2-38, 2-52, 2-56, 2-60, 2-62, 2-63, 2-66, 2-67, 2-69, 2-70, 2-72, 2-74, 2-76, 2-80, 2-86, 2-87, 2-89, 2-91, 2-93, 2-95, 2-97, 2-98, 2-100, 2-102, 2-110, 2-111, 2-112, 2-116,

5 2-118, 2-120, 3-6, 3-15, 3-16, 3-25, 3-26, 3-27, 3-28, 3-31, 3-32, 3-33, 3-36, 3-45, 3-47, 3-48, 3-49, 3-50, 3-52, 3-54, 3-58, 3-61, 3-62, 3-64, 3-65, 3-68, 3-69, 3-70, 3-72, 3-73, 3-74, 3-75, 3-76, 3-77, 3-78, 3-79, 3-80, 3-82, 3-83, 3-85, 3-87, 3-88, 3-90, 3-93, 3-95, 3-96, 3-99, 3-104, 3-106, 3-108, 3-110, 3-111, 3-112, 3-113, 3-115, 3-118, 3-122, 3-129, 3-131, 3-132, 3-133, 3-134, 3-138, 3-139, 3-140, 3-147, 3-150, 3-158, 3-167, 3-168, 3-169, 3-173, 3-175, 3-176, 4-14, 4-15, 4-26, 4-40, 4-43, 4-46, 4-47, 5-2, 5-4, 5-6, 5-9, 5-12, 5-13, 5-14, 5-15, 5-16, 5-17, 5-18, 5-20, 5-21, 5-26, 5-28, 5-30, 5-33, 6-3, 6-5, 6-6, 6-9, 6-10, 6-11, 6-14, 6-15, 6-16, 6-17, 6-18, 6-19, 6-20, 6-22, 6-23, 6-24, 6-25, 6-26, 6-27, 6-28, 6-29, 6-30, 6-32, 6-34, 7-3, 7-6, 7-11, 7-14, 7-15, 7-16, 7-17, 7-18, 7-21, 7-22, 7-24, 7-28, 7-29, 7-31, 7-34, 7-35, 7-36, 7-40 y 7-44.

10 Para los siguientes compuestos, $10 \mu\text{M} \leq \text{EC}_{50} \leq 30 \mu\text{M}$: 2-13, 2-19, 2-22, 2-23, 2-25, 2-26, 2-36, 2-41, 2-46, 2-51, 2-54, 2-78, 2-103, 2-105, 3-1, 3-7, 3-9, 3-10, 3-12, 3-14, 3-19, 3-29, 3-30, 3-34, 3-51, 3-56, 3-59, 3-53, 3-81, 3-94, 3-97, 3-107, 3-109, 3-116, 3-117, 3-136, 3-151, 3-152, 3-153, 3-164, 3-174, 4-4, 4-9, 4-13, 4-25, 4-29, 4-30, 4-35, 5-8, 6-2, 6-7, 6-8, y 7-37.

15 Para los siguientes compuestos, $\text{EC}_{50} > 30 \mu\text{M}$: 2-27, 2-39, 2-40, 2-42, 2-43, 2-44, 2-45, 2-47, 2-48, 2-49, 2-50, 2-53, 2-82, 2-84, 2-107, 3-3, 3-18, 3-21, 3-22, 3-23, 3-24, 3-37, 3-38, 3-39, 3-40, 3-41, 3-43, 3-55, 3-60, 3-89, 3-100, 3-114, 3-124, 3-125, 3-130, 3-156, 3-163, 3-170, 3-171, 3-172, 4-2, 4-33, 4-42, 4-44, 4-45, 4-49, 5-22, 5-24, 5-32, 6-31, 7-2, 7-7, 7-10 y 7-25.

20 Aunque muchas modalidades de los compuestos agonistas descritos son compuestos sintéticos de fórmula I, en algunas modalidades se forma un compuesto agonista mediante la conversión in vivo de un compuesto precursor en un compuesto descrito. Por ejemplo, un compuesto descrito puede existir como un estereoisómero en donde están presentes centros asimétricos o quirales. Estos estereoisómeros son "R" o "S" en dependencia de la configuración de los sustituyentes alrededor del átomo de carbono quiral. La presente invención contempla diversos estereoisómeros y mezclas de estos. Los estereoisómeros incluyen enantiómeros y diastereómeros y mezclas de enantiómeros o diastereómeros. Los estereoisómeros individuales de algunos compuestos agonistas pueden prepararse sintéticamente a partir de materiales de partida disponibles comercialmente que contienen centros asimétricos o quirales o mediante la preparación de mezclas racémicas seguido de métodos de resolución bien conocidos por los expertos en la técnica en la técnica. Estos métodos de resolución están ejemplificados por (1) la unión de una mezcla de enantiómeros a un auxiliar quiral, la separación de la mezcla resultante de diastereómeros por recristalización o cromatografía y la liberación del producto ópticamente puro a partir del auxiliar o (2) la separación directa de la mezcla de enantiómeros ópticos en columnas cromatográficas quirales.

30 Pueden existir varias modalidades de los compuestos agonistas descritos en formas no solvatadas o solvatadas, que incluyen formas hidratadas, tales como hemihidratos. En general, las formas solvatadas, con disolventes farmacéuticamente aceptables, tales como agua y etanol, entre otros, son equivalentes a las formas no solvatadas para los fines de esta descripción. Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos agonistas descritos se describen a continuación.

Composiciones farmacéuticas

40 Los compuestos que se describen en la presente descripción pueden usarse en forma de sales farmacéuticamente aceptables derivadas de ácidos inorgánicos u orgánicos. La frase "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que, dentro del alcance del criterio médico, son adecuadas para usarse en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares y están acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge y otros describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66:1 et seq. Las sales pueden prepararse in situ durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos o por separado mediante la reacción de una función de base libre con un ácido orgánico adecuado. Las sales de adición ácidas representativas incluyen, pero no se limitan a, acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, alcanforato, canforsulfonato, digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato(isetionato), lactato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, fosfato, glutamato, bicarbonato, p-toluenosulfonato y undecanoato. Además, los grupos básicos que contienen nitrógeno pueden convertirse en cuaternarios con agentes tales como los haluros de alquilo inferiores, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo, y butilo; sulfatos de dialquilo tal como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo; haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo; haluros de arilalquilo tales como bromuros de bencilo y fenetilo y otros. Los productos que se obtienen son solubles en agua, en aceite o pueden dispersarse. Los ejemplos de ácidos que pueden emplearse para formar sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico y ácidos orgánicos como ácido oxálico, ácido maleico, ácido succínico y ácido cítrico.

60 En algunas modalidades, las sales de adición básicas pueden prepararse in situ durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos descritos en la invención mediante la reacción de una porción que contiene ácido carboxílico con una base adecuada tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable o con amoniaco o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cationes basados en metales alcalinos o metales alcalinotérreos tales como sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio y similares y cationes de aminas y amonio cuaternario no tóxicos, que incluyen

amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamonio, dimetilamonio, trimetilamonio, trietilamonio, dietilamonio y etilamonio entre otros. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición básicas incluyen etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperidina, piperazina y similares.

5 Las formas de dosificación para administración tópica de un compuesto agonista descrito incluyen polvos, aerosoles, ungüentos e inhalantes. El compuesto activo puede mezclarse bajo condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y con cualquiera de conservantes, tampones, o propelentes necesarios que puedan necesitarse. Las formulaciones oftálmicas, ungüentos oculares, polvos y soluciones también se contemplan en algunas modalidades.

10 Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas pueden variarse para obtener una cantidad del(de los) compuesto(s) activos que es eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composiciones y modo de administración en particular. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de la actividad del compuesto particular, la vía de administración, la gravedad de la afección que se trata y la afección y el historial médico previo del paciente que se trata. Sin embargo, está dentro de la experiencia de la técnica comenzar con dosis del compuesto a niveles menores que los necesarios para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logra el efecto deseado.

15 Cuando se usa para varios tratamientos terapéuticos, se emplea una cantidad con eficacia terapéutica de uno o más de los compuestos descritos en forma pura o, cuando existen tales formas, en forma de sal, éster o profármaco, farmacéuticamente aceptables. En algunos casos, el compuesto se administra como una composición farmacéutica que contiene el compuesto de interés en combinación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. La frase "cantidad con eficacia terapéutica" de un compuesto agonista descrito significa una cantidad suficiente del compuesto para tratar trastornos, con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones descritos se decidirá por el médico que lo atiende dentro del alcance del criterio médico. El nivel de dosis específico con eficacia terapéutica para cualquier paciente particular u organismo dependerá de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se trata y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, estado general, sexo y dieta del paciente; el tiempo de administración, la ruta de administración, y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o simultáneamente con el compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en la técnica médica. Por ejemplo, está dentro de la experiencia de la técnica comenzar con dosis del compuesto a niveles menores que los necesarios para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logra el efecto deseado.

20 25 30 35 La dosis diaria total de los compuestos descritos administrados a un ser humano o animal inferior puede variar de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 1,000 mg/kg/día. Para propósitos de administración oral, en algunas modalidades, las dosis están en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 5 mg/kg/día. Si se desea, la dosis diaria eficaz puede dividirse en dosis múltiples para propósitos de administración; en consecuencia, las composiciones de una sola dosis pueden contener tales cantidades o submúltiplos de las mismas para componer la dosis diaria.

40 45 En algunos casos, una composición farmacéutica comprende uno o más de los compuestos que se describen formulados junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables no tóxicos. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse especialmente para administración oral en forma sólida o líquida, para inyección parenteral o para administración rectal.

50 55 Las composiciones farmacéuticas descritas pueden administrarse a seres humanos y otros animales de forma oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, en forma tópica (como polvos, ungüentos, o gotas), bucal o como un aerosol oral o nasal. El término "de forma parenteral", como se usa en la presente descripción, se refiere a modos de administración que incluyen inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraesternal, subcutánea e intraarticular. En algunas implementaciones, una composición farmacéutica comprende un compuesto descrito y un diluyente, portador, adyuvante o vehículo fisiológicamente tolerable o aceptable, que colectivamente se denominan aquí diluyentes, para inyección parenteral, para administración intranasal, para administración oral en forma sólida o líquida, para administración rectal o tópica, o similares.

60 65 En algunos casos, se suministra una composición a través de un catéter para el suministro local en un sitio objetivo, a través de una endoprótesis vascular intracoronaria (un dispositivo tubular compuesto por una malla de alambre fino), o mediante un polímero biodegradable. En algunas modalidades, un compuesto agonista se acompleja con un ligando tal como un anticuerpo, para suministro dirigido.

Las composiciones adecuadas para la inyección parenteral pueden comprender soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas fisiológicamente aceptables estériles, y polvos estériles para reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles. Los ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerina, y similares), aceites vegetales (tal como aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables tal como oleato de etilo y mezclas adecuadas de estos. Estas composiciones pueden contener además adyuvantes tales como agentes conservantes, humectantes,

emulsionantes y dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede asegurarse por varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. Además, puede ser conveniente incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio, y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede provocarse mediante el uso de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las suspensiones, adicionalmente a los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión, como, por ejemplo, alcoholes isostearil etoxilados, sorbitol de polioxietileno, y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar, y tragacanto, o mezclas de estas sustancias y similares. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

En algunos casos, para prolongar el efecto de un fármaco, es conveniente ralentizar la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La tasa de absorción del fármaco depende entonces de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retrasada de una forma del fármaco administrado de forma parenteral se realiza mediante la disolución o suspensión del fármaco en un vehículo aceitoso. Las formas de depósito inyectables se crean formando matrices de microencapsulación del fármaco en polímeros biodegradables tales como poliláctido-poliglicolida. En dependencia de la relación del fármaco con respecto al polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la tasa de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito se preparan también mediante el atrapamiento del compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través del filtro de retención de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes del uso.

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, tabletas, píldoras, polvos, y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un excipiente o portador inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o a) rellenos o cargas tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa, y acacia, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes de desintegración tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos, y carbonato de sodio, e) agentes retardadores en solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonita, e i) lubricantes tales como talco, estearato cálcico, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y mezclas de estos. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, la forma de dosificación puede comprender también agentes tamponantes. Las composiciones sólidas de un tipo similar pueden emplearse como rellenos en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras mediante el uso de excipientes tales como lactosa o azúcar de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Las formas de dosificación sólidas de las tabletas, confites, cápsulas, píldoras, y gránulos pueden prepararse con revestimientos y capas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la materia de la formulación farmacéutica. Estos pueden contener, opcionalmente, agentes opacificadores y también pueden ser de una composición de manera que liberen el(los) ingrediente(s) activo(s) solamente, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, en una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. Los compuestos activos pueden estar además en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes mencionados anteriormente. Las formas de dosificación líquida para la administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes que se utilizan comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, los aceites de algodón, maní, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol de tetrahidrofurfurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de estos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes de emulsificación y suspensión, agentes endulzantes, saborizantes, y perfumantes. Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferentemente supositorios que pueden prepararse mezclando uno o más de los compuestos descritos con excipientes o portadores no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorios que son sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a temperatura corporal y, por lo tanto, se funden en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Para algunas aplicaciones, un compuesto descrito se administra en forma de liposomas. Como se conoce en la técnica, los liposomas generalmente se derivan de fosfolípidos u otras sustancias lipídicas. Los liposomas están formados por

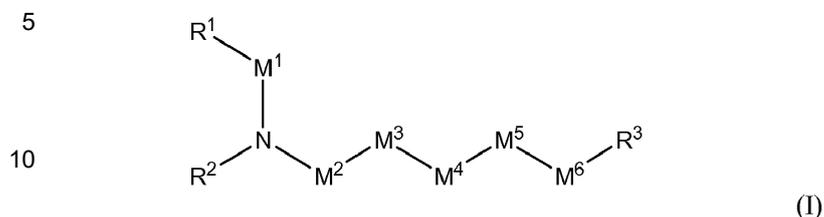
5 cristales líquidos hidratados mono o multilamelares que se dispersan en un medio acuoso. Puede usarse cualquier lípido no tóxico, fisiológicamente aceptable y metabolizable capaz de formar liposomas. En algunas modalidades, una composición en forma de liposoma contiene, además de un compuesto agonista descrito, estabilizadores, conservantes, excipientes y similares. Los lípidos preferidos son fosfolípidos naturales y sintéticos y fosfatidilcolinas (lecitinas) utilizados por separado o en conjunto. Los métodos para formar liposomas se conocen en la técnica. Ver, por ejemplo, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, Nueva York, N.Y. (1976), pág. 33 et seq.

10 La frase "profármacos farmacéuticamente aceptables" como se usa en la presente descripción significa aquellos profármacos de los compuestos descritos que son, dentro del alcance del criterio médico, adecuados para el uso en contacto con los tejidos de humanos y animales inferiores sin exceso de toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaz para su uso pretendido, así como también las formas zwitterionicas, donde sea posible, de los compuestos descritos. Los profármacos de acuerdo con determinadas modalidades pueden transformarse rápidamente in vivo en el compuesto progenitor de la fórmula anterior, por ejemplo, mediante hidrólisis en sangre. Se proporciona un análisis exhaustivo en T. Higuchi y V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, V. 14 de la A.C.S. Symposium Series, y en Edward B. Roche, ed., *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press (1987).

15

Reivindicaciones

1. Un compuesto químico que tiene la fórmula general (I)



15 en donde

R¹ es arilo,

R² es arilmetilo o ariletilo,

M¹ es CH₂,

M² es SO₂ o CO,

20 M³ está ausente o es CH₂,

M⁴ está ausente o es CH₂,

M⁵ es (CR¹¹R¹²),

R¹¹ es hidrógeno,

R¹² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo,

25 M⁶ es (CH₂)_q, o NR³⁴(CH₂)_q, en donde q es un número entero de 0 a 6,

R³ se selecciona del grupo que consiste en CONR¹³R¹⁴, SO₂NR¹³R¹⁴, NR¹⁵COR¹⁶, NR¹⁵CONR¹³R¹⁴, y NR¹⁵SO₂R¹⁶, R¹⁵, cuando está presente, se selecciona del grupo de hidrógeno, C₁-DO₆alquilo y aralquilo, R¹⁶, cuando está presente, es aralquilo,

R¹³, cuando está presente, se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo y aralquilo,

30 R¹⁴, cuando está presente, es aralquilo,

R³⁴, cuando está presente, se selecciona del grupo que consiste en alquilo, aralquilo, COR³⁵, y SO₂R³⁵,

R³⁵, cuando está presente, se selecciona del grupo que consiste en alquilo, arilo, y aralquilo, y

R¹, R², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶, R³⁴ y R³⁵, cuando está presente, puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo, hidroxilo, alcoxi, azido, haloalcoxi, halo, haloalquilo, amino, alquilamino y dialquilamino,

35 siempre que cuando sea CO, entonces M⁶ es NR³⁴(CH₂)_q donde q no es 0, y en donde el término "arilo" se refiere a un grupo aromático carbocíclico que tiene de 6 a 12 átomos de carbono o un grupo aromático heterocíclico, y en donde el término "aralquilo" se refiere a un radical alquilo sustituido con arilo, en donde el término "arilo" es como se definió anteriormente.

40

2. Un compuesto de la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en 2-{butil[(2-tienilmetil)carbamoil]amino}-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; 2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; 2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-2-(2-tienil)acetamida; N,N-bis(2-tienilmetil)-2-[[2-(2-tienilmetil)carbamoil]amino]etanosulfonamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)amino]-2-oxoetil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 3-[[2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 2-(acetil{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; y 2-(acetil{2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida.

50

3. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste en N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida; N-{3-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]propil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-carboxamida; 2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(4-metoxibencil)propanamida; 3-[[2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; (2S)-2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida; (2S)-2-[[2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil]amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)hexanamida; y 2-[(metilsulfonil)(2-tienilmetil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida.

60

4. Una composición farmacéutica que comprende:

65

un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y
un portador farmacéuticamente aceptable.

- 5 5. Un método para tratar células que expresan integrina, comprende:
poner en contacto *in vitro* al menos una célula que expresa integrina con un agonista de dicha integrina, en donde dicho agonista es un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 10 6. El método de conformidad con la reivindicación 5, en donde dicha integrina se selecciona del grupo que consiste en $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 4\beta 7$, $\alpha v\beta 3$ y $\alpha L\beta 2$.
7. Un método para mejorar la unión de células a un ligando de unión a integrina, comprende:
15 tratar *in vitro* células que expresan integrina con un agonista de integrina de acuerdo con el método de conformidad con la reivindicación 6, en donde dicha integrina se selecciona del grupo que consiste en $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 4\beta 7$, $\alpha v\beta 3$ y $\alpha L\beta 2$; y
poner en contacto las células tratadas con un ligando de unión a integrina.
- 20 8. El método de la reivindicación 7, en donde dicho agonista de integrina es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-N-(2-tienilmetil)tiofeno-2-carboxamida; 2-{butil[(2-tienilmetil)carbamoil]amino}-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; 2-[(metilsulfonil)(2-tienilmetil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; 2-[[bis(2-tienilmetil)carbamoil] amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)etanosulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-sulfonamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}-2-(2-tienil)acetamida; N-{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}tiofeno-2-carboxamida; N,N-bis(2-tienilmetil)-2-[(2-tienilmetil)carbamoil]amino}etanosulfonamida; 2-[(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)amino]-2-oxoetil](butil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 2-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil](metil)amino]-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)propanamida; 3-[[2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil]amino)-N,N-bis(4-metoxibencil)propanamida; 2-(acetil{2-[bis(2-tienilmetil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida; y 2-(acetil{2-[bis(4-metoxibencil)sulfamoil]etil}amino)-N,N-bis(2-tienilmetil)acetamida.
- 30 9. El método de la reivindicación 7, en donde dichas células que expresan integrina se seleccionan del grupo que consiste en células madre adultas, células madre embrionarias, células progenitoras y células madre pluripotentes inducidas.
- 35 10. El método de la reivindicación 7, en donde poner en contacto las células tratadas con un ligando de unión a integrina incluye poner en contacto una superficie que comprende un ligando de unión a integrina con las células tratadas con agonista, para unir las células tratadas con agonista a dicha superficie, donde la unión de dichas células tratadas con agonista mejora con relación a la unión de células que expresan integrina no tratadas por este método.
- 40 11. El método de la reivindicación 10, en donde a dicha superficie se unen al menos 3 veces más células tratadas con agonista en comparación con las células que expresan integrina no tratadas con dicho agonista.
- 45 12. El método de la reivindicación 10, en donde dicha superficie está sobre un tejido que comprende una proteína de unión a integrina que se selecciona del grupo que consiste en molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), fibronectina, molécula de adhesión celular adhesina mucosal-1 (MAdCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adhesión intercelular-2 (ICAM-2) y vitronectina.
- 50 13. Un agonista de integrina para su uso en un método para mejorar la retención de células introducidas de manera exógena en un sitio objetivo *in vivo* en un mamífero, el método comprende:
(a) tratar *in vitro* las células que expresan integrina con dicho agonista de integrina;
55 (b) introducir las células tratadas con agonista en un sitio objetivo *in vivo* en el mamífero; y
(c) provocar que un mayor número de dichas células introducidas tratadas con agonista permanezcan en dicho sitio objetivo con relación al número de células que se retienen si se introdujeran células que expresan integrina no tratadas con dicho agonista en dicho sitio objetivo;
- 60 en donde dicho agonista es un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
14. Células madre o células progenitoras que expresan integrina tratadas con agonista para su uso en un método para tratar tejido vascular dañado o enfermo de un mamífero, el método comprende:
65 (a) administrar a un sitio vascular dañado o enfermo, que incluye médula ósea, en un vaso del mamífero, una pluralidad de dichas células madre o células progenitoras que expresan integrina tratada con agonista;

(b) provocar que un mayor número de dichas células introducidas tratadas con agonista permanezcan en dicho sitio objetivo con relación al número de células que se retienen si se introducen células que expresan integrina no tratadas con dicho agonista en dicho sitio vascular dañado o enfermo, en donde dicho sitio comprende células que contienen un ligando de unión a integrina en una superficie celular;

5 (c) permitir que dichas células en dicho sitio vascular proliferen/se diferencien y/o se liberen factores paracrinos;

en donde dichas células madre o células progenitoras que expresan integrina tratadas con agonista se han tratado de acuerdo con el método de conformidad con la reivindicación 5, dicha integrina seleccionada del grupo que

10

consiste en $\alpha4\beta1$, $\alpha5\beta1$, $\alpha4\beta7$, $\alpha\nu\beta3$ y $\alpha L\beta2$.