

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 764 279**

51 Int. Cl.:

C07C 311/19 (2006.01)

A61K 31/196 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 333/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.05.2015 PCT/CA2015/000348**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.12.2015 WO15179956**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2015 E 15800248 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 3148967**

54 Título: **Compuestos de sulfonamida y su uso como inhibidores de stat5**

30 Prioridad:

30.05.2014 US 201462005308 P

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

02.06.2020

73 Titular/es:

**THE GOVERNING COUNCIL OF THE UNIVERSITY OF TORONTO (100.0%)
Banting Institute, 100 College Street, Suite 413
Toronto, ON M5G 1L5, CA**

72 Inventor/es:

**GUNNING, PATRICK THOMAS;
CUMARASWAMY, ABBARNA A.;
LEWIS, ANDREW MARTIN y
GELETU-HEYE, MULU**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

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

ES 2 764 279 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de sulfonamida y su uso como inhibidores de stat5

5 **Campo**

La presente divulgación se refiere a compuestos que son inhibidores de la proteína STAT5, incluyendo compuestos de la fórmula (I).

10 **Introducción**

Se han desarrollado numerosos inhibidores para dirigirse a la ruta de señalización de JAK-STAT, una fuerza motriz importante en los tumores malignos hematopoyéticos. Aunque el énfasis se ha centrado en la identificación de inhibidores de cinasa corriente arriba eficaces para suprimir la actividad de STAT, los inhibidores han experimentado baja selectividad de cinasa^[1], toxicidad cardiovascular^[2,3] y, en algunos casos clínicos, resistencia adquirida.^[4] Se han usado múltiples inhibidores de cinasa en combinación para tratar de combatir la resistencia.^[5,6] Una estrategia alternativa para reducir la toxicidad fuera de diana, es dirigirse a proteínas inmediatamente corriente abajo de las cinasas, tales como la proteína transductora de señal y activadora de transcripción (STAT) 5.

20 En células normales, la activación de proteínas STAT5 está estrechamente regulada por las citocinas (IL-2, IL-5, IL-7, GM-CSF, eritropoyetina (EPO), trombopoyetina y prolactina)^[7] La unión de estos ligandos extracelulares a sus receptores diana induce la activación de cinasas JAK asociadas al receptor que fosforilan restos clave de tirosina dentro del receptor, proporcionando sitios de acoplamiento para los dominios de homología SRC 2 (SH2) de los monómeros STAT5 citoplasmáticos inactivos. STAT5 se fosforila después en restos específicos de tirosina, ya sea Y694 (STAT5A) o Y699 (STAT5B) del extremo C. Los monómeros de STAT5 fosforilados forman homo- o hetero-^[8,9] dímeros STAT5X-STATX a través de interacciones recíprocas de fosfotirosina-SH2. Los dímeros de STAT5 activados se traslocan al núcleo donde se unen a los elementos de respuesta de ADN STAT5 que inducen la transcripción de genes implicados en la proliferación (Bcl-xl, c-Myc, *pim-1*), diferenciación celular (p21), inflamación de la supervivencia celular (MCL-1) (Osm) y apoptosis (JAB).^[10] Por el contrario, mutaciones dentro de las cinasas citosólicas (TEL-JAK2, Bcr-Abl, FLT-3), así como tirosina cinasas asociadas a receptor hiperactivas (SRC, EGFR) inducen fosforilación constitutiva de proteínas STAT5 aumentando la producción de genes antiapoptóticos que pueden contribuir a impulsar el fenotipo del cáncer.^[11]

35 Los enfoques orientados a dirigirse directamente a STAT5 se han limitado a un inhibidor de acilhidrazina derivado de cromona, identificado a través de una exploración de polarización de fluorescencia (PF) de alto rendimiento. Aunque este agente presentó alteración *in vitro* prometedora de la interacción de STAT5:fosfopéptido EPOR, fueron necesarias concentraciones mayores para inhibir STAT5 en las células.^[12]

40 El documento WO 2014/070859 A1 describe composiciones que inhiben la dimerización de STAT3 y métodos de preparación y uso de las composiciones. También se desvelan métodos para preparar estas composiciones, así como composiciones que comprenden estas composiciones.

45 El documento CA 2874057 A1 describe nuevos compuestos, composiciones y métodos para inhibir la actividad de STAT3 y/o STAT5 o el tratamiento de un cáncer dependiente de STAT3 o STAT5 usando dichos compuestos.

Urlam *et al.*, *Medchemcomm.* **2013**, 4(6): 932-941 describe el diseño y la síntesis de inhibidores de dimerización de STAT-3.

50 El documento WO 2012/018868 A1 describe análogos de ácido 2-hidroxi-4-(2-(fenilsulfonamido)acetamido)benzoico sustituidos, derivados de los mismos y compuestos relacionados, que son inhibidores de la actividad de la proteína STAT; métodos sintéticos para preparar los compuestos; composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos; y métodos para tratar trastornos de proliferación celular descontrolada asociada con una disfunción de la actividad de proteína STAT usando los compuestos y composiciones.

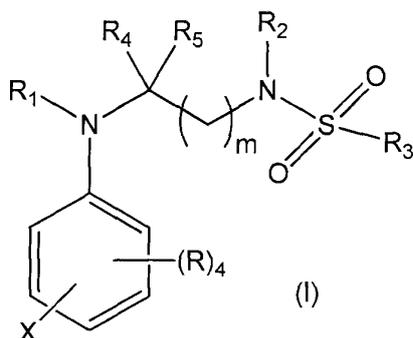
55 El documento WO 2010/117438 A2 describe agentes de unión selectivos a STAT3 que bloquean la asociación de STAT3 con motivos pTyr de receptores afines, fosforilación de STAT3 y traslocación nuclear, función transcripcional de STAT3 y, en consecuencia, efectos inducidos de células antitumorales específicas de STAT3 *in vitro* y respuesta antitumoral *in vivo*.

60 Page *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2013**, 56 (18), págs. 7190-7200 describe el desarrollo de una serie de inhibidores de STAT3 de molécula pequeña con actividad anti-MM *in vitro*. Estos compuestos mostraron unión al dominio SH2 de STAT3, inhibió la fosforilación intracelular de STAT3 y la apoptosis inducida en líneas celulares MM.

Sumario

65

En un aspecto, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I) que tienen la estructura siguiente;



en donde

5 R_1 es $-(CH_2)_n$ -arilo (C_6-C_{10}) o $-C(=O)-(CH_2)_n$ -arilo (C_6-C_{10}), en donde los grupos arilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C_1-C_6), alcoxi (C_1-C_6), alquilo (C_1-C_4) sustituido con halo, $-(ciclopropilo)-CF_3$, $-NO_2$, CN, $-SO_3R'$ y $-COOR'$, en donde R' es H o alquilo (C_1-C_4);

10 R_2 es $-(CH_2)_n$ -arilo (C_6-C_{10}), en donde los grupos están sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C_1-C_6), alcoxi (C_1-C_6), alquilo (C_1-C_4) sustituido con halo, $-(ciclopropil)-CF_3$, $-NO_2$, CN, $-SO_3R'$ y $-COOR'$, en donde R' es H o alquilo (C_1-C_4);

15 R_3 es $-(CH_2)_n$ -arilo (C_6-C_{10}), en donde los grupos arilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C_1-C_6), alcoxi (C_1-C_6), alquilo (C_1-C_4) sustituido con halo, $-(ciclopropil)-CF_3$, $-NO_2$, CN, $-SO_3R'$ y $COOR'$, en donde R' es H o alquilo (C_1-C_4);

X es $-COOR''$, $-P(O)(OR'')_2$, tetrazol, $-C(=O)NR''-OH$ o $-CF_2OH$, en donde R'' es H o alquilo (C_1-C_4);

20 R_4 y R_5 son H o, tomados juntos, R_4 y R_5 son $-C(=O)$;

R es H, OH, halo, alquilo (C_1-C_6) o alcoxi (C_1-C_6);

n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 y

25 m es 1, 2, 3 o 4;

o una sal, solvato y/o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de los mismos.

30 La presente divulgación incluye también composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de la divulgación y excipientes, transportadores y/o aditivos farmacéuticamente aceptables.

En una realización, los compuestos de la divulgación son inhibidores de la proteína STAT5. Los compuestos de fórmula (I) son útiles para tratar o prevenir afecciones de una afección o enfermedad mediada por la proteína STAT5. En algunos casos, la afección o enfermedad es neoplasias hematopoyéticas, afecciones cutáneas, cáncer de piel no melanoma, cáncer de próstata o inflamación.

Otras características y ventajas de la presente solicitud serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Debería entenderse, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, si bien indican realizaciones preferidas de la solicitud, se dan únicamente a modo de ejemplo.

DIBUJOS

La divulgación se describirá a continuación en más detalle con referencia a los siguientes dibujos en los que:

45 la figura 1 es un dendrograma Treemap que demuestra que un compuesto de la divulgación no inhibe las cinasas probadas (un acierto se define como $>35\%$ de inhibición);

50 la figura 2 muestra curvas de resonancia de plasmón superficial (RPS) que presentan las afinidades de unión de compuestos de la divulgación contra las proteínas STAT3 y STAT5;

la figura 3 son curvas de calibración para proteína STAT5b y STAT3 de tipo silvestre usando fosfopéptidos con fluoresceína (5-FAM-pYLPQTC y 5-FAM-GpYLVLDKW para STAT3 y STAT5B, respectivamente);

la figura 4 son curvas de polarización de fluorescencia (PF) normalizadas que presentan la unión competitiva de inhibidores de STAT5 de control (pimozida y cromona) con proteína STAT5B de tipo silvestre.

5 La figura 5 son curvas de PF normalizadas que presentan la unión competitiva de los compuestos 13a-d de la divulgación contra las proteínas STAT5B y STAT3 de tipo silvestre.

La figura 6 son gráficos que muestran el potencial citotóxico de los compuestos 13a-d de la divulgación en ensayos de viabilidad celular K562;

10 la figura 7 son gráficos que muestran el potencial citotóxico de los compuestos 13a-d de la divulgación en ensayos de viabilidad celular MV4-11;

15 la figura 8 es un gráfico que muestra A) inhibición de pSTAT5 con un compuesto de la divulgación en células K562; B) iniciación de la apoptosis después de 24 horas y atenuación de MCL-1; C) el compuesto no muestra ningún efecto sobre pSTAT3 en células MDA-MB-231 hasta 20 μM ; y D) atenuación de la diana corriente abajo c-Myc después de 5 horas;

20 la figura 9 muestra una serie de espectros de LC-MS que muestran la estabilidad metabólica en hepatocitos de ratón de un compuesto de la divulgación en diversos puntos temporales: A) 0 min; B) 120 min; y C) 240 min;

la figura 10 muestra espectros de masas en tándem de un primer pico de los espectros de LC-MS de la figura 9;

25 la figura 11 muestra espectros de masas en tándem de un segundo pico de los espectros de LC-MS de la figura 9;

la figura 12 muestra espectros de masas en tándem de un tercer pico de los espectros de LC-MS de la figura 9;

30 la figura 13 muestra espectros de masas en tándem de un cuarto pico de los espectros de LC-MS de la figura 9; y

la figura 14 muestra los efectos de un compuesto de la divulgación en células de AML CD34 + y MV4-11.

35 La figura 15 muestra A) una curva de PF normalizada que muestra la unión competitiva de un compuesto de la divulgación a la proteína STAT1 de tipo silvestre; B) efecto de un compuesto de la divulgación sobre los niveles de fosforilación de STAT1 en células K562 y MDA-MB-231; C) niveles de fosforilación de STAT5 dentro de las células MDA-MB-231. D) viabilidad celular de un compuesto de la divulgación en células MDA-MB-231.

40 La Figura 16 muestra A) inhibición de pSTAT5 con un compuesto de la divulgación (10 μM , flechas amarillas) en MV-4; 11 células a las 5 y 24 h; B) después de 24 h, la apoptosis fue iniciada por el PARP-1 escindido detectable; C) un compuesto de la divulgación indujo la atenuación completa del gen diana corriente abajo, MCL-1 a 10 μM .

45 La figura 17 muestra la estabilidad metabólica de un compuesto de la divulgación en HLS9 y MMLS9 con NADPH a los 60 min.

La figura 18 muestra A) la estabilidad metabólica de un compuesto de la divulgación y el control positivo (verapamilo) en hepatocitos humanos y de ratón a los 120 min. B) Porcentajes restantes del compuesto y control positivo (verapamilo) en hepatocitos humanos y de ratón hervidos a los 120 min como control negativo.

50 La figura 19 muestra un ajuste de desintegración de fase única para los puntos de datos analíticos de HPLC de un compuesto de la divulgación en presencia de tripéptido de glutatión en exceso (10 mM).

Descripción de varias realizaciones

55 Definiciones

60 El término "alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_p$)", tal como se usa en el presente documento, significa radicales alquilo saturados, de cadena lineal y/o ramificada, que contienen de uno a "p" átomos de carbono e incluye (dependiendo de la identidad de p) metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, s-butilo, isobutilo, t-butilo, 2,2-dimetilbutilo, n-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 4-metilpentilo, n-hexilo y similares, en donde la variable p es un número entero que representa el número más grande de átomos de carbono en el radical alquilo.

65 El término "alcoxi ($\text{C}_1\text{-C}_p$)" significa un grupo alquilo, tal como se ha definido anteriormente, que tiene un átomo de oxígeno unido al mismo. Tal como se usa en el presente documento, el término significa radicales alquilo saturados, de cadena lineal y/o ramificada, que tienen un átomo de oxígeno unido a los mismos y que contienen de uno a "p" átomos de carbono e incluyen (dependiendo de la identidad de p) metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, s-

butoxi, isobutoxi, t-butoxi, 2,2-dimetilbutoxi, n-pentoxi, 2-metilpentoxi, 3-metilpentoxi, 4-metilpentoxi, n-hexoxi y similares, en donde la variable p es un número entero que representa el número más grande de átomos de carbono en el radical alcoxi.

- 5 El término "alquilo (C₁-C_p) sustituido con halo", tal como se usa en el presente documento, significa radicales alquilo saturados, de cadena lineal o ramificada, que contienen de uno a "p" átomos de carbono, en los que al menos uno y hasta e incluyendo todos, de los átomos de hidrógeno se han sustituido con átomos de halógeno e incluyen (dependiendo de la identidad de p) fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, clorometilo, diclorometilo, triclorometilo, 1-fluoroetilo, 1,1-difluoroetilo y similares, en donde la variable p es un número entero que representa el
10 número más grande de átomos de carbono en el radical alquilo.

El término "arilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a grupos cíclicos que contienen al menos un anillo aromático, por ejemplo, un único anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo). En una realización de la presente divulgación, el grupo arilo contiene 6, 9 o 10 átomos tales como fenilo, naftilo, indanilo, antraceno, 1,2-dihidronaftilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, fluorenilo, indanilo, indenilo y similares.
15

El término "halo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un átomo de halógeno e incluye flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) y yodo (I).

- 20 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere, por ejemplo, a una sal que retiene la actividad biológica deseada de un compuesto de la presente divulgación y no confiere los efectos toxicológicos no deseados del mismo; y puede referirse a una sal de adición de ácido o una sal de adición de base.

El término "solvato", tal como se usa en el presente documento, significa un compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde las moléculas de un disolvente adecuado se incorporan a la red cristalina. Un disolvente apropiado es fisiológicamente tolerable a la dosis administrada. Son ejemplos de disolventes adecuados etanol, agua y similares. Cuando el agua es el disolvente, la molécula se denomina "hidrato". La formación de los solvatos variará dependiendo del compuesto y del solvato. En general, los solvatos se forman disolviendo el compuesto en el disolvente apropiado y aislando el disolvente mediante enfriamiento o usando un antidisolvente. El solvato
25 normalmente se seca o se forma un azeótropo en condiciones ambiente.

En realizaciones de la presente divulgación, los compuestos pueden tener un centro asimétrico. Estos compuestos existen en forma de enantiómeros. Donde los compuestos poseen más de un centro asimétrico, estos pueden existir en forma de diastereómeros. Debe entenderse que todos esos isómeros y mezclas de los mismos, en cualquier
35 proporción, están incluidos dentro del alcance de la presente divulgación. Debe entenderse además que, aunque la estereoquímica de los compuestos puede ser como se muestra en cualquier compuesto dado enumerado en el presente documento, dichos compuestos pueden contener también ciertas cantidades (por ejemplo, menos del 20 %, de forma adecuada menos del 10 %, de forma más adecuada menos del 5 %) de compuestos de la divulgación que tienen una estereoquímica alternativa. Por ejemplo, se entiende que los compuestos de la
40 divulgación que se muestran sin ninguna designación estereoquímica son mezclas racémicas (es decir, contienen una cantidad igual de cada enantiómero o diastereómero posible). Sin embargo, debe entenderse que todos los enantiómeros y diastereómeros están incluidos dentro del alcance de la presente divulgación, incluyendo sus mezclas en cualquier proporción.

45 La expresión "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz", tal como se usa en el presente documento, significa una cantidad eficaz, en las dosis y durante los periodos de tiempo necesarios para lograr el resultado deseado. Por ejemplo, en el contexto del tratamiento de un sujeto con una enfermedad mediada por STAT5, una cantidad eficaz es una cantidad que, por ejemplo, inhibe la proteína STAT5 en el sujeto. Las cantidades eficaces pueden variar de acuerdo con factores tales como el estado patológico, la edad, el sexo y/o el peso del sujeto. La cantidad de un compuesto dado que corresponderá a dicha cantidad variará
50 dependiendo de diversos factores, tales como el fármaco o compuesto administrado, la formulación farmacéutica, la vía de administración, el tipo de afección, enfermedad o trastorno, la identidad del sujeto a tratar y similares, pero no obstante se puede determinar de forma habitual por un experto en la técnica.

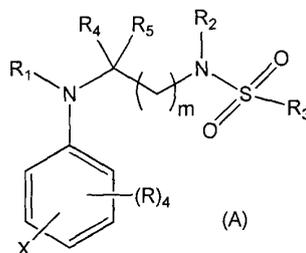
55 Tal como se usa en el presente documento, el término "profármaco" se refiere a una sustancia que se prepara en una forma inactiva, que se convierte en una forma activa (es decir, fármaco) dentro del cuerpo o de las células del mismo mediante la acción de, por ejemplo, enzimas endógenas u otros químicos y/o condiciones. Los profármacos derivados de los compuestos de la divulgación o las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden preparar por métodos conocidos por los expertos habituales en la técnica e incluyen ésteres de cualquier
60 resto hidroxilo o carboxilo libre de los compuestos.

Tal como se usa en el presente documento, un "sujeto" se refiere a todos los miembros del reino animal, incluyendo mamíferos y se refiere adecuadamente a los seres humanos. Un miembro del reino animal incluye, sin limitación, un mamífero (tal como un ser humano, primate, cerdo, oveja, vaca, equino, caballo, camello, canino, perro, felino, gato,
65 tigre, leopardo, civeta, visón, garduña, hurón, mascota doméstica, ganado, conejo, ratón, rata, cobaya u otro roedor, foca, ballena y similares), pez, anfibio, reptil y pájaro (tal como ave acuática, ave migratoria, codorniz, pato, ganso,

ave de corral o pollo). En una realización de la presente divulgación, el sujeto necesita un compuesto o composición de la divulgación.

COMPUESTOS DE LA DIVULGACIÓN

5 En una realización, la presente divulgación se refiere a compuestos de fórmula (A), que son inhibidores de STAT5. En una realización, el compuesto de fórmula (A) tiene la siguiente estructura



10 en donde

15 R₁ es -(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀) o -C(=O)-(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀), en donde los grupos arilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropilo)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y -COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄);

20 R₂ es -(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀), en donde los grupos están sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropil)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y -COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄);

25 R₃ es -(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀), en donde los grupos arilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropil)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y -COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄);

30 X es -COOR'', -P(O)(OR'')₂, tetrazol, -C(=O)NR''-OH o -CF₂OH, en donde R'' es H o alquilo (C₁-C₄) o -(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀);

35 R₄ y R₅ son independiente o simultáneamente H o CF₃, en donde uno de R₄ o R₅ es H o, tomados juntos, R₄ y R₅ son -C(=O) o -C(=S);

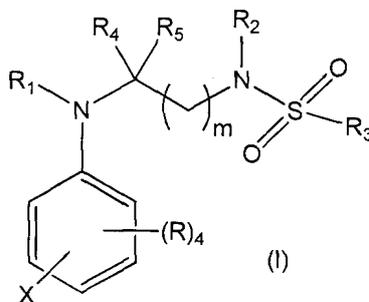
R es H, OH, halo, alquilo (C₁-C₆) o alcoxi (C₁-C₆);

cada n es independiente o simultáneamente 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 y

40 m es 1, 2, 3 o 4;

o una sal, solvato y/o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de los mismos.

45 En una realización, el compuesto de fórmula (A) es un compuesto de fórmula (I) que es inhibidor de STAT5. En una realización, el compuesto de fórmula (I) tiene la estructura siguiente



en donde

45 R₁ es -(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀) o -C(=O)-(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀), en donde los grupos arilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), alquilo

(C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropilo)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y -COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄);

R₂ es -(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀), en donde los grupos están sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropil)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y -COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄);

R₃ es -(CH₂)_n-arilo (C₆-C₁₀), en donde los grupos arilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropil)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄);

X es -COOR", -P(O)(OR")₂, tetrazol, -C(=O)NR"-OH o -CF₂OH, en donde R" es H o alquilo (C₁-C₄);

R₄ y R₅ son H o, tomados juntos, R₄ y R₅ son -C(=O);

R es H, OH, halo, alquilo (C₁-C₆) o alcoxi (C₁-C₆);

cada n es independiente o simultáneamente 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 y

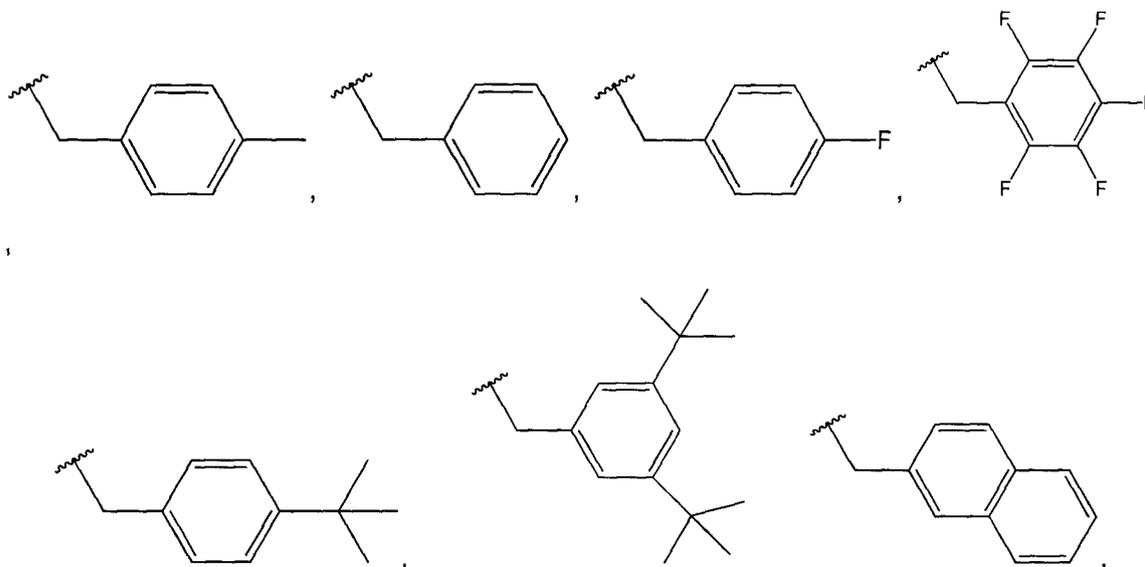
m es 1, 2, 3 o 4;

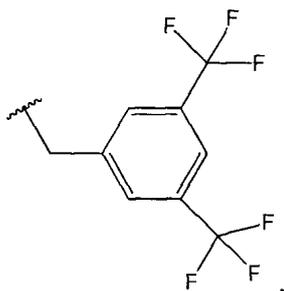
o una sal, solvato y/o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En una realización de la divulgación, R₁ es -arilo (C₆-C₁₀), -(CH₂)-arilo (C₆-C₁₀) o -C(=O)-arilo (C₆-C₁₀). En otra realización, R₁ es fenilo, naftilo, -CH₂-fenilo, -CH₂-naftilo, -C(=O)-fenilo o -C(=O)-naftilo.

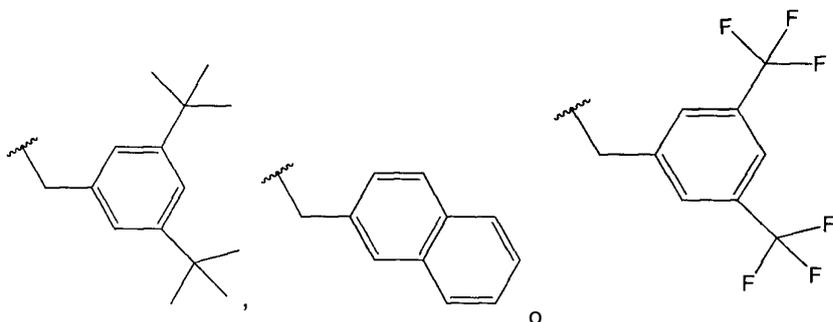
En otra realización de la divulgación, los sustituyentes opcionales en el grupo arilo de R₁ se seleccionan entre uno a cinco de halo, CN, alquilo (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo y alcoxi (C₁-C₆). En otra realización de la divulgación, los sustituyentes opcionales en el grupo arilo de R₁ se seleccionan entre uno a cinco de halo, alquilo (C₁-C₆) y alcoxi (C₁-C₆). En otra realización, los sustituyentes opcionales del grupo arilo de R₁ se seleccionan entre uno a cinco de flúor, cloro, bromo, alquilo (C₁-C₄) o alcoxi (C₁-C₄). En una realización más, los sustituyentes opcionales en el grupo arilo de R₁ se seleccionan entre uno a tres sustituyentes seleccionados entre flúor, metilo y t-butilo. En una realización, los sustituyentes en el grupo arilo de R₁ se seleccionan entre uno a tres sustituyentes seleccionados entre CN, -CF₃, -CH₃, F, isopropilo y t-butilo.

En una realización de la divulgación, el resto R₁ es



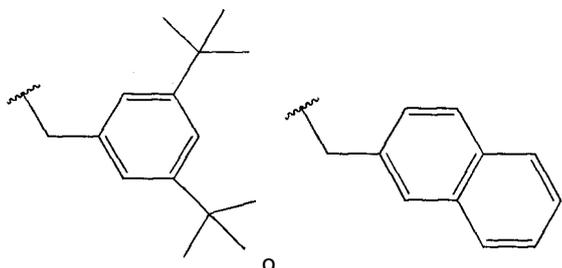


En otra realización, el resto R₁ es



5

En otra realización, el resto R₁ es

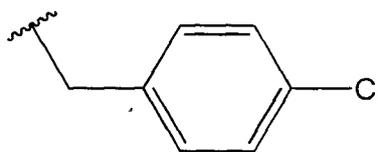


10

En una realización de la divulgación, R₂ es -arilo (C₆-C₁₀) o -(CH₂)-arilo (C₆-C₁₀). En otra realización, R₂ es fenilo o -CH₂-fenilo.

15 En otra realización, los sustituyentes en el grupo arilo de R₂ se seleccionan entre uno a cinco de halo, alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropil)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y -COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄). En otra realización, los sustituyentes en el grupo arilo de R₂ se seleccionan entre uno a tres de halo, alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo y -(ciclopropil)-CF₃. En otra realización, los sustituyentes en el grupo arilo de R₂ son de uno a tres grupos cloro, CF₃ o -(ciclopropil)-CF₃.

20 En otra realización, el resto R₂ es

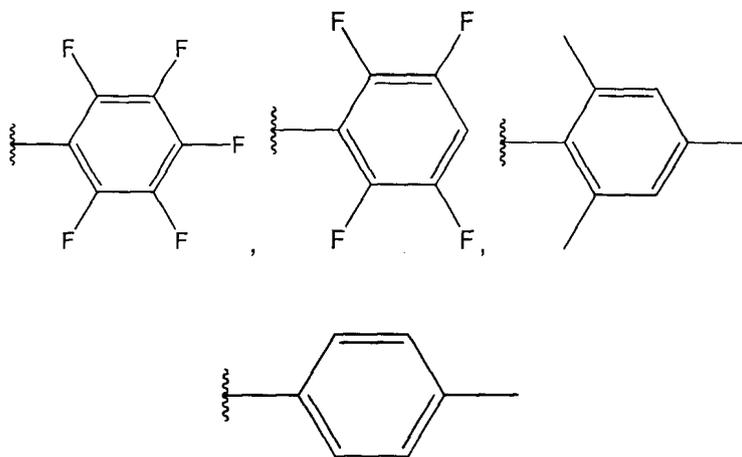


25 En otra realización de la divulgación, R₃ es -arilo (C₆-C₁₀) o -(CH₂)-arilo (C₆-C₁₀). En otra realización, R₃ es fenilo o -CH₂-fenilo.

En una realización, los sustituyentes opcionales en el grupo arilo de R₃ se seleccionan entre uno a cinco de halo, OH, alquilo (C₁-C₆) y alcoxi (C₁-C₆). En otra realización, los sustituyentes opcionales del grupo arilo de R₃ se

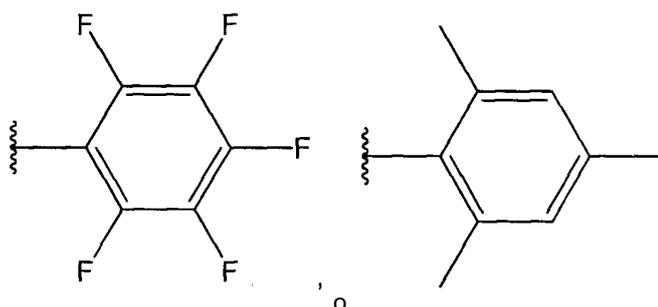
seleccionan entre uno a cinco de flúor, cloro, bromo, OH, alquilo (C₁-C₃) y alcoxi (C₁-C₃). En otra realización, los sustituyentes opcionales del grupo arilo de R₃ se seleccionan entre uno a cinco de flúor, cloro, bromo y alquilo (C₁-C₃).

5 En una realización, el resto R₃ es



10

En otra realización, el resto R₃ es

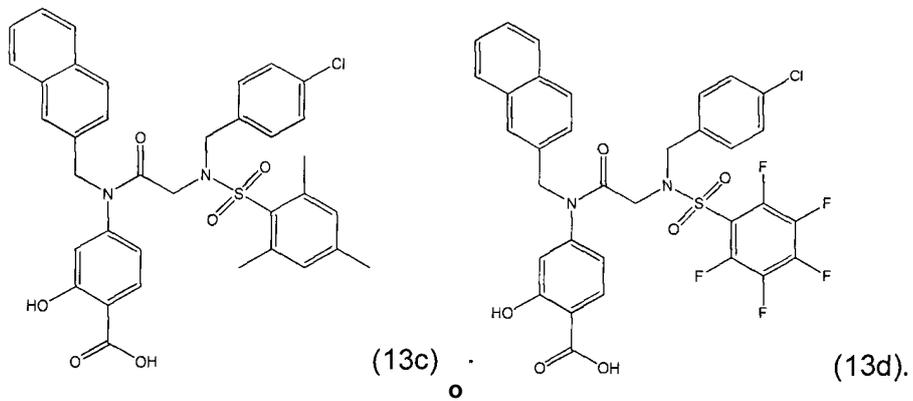
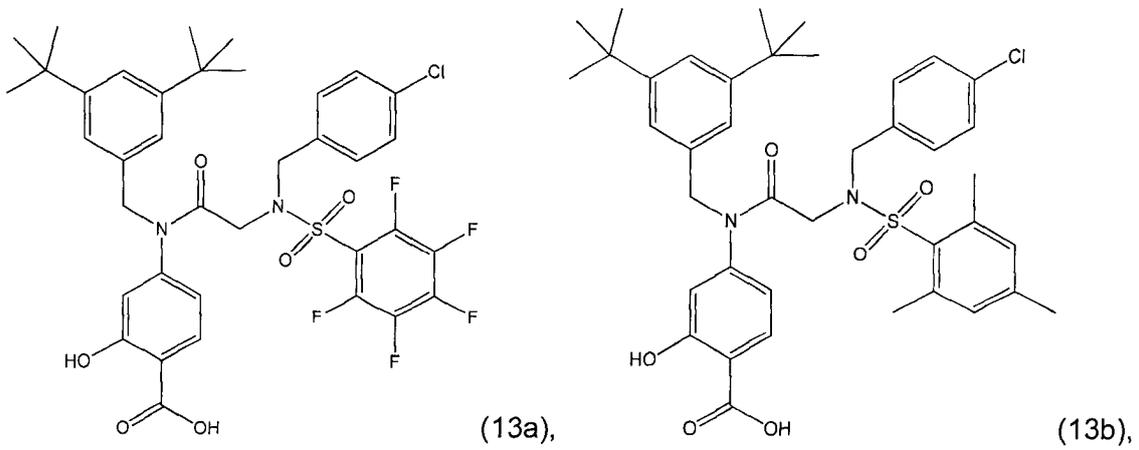


15 En una realización más de la divulgación, R es H, OH, flúor, cloro, bromo o alquilo (C₁-C₄). En otra realización, H, F u OH.

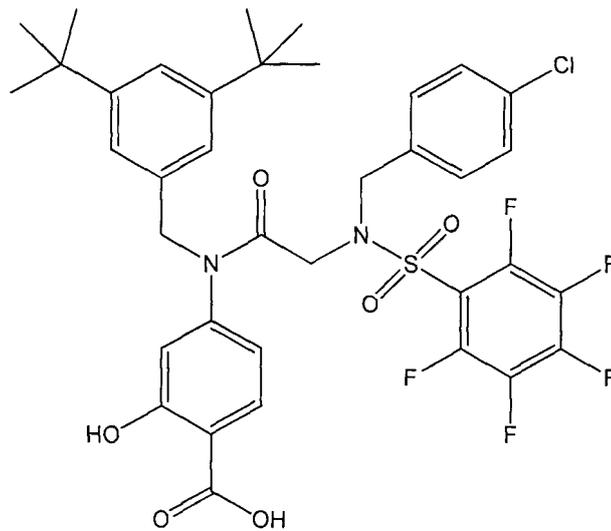
En otra realización de la divulgación, X es COOR", -P(O)(OR")₂ o tetrazol, en donde R" es H, o alquilo (C₁-C₄) (tal como t-butilo). En una realización, X es -COOR", en donde R" es H o alquilo (C₁-C₄). En una realización, X es -COOH. En una realización, X es -COO-bencilo.

20

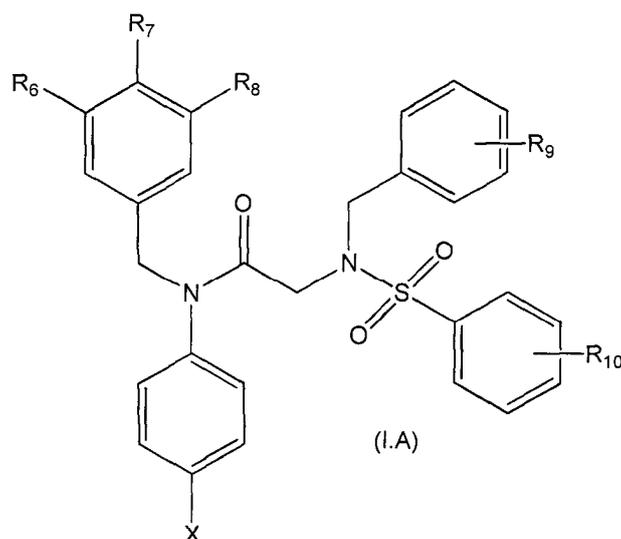
En otra realización de la divulgación, el compuesto de fórmula (I) tiene la estructura siguiente



5 En una realización más, el compuesto de fórmula (I) tiene la estructura siguiente



10 En otra realización de la divulgación, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (I.A)



en donde

- 5 R₆, R₇ y R₈ se seleccionan independiente o simultáneamente entre H, halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropil)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y -COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄);
- 10 R₉ y R₁₀ se seleccionan independiente o simultáneamente entre uno a cinco de halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo, -(ciclopropil)-CF₃, -NO₂, CN, -SO₃R' y -COOR', en donde R' es H o alquilo (C₁-C₄); X es -COOR'', -P(O)(OR'')₂, tetrazol, -C(=O)NR''-OH o -CF₂OH, en donde R'' es H, alquilo (C₁-C₄) o -CH₂-arilo (C₆-C₁₀); o una sal, solvato y/o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 15 En otra realización de la divulgación, R₆, R₇ y R₈ se seleccionan independiente o simultáneamente entre H, halo, CN, alquilo (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo y alcoxi (C₁-C₆). En otra realización de la divulgación, R₆, R₇ y R₈ se seleccionan independiente o simultáneamente entre H, halo, CN, CF₃, alquilo (C₁-C₆) y alcoxi (C₁-C₆). En otra realización, R₆, R₇ y R₈ se seleccionan independiente o simultáneamente entre H, flúor, cloro, bromo, CN, CF₃, alquilo (C₁-C₄) o alcoxi (C₁-C₄). En una realización, R₆, R₇ y R₈ se seleccionan independiente o simultáneamente entre H, CN, -CF₃, -CH₃, F, isopropilo y t-butilo. En otra realización, R₆ y R₈ se seleccionan independiente o simultáneamente entre H, CN, -CF₃,
- 20 alquilo (C₁-C₄) (tal como -CH₃, isopropilo o t-butilo). En una realización, R₆ y R₈ son t-butilo y R₇ es H.

- 25 En una realización, R₉ y R₁₀ se seleccionan independiente o simultáneamente entre uno a cinco de halo, OH, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆) o alquilo (C₁-C₄) sustituido con halo. En una realización, R₉ y R₁₀ se seleccionan independiente o simultáneamente entre uno o a cinco de Cl, F, Br, OH o alquilo (C₁-C₆). En una realización, R₉ es Cl en la posición para-. En otra realización, R₁₀ son cinco átomos de flúor. En otra realización, R₁₀ son cuatro átomos de flúor en las posiciones orto- y meta-. En otra realización, R₁₀ son tres grupos metilo en las posiciones orto- y para-.

- 30 En una realización, X es -COOR'', en donde R'' es H, alquilo (C₁-C₄) o -CH₂-arilo (C₆-C₁₀). En una realización, X es -COOH, -COO(t-butilo) o -COO-bencilo. En otra realización, X es -COOH.

COMPOSICIONES

- 35 La presente divulgación incluye también composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (A), (I) y (I. A) tal como se ha definido anteriormente (compuestos de la divulgación) o sales, solvatos y profármacos del mismo y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los compuestos se formulan de forma adecuada en composiciones farmacéuticas para su administración a sujetos, preferentemente seres humanos, en una forma compatible biológicamente, adecuada para administración *in vivo*.

- 40 Las composiciones que contienen los compuestos de la divulgación se pueden preparar mediante métodos conocidos para la preparación de composiciones farmacéuticamente aceptables que se pueden administrar a sujetos, de modo que una cantidad eficaz de la sustancia activa se combine en una mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Se describen vehículos adecuados, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences" (2003 - 20ª edición) y en The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19), publicado en 1999. Basándose en esto, las composiciones incluyen, aunque no exclusivamente, soluciones de las sustancias en asociación con uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables y contenidas en soluciones tamponadas con un pH adecuado e isoosmótico con los fluidos fisiológicos.
- 45

Los compuestos de la divulgación pueden usarse farmacéuticamente en la forma de la base libre, en la forma de sales, solvatos y en forma de hidratos. Todas las formas están dentro del alcance de la divulgación. Se pueden formar sales de adición de ácido y de base con los compuestos de la divulgación para su uso como fuentes de la forma de base libre incluso si la sal particular *per se*, se desea solamente como un producto intermedio como, por ejemplo, cuando la sal se forma solamente para los propósitos de purificación e identificación. Todas las sales que se pueden formar con los compuestos de la divulgación están, por lo tanto, dentro del alcance de la presente divulgación.

10 MÉTODOS DE TRATAMIENTO MÉDICO Y USOS

En un aspecto se proporciona el compuesto de la invención para su uso en la inhibición del transductor de señal y el activador de la proteína de transcripción 5 (STAT5) en el tratamiento o la prevención de enfermedades tales como a) neoplasias hematopoyéticas, tales como leucemia, tal como leucemia aguda, leucemia crónica, leucemia linfocítica o leucemia mielógena; b) afecciones cutáneas, tales como psoriasis o dermatitis; c) cáncer de piel no melanoma; d) cáncer de próstata o e) inflamación. El compuesto de la divulgación, incluyendo los compuestos de fórmula (A), (I) e (I.A) son inhibidores de la proteína STAT5. Los compuestos de la divulgación son inhibidores selectivos de STAT5 en relación con su actividad contra STAT5 y STAT3. Los compuestos de la divulgación tienen valores K_D de menos de 200 nM, opcionalmente menos de 150 nM, opcionalmente menos de 100 nM u opcionalmente menos de 50 nM.

En el presente documento se describe un método para tratar o prevenir una enfermedad o afección mediada por un transductor de señal y un activador de la proteína de transcripción 5 (STAT5), que comprende administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la divulgación a un sujeto que lo necesita. En un caso la enfermedad o afección mediada por STAT5 es una enfermedad o afección en la que la inhibición de la proteína STAT5 sería beneficiosa. En un caso, la enfermedad o afección es una neoplasia hematopoyética, afección cutánea, cáncer de piel no melanoma, cáncer de próstata o inflamación, que comprende administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la divulgación a un sujeto que lo necesita. En un caso, la neoplasia hematopoyética es leucemia. En otra realización, la leucemia es leucemia aguda, leucemia crónica, leucemia linfocítica o leucemia mielógena. En otro caso, la afección cutánea es psoriasis o dermatitis.

En otro caso, los compuestos de la divulgación son útiles para inhibir el transductor de señal y el activador de la proteína de transcripción 5 (STAT5). En otro caso, los compuestos de la divulgación son útiles para la preparación de un medicamento para inhibir el transductor de señal y el activador de la proteína de transcripción 5 (STAT5). Los compuestos de la divulgación son útiles para el tratamiento o prevención de neoplasias hematopoyéticas, afecciones cutáneas, cáncer de piel no melanoma, cáncer de próstata o inflamación. En un caso, la neoplasia hematopoyética es leucemia. En otro caso, la leucemia es leucemia aguda, leucemia crónica, leucemia linfocítica o leucemia mielógena. En otro caso, la afección cutánea es psoriasis o dermatitis.

En otro caso, los compuestos de la divulgación son útiles como sondas para investigar la función de STAT5 en diversas células enfermas. En un caso, los compuestos de la divulgación inhiben de manera específica STAT5 y, por lo tanto, los compuestos se usan como sondas para determinar si STAT5 está implicada en una enfermedad o afección.

Aunque la invención se ha descrito junto con las realizaciones específicas de la misma, es evidente que muchas alternativas, modificaciones y variaciones estarán claras para los expertos en la técnica. Además, la citación o identificación de cualquier referencia en esta solicitud no debería interpretarse como una admisión de que dicha referencia esté disponible como técnica anterior a la presente divulgación.

La operación de la divulgación se ilustra mediante los siguientes ejemplos representativos. Como es evidente para los expertos en la técnica, muchos de los detalles de los ejemplos se pueden cambiar durante la práctica de la divulgación descrita en el presente documento.

Ejemplos

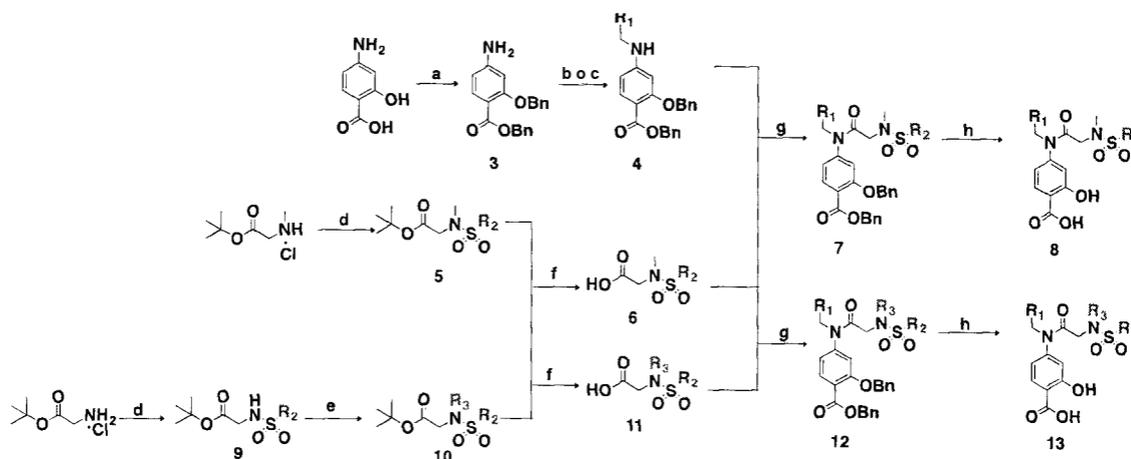
55 *Protocolos experimentales*

Ejemplo 1. Métodos químicos

Los disolventes anhidro metanol, DMSO, CH_2Cl_2 , THF y DMF se adquirieron de Sigma Aldrich y se usaron directamente de botellas Sure-Seal. Los tamices moleculares se activaron por calentamiento a 300 °C al vacío durante una noche. Todas las reacciones se realizaron en atmósfera de nitrógeno seco en recipientes de vidrio secados al horno y se controlaron en su totalidad mediante cromatografía de capa fina (TLC) usando gel de sílice (visualizada mediante luz UV o desarrollada mediante tratamiento con tinción con tinción de KMnO_4). Los espectros de la RMN se registraron en un espectrómetro Bruker Avance III a 23 °C, operando a 400 MHz para espectroscopía RMN ^1H y a 100 MHz para espectroscopía RMN ^{13}C bien en CDCl_3 , CD_3OD o d_6 -DMSO. Los desplazamientos químicos (d) se indican en partes por millón (ppm) después de calibración al disolvente isotópico residual. Las

constantes de acoplamiento (J) se indican en Hz. La espectroscopía de masas se llevó a cabo con un espectrómetro de masas AB/Sciex QStar con una fuente de ESI, MS/MS y capacidades de masa precisas, asociado con un sistema de LC capilar Agilent 1100. Antes del ensayo biológico, se evaluó la pureza del inhibidor mediante HPLC de fase inversa HPLC (rpHPLC). El análisis mediante rpHPLC se realizó usando a columna Phenomenex Luna 5 u C18 150 mm x 4,6 mm ejecutada a 1,2 ml/min y usando mezclas de gradiente. El gradiente lineal consiste en una composición variable de disolvente de (I) MeCN al 15 % y H₂O al 85 % con TFA al 0,1 % (v/v) a MeCN al 100 % durante 30 minutos y (II) MeCN al 15 % y H₂O al 85 % con TFA al 0,1 % (v/v) a MeCN al 100 % durante 60 minutos, detección de UV a 250 nm. Para indicar los datos de la HPLC, el porcentaje de pureza se proporciona entre paréntesis después del tiempo de retención de cada condición. Todos los compuestos biológicamente evaluados tienen una pureza química > 95 % según se midió por HPLC. Las señales de HPLC para todos los compuestos probados se proporcionan en la información de soporte.

Los compuestos de la divulgación se sintetizaron de la siguiente manera general, tal como se muestra en el esquema 1.



Esquema 1: a) i) K^tOBu, BnBr, DMF, 0 °C → TA., 1 h; después K^tOBu, BnBr, DMF, 0 °C → TA, 16 h, 47 %; b) 1) Aldehído, AcOH, tamices moleculares de 3 Å, CH₃OH, 45 °C, 2 h; 2) NaCNBH₃, 45 °C, 16 h, 36-96 %; c) Aldehído, tamices moleculares de 3 Å, CH₂Cl₂, NaOAc, Na(OAc)₃BH, TA, 16 h, 88 %; d) (CH₃)₃CSO₂Cl o C₅F₅SO₂Cl, K₂CO₃, CH₃CN, 16 h, 0 °C → TA, 60-77 %; e) 1) p-Cl(C₆H₄)BnBr, Cs₂CO₃, DMF, T.A., N₂, 2 h, 70 %; f) CH₂Cl₂; TFA 1:1, TA, 1 h, 90 %; g) PPh₃Cl₂, CHCl₃, 30 min, 100 °C calentamiento asistido por microondas, 20-98 %; h) H₂, Pd/C, 1:1

THF/CH₃OH, 3-10 h, TA, 35-95 %. DMF = *N,N*-dimetilformamida, TFA = ácido trifluoroacético

Procedimiento general a (dibencilación del ácido salicílico). A una solución en agitación de ácido 4-amino salicílico (1,0 equiv.) en DMF (0,1 M) a 0 °C se le añadió KO^tBu (1,2 equiv.). Después de 15 min, se añadió bromuro de bencilo (1,2 equiv.) gota a gota. La suspensión se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 h más antes de que se volviera a enfriar el recipiente de reacción a 0 °C. Una vez más, se añadió KO^tBu (1,2 equiv.) antes de la adición gota a gota de bromuro de bencilo (1,2 equiv.). La reacción se dejó en agitación durante una noche antes de inactivar con H₂O. Después, la solución se extrajo repetidamente con acetato de etilo y las fases orgánicas se combinaron. Después, los orgánicos se lavaron con H₂O y salmuera, después se concentraron, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó usando el cromatógrafo en columna automático Biotage Isolera con un gradiente de hexanos/EtOAc a presión reducida.

Procedimiento general b (aminación reductora usando cianoborohidruro sódico). A una solución del ácido 4-amino salicílico protegido con bencilo **5** (1,0 equiv.) y ácido acético (1,5 equiv.) en agitación en CH₃OH anhidro (0,1 M) con tamices moleculares de 3 Å se le añadió el aldehído (1,0 equiv.). La solución se calentó a 45 °C durante 3 h y después se dejó enfriar a ta. A continuación, se añadió NaCNBH₃ (1,3 equiv.) en porciones y la reacción se dejó en agitación a ta durante una noche. La reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se filtró y se concentró al vacío. El concentrado se purificó usando el cromatógrafo en columna automático Biotage Isolera usando un gradiente de hexanos/EtOAc.

Procedimiento general c (aminación reductora usando triacetoxiborohidruro sódico). A una solución de ácido 4-amino salicílico protegido con bencilo **5** (1,2 equiv.) y ácido acético (1,2 equiv.) en agitación en dicloroetano anhidro (0,1 M) con tamices moleculares de 3 Å se le añadió el aldehído (1,0 equiv.). Después, la solución se agitó a ta durante 5 min tras lo cual se añadió Na(OAc)₃BH (1,5 equiv.) y se dejó en agitación a ta durante una noche. La reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se filtró y se concentró al vacío. El concentrado se purificó usando el cromatógrafo en columna automático Biotage Isolera usando un gradiente de hexanos/EtOAc.

Procedimiento general d (sulfonilación de glicina y t-butil éster de sarcosina). Una solución de t-butil éster de

aminoácido (1 equiv.) y K_2CO_3 (1,1 equiv.) se disolvió en acetonitrilo anhidro y se enfrió a 0 °C antes de añadir cloruro de sulfonilo (1 equiv.). La solución resultante se dejó en agitación durante una noche a ta. La reacción se concentró al vacío y el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 . Los extractos orgánicos se combinaron y después se lavaron secuencialmente con HCl 0,1 M, $NaHCO_3$ saturado y salmuera. Los orgánicos se lavaron después sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío al vacío para formar los derivados **7** y **8** sin más purificación.

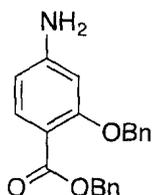
Procedimiento general e (alquilación de sulfonamida). Una solución de **8** (1 equiv.) y Cs_2CO_3 (1,3 equiv.) se disolvió en DMF anhidra, seguido de la adición de p-ClBnBr (1 equiv.). La solución resultante se dejó en agitación durante 2 h a t.a. La reacción se interrumpió con H_2O y después se extrajo repetidas veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con H_2O , salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó usando el cromatógrafo en columna automático Biotage Isolera con un gradiente 2:1 de hexanos/EtOAc a presión reducida.

Procedimiento general f (desprotección de *t*-butil éster). Una solución de *t*-butil éster de aminoácido (1 equiv.) se disolvió en TFA e inmediatamente se diluyó con CH_2Cl_2 en una solución mezclada 1:1 (0,1 M). La solución resultante se dejó en agitación durante 1 h y después se coevaporó con CH_3OH (3 x) y $CHCl_3$ (3 x). El residuo resultante se usó más adelante sin purificación.

Procedimiento general g (acoplamiento peptídico de PPh_3Cl_2). A una solución en agitación de ácido carboxílico **10** (1,1 equiv.) en $CHCl_3$ (0,1 M) se le añadió PPh_3Cl_2 (2,5 equiv.). La reacción se dejó en agitación 5 min a ta o hasta que se completó la disolución, seguido de la adición gota a gota de la anilina secundaria **6** (1,0 equiv.). Después, la mezcla de reacción se calentó en un microondas a 100 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se dejó enfriar a ta seguido de lavado secuencial con $NaHCO_3$ saturado y salmuera. Las capas orgánicas se secaron después sobre Na_2SO_4 y se secaron al vacío. El concentrado se absorbió directamente sobre sílice para purificación por cromatografía en columna usando un gradiente de hexanos y EtOAc.

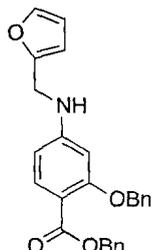
Procedimiento general h (hidrogenólisis del éster de bencilo y el éter de bencilo). El ácido salicílico protegido por bencilo, **11** (1 equiv.) se disolvió en una solución en agitación de CH_3OH/THF (1:2, 0,1 M). La solución se desgasificó a fondo antes de la adición cuidadosa de Pd al 10 %/C (10 mg/mmol). Se burbujeó gas H_2 a través del disolvente durante 5 min antes de colocar la solución en atmósfera de gas H_2 y se agitó de manera continua durante 2-5 h, controlando la compleción de la reacción mediante TLC. El gas H_2 se evacuó y la reacción se filtró a través de celite para eliminar el catalizador de Pd y se concentró al vacío. El residuo resultante se adsorbió sobre sílice y se colocó en columna usando un sistema Biotage Isolera en un gradiente de CH_2Cl_2 , CH_3OH y ácido acético al 1 %.

Datos de caracterización de los intermedios



4-amino-2-(benciloxi)benzoato de bencilo (3). El compuesto **3** se sintetizó de acuerdo con el procedimiento general a, produciendo el producto final en forma de un sólido de color naranja (47 %): δ_H (400 MHz, *d*- $CDCl_3$) 5,07 (s, 2H, CH_2), 5,21 (s, 2H, CH_2), 5,99 (s a, 2H, NH_2), 6,18 (dd, $J = 8,6$ y 1,8 Hz, 1H, CH), 6,32 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H, CH), 7,28-7,38 (8H, m, CH), 7,47 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH), 7,60 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 65,8, 70,2, 99,1, 106,7, 109,0, 126,8, 127,5, 127,7, 127,9, 128,3, 128,4, 134,3, 136,6, 136,7, 152,2, 160,7, 165,7; LRMS (ES+) calculada para $[C_{21}H_{19}NO_3 + H]$ 333,18, observada 334,2.

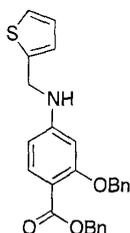
45



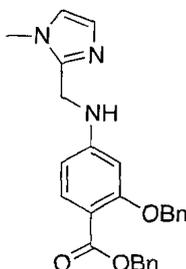
2-(benciloxi)-4-((furan-2-ilmetil)amino)benzoato de bencilo. Derivado **4** sintetizado mediante furan-2-carbaldehído sobre una escala de 1,5 mmol usando el procedimiento general b (74 %): δ_H (400 MHz, *d*- $CDCl_3$) 4,36 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H, CH_2), 4,54 (s a, 1H, NH), 5,12 (s, 2H, CH_2), 5,31 (s, 2H, CH_2), 6,19 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H, CH), 6,21 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,24 (dd, $J = 8,6$ y 2,0 Hz, 1H, CH), 6,31 (c, $J = 3,0$, 1,8 y 4,6 Hz, 1H, CH) 7,26 - 7,50 (m, 11H, 11 CH), 7,84 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*- $CDCl_3$) 40,6, 65,7, 70,4, 97,5, 104,9, 107,2, 108,9, 110,3,

50

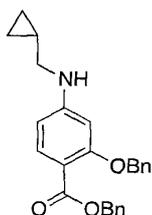
126,8, 127,5, 127,6, 127,9, 128,2, 128,4, 134,2, 136,6, 136,7, 142,0, 151,4, 152,2, 160,7, 165,5 LRMS (ES+) calculada para $[C_{26}H_{23}NO_4 + H]$ 413,16 encontrada 414,2.



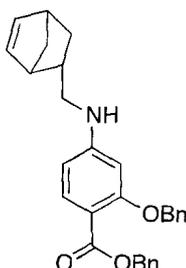
- 5 **2-(benziloxi)-4-((tiofen-2-ilmetil)amino)benzoato de bencilo.** Derivado **4** sintetizado mediante tiofen-2-carbaldehído sobre una escala de 1,5 mmol usando el procedimiento general b (73 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃) 4,50 (s, 2H, CH₂), 4,54 (s a, 1H, NH), 5,10 (s, 2H, CH₂), 5,31 (s, 2H, CH₂), 6,20 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,25 (dd, *J* = 8,6 y 2,0 Hz, 1H, CH), 6,97 (a, 2H, CH), 7,23 (dd, *J* = 1,3, 4,8 Hz, 1H, CH), 7,27 - 7,58 (m, 10H, 10 CH), 7,84 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 51,6, 65,4, 70,6, 96,5, 104,9, 109,5, 125,6, 126,2, 127,0, 127,1, 127,6, 128,8, 136,5, 140,3, 152,5, 161,3, 168,8 LRMS (ES+) c calculada para $[C_{26}H_{23}NO_3S + H]$ 429,14 encontrada 430,2.



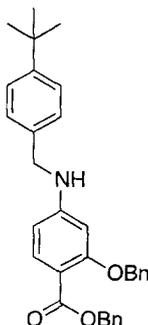
- 15 **Bencil-2-(benziloxi)-((1-metil-H-imidazol-2-il)metil)amino)benzoato.** Derivado **4** sintetizado mediante 1-metil-1H-imidazol-2-carbaldehído sobre una escala de 1,5 mmol usando el procedimiento general b (43 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃) 3,53 (s, 3H, CH₃), 4,27 (d, *J* = 5,4 Hz, 2H, CH₂), 5,08 (s, 2H, CH₂), 5,21 (a, 1H, NH), 5,31 (s, 2H, CH₂), 6,24 (dd, *J* = 8,6, 2,0 Hz, 1H, CH), 6,30 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,81 (s, 1H, CH), 6,96 (s, 1H, CH), 7,23 - 7,51 (m, 10H, 10 CH), 7,84 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 14,1, 20,9, 29,6, 32,4, 40,1, 60,2, 65,7, 70,3, 97,6, 104,7, 108,6, 121,6, 126,9, 127,1, 127,5, 127,9, 128,2, 134,2, 136,7, 144,0, 152,5, 160,7, 165,7 LRMS (ES+) calculada para $[C_{26}H_{25}N_3O_3 + H]$ 427,19 encontrada 428,21.



- 25 **2-(benziloxi)-4-((ciclopropilmetil)amino)benzoato de bencilo.** Derivado **4** sintetizado mediante ciclopropan-carbaldehído sobre una escala de 1,5 mmol usando el procedimiento general b (66 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃) 0,25 (dd, *J* = 5,3 y 10,0 Hz, 2H, CH₂), 0,56 (dd, *J* = 5,7, 13,0 Hz, 2H, CH₂), 1,05 (a, 1H, CH), 2,97 (s, 2H, CH₂), 4,40 (a, 1H, NH), 5,13 (s, 2H, CH₂), 5,33 (s, 2H, CH₂), 6,15 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,19 (dd, *J* = 8,6, 2,0 Hz, 1H, CH), 7,27 - 7,58 (m, 10H, 10 CH), 7,84 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*, CDCl₃) 3,4, 10,4, 14,1, 48,2, 60,3, 65,7, 70,3, 96,9, 104,6, 107,9, 126,8, 127,4, 127,6, 127,9, 128,2, 128,3, 134,3, 136,7, 136,8, 153,1, 160,9, 165,7 LRMS (ES+) calculada para $[C_{25}H_{25}NO_3 + H]$ 387,18 encontrada 388,20.



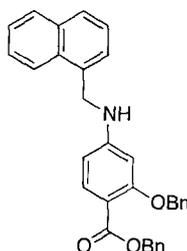
Bencil-2-(benciloxi)-4-((biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-ilmetil)amino)benzoato. Derivado **4** sintetizado mediante biciclo [2.2.1] hept-5-en-2-carbaldehído en una escala de 1,5 mmol mediante el procedimiento general **b** (36 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃) 0,58-0,73 (m, 1H, CH₂), 1,25-1,46 (m, 2H, CH₂), 1,47-1,60 (m, 1H, CH₂), 1,85-2,03 (m, 1H, CH), 2,31 (a, 1H, CH), 2,79 (a, 1H, CH), 2,84-2,98 (m, 2H, CH₂) 4,38 (a, 1H, NH), 5,14 (s, 2H, CH₂), 5,35 (s, 2H, CH₂), 5,94-6,00 (m, 1H, CH), 6,20-6,27 (m, 1H, CH), 6,15 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,19 (dd, *J* = 8,6, 2,0 Hz, 1H, CH), 7,27 - 7,50 (m, 10H, 10 CH), 7,84 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 30,2, 38,4, 42,3, 44,2, 47,4, 49,5, 65,7, 70,3, 96,9, 104,6, 107,6, 126,9, 127,5, 127,6, 127,9, 128,3, 128,4, 131,8, 134,2, 136,1, 136,7, 136,8, 137,8, 153,2, 160,9, 165,8 LRMS (ES⁺) calculada para [C₂₉H₂₉NO₃ + H] 439,21 encontrada 440,21.



10

2-(benciloxi)-4-(4-*tert*-butilbencil)amino)benzoato de bencilo. Derivado **4** sintetizado mediante 4-*tert*-butilbenzaldehído sobre una escala de 0,9 mmol usando el procedimiento general **b** (96 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃) 1,19 (s, 9H, 3 CH₃), 4,13 (s, 2H, CH₂), 4,40 (s a, 1H, NH), 4,92 (s, 2H, CH₂), 5,17 (s, 2H, CH₂), 6,02 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,06 (dd, *J* = 8,6, 2,0 Hz, 1H, CH), 7,08 - 7,32 (m, 14H, 14 CH), 7,71 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 31,0, 34,2, 47,0, 65,5, 70,1, 96,9, 104,6, 107,9, 125,3, 126,7, 126,9, 127,3, 127,4, 127,7, 128,1, 128,2, 134,1, 134,9, 136,5, 136,6, 150,2, 152,8, 160,6, 165,5; LRMS (ES⁺) calculada para [C₃₂H₃₃NO₃ + H] 480,25 encontrada 481,26.

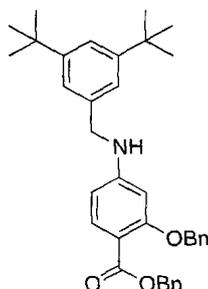
15



20

2-(benciloxi)-4-(naftalen-2-ilmetilamino)benzoato de bencilo. Derivado **4** sintetizado mediante 2-naftaldehído sobre una escala de 0,9 mmol usando el procedimiento general **c** (88 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃) 4,35 (s, 2H, NH₂CH₂), 4,52 (s a, 1H, NH), 4,92 (s, 2H, CH₂), 5,19 (s, 2H, CH₂), 6,70 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,12 (dd, *J* = 8,6, 2,0 Hz, 1H, CH), 7,11 - 7,22 (m, 6H, CH), 7,25 - 7,30 (m, 4H, 4 CH), 7,34 - 7,39 (m, 2H, 2 CH), 7,61 - 7,75 (m, 5H, 5 CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 47,1, 65,2, 69,7, 96,7, 104,4, 107,9, 124,7, 125,2, 125,3, 125,7, 126,2, 126,9, 127,0, 127,1, 127,3, 127,7, 127,8, 127,9, 132,1, 132,7, 133,7, 135,1, 136,1, 152,3, 160,3, 165,1; LRMS (ES⁺) calculada para [C₃₂H₂₇NO₃ + H] 474,21, observada 475,21.

25

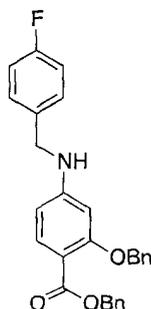


30

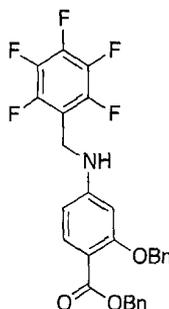
2-(benciloxi)-4-(3,5-di-*tert*-butilbencil)amino)benzoato de bencilo. Derivado **4** sintetizado mediante 3,5-di-*tert*-butilbenzaldehído sobre una escala de 0,9 mmol usando el procedimiento general **b** (60 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃) 1,34 (s, 18H, 6 CH₃), 4,30 (s, 2H, CH₂), 4,40 (s a, 1H, NH), 5,11 (s, 2H, CH₂), 5,32 (s, 2H, CH₂), 6,22 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,26 (dd, *J* = 8,6 y 2,0 Hz, 1H, CH), 7,15 - 7,53 (m, 13H, 13 CH), 7,87 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 31,0, 34,2, 47,0, 65,5, 70,1, 96,9, 104,6, 107,9, 121,8, 122,4, 125,3, 126,7, 126,9, 127,3, 127,4, 127,7, 128,1, 128,2, 134,1, 134,9, 136,5, 136,6, 150,2, 152,8, 160,6, 165,5; LRMS (ES⁺) calculada para [C₃₆H₄₁NO₃ + H]

35

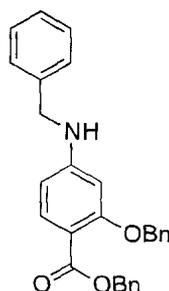
535,31 encontrada 536,30.



- 5 **2-(benziloxi)-4-((4-fluorobencil)amino)benzoato de bencilo.** Derivado **4** sintetizado mediante 4-fluorobenzaldehído sobre una escala de 0,4 mmol usando el procedimiento general **b** (45 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3) 4,30 (s, 2H, CH_2), 4,50 (s a, 1H, NH), 5,07 (s, 2H, CH_2), 5,30 (s, 2H, CH_2), 6,14 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,20 (dd, $J = 8,6$ y $2,0$ Hz, 1H, CH), 6,96-7,08 (m, 2H, CH), 7,22 - 7,40 (m, 10H, 10 CH), 7,40-7,45 (m, 2H, CH), 7,87 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 46,9, 65,7, 70,3, 97,3, 104,8, 115,3, 115,6, 126,7, 127,5, 127,6, 127,8, 128,2, 128,3, 128,7, 128,8, 133,7, 134,2, 136,6, 152,4, 160,7, 160,8, 165,5; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{FNO}_3 + \text{H}]$ 441,17 encontrada 442,20.

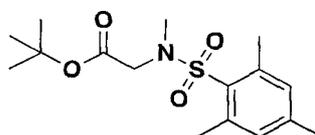


- 15 **2-(benziloxi)-4-(((perfluorfenil)metil)amino)benzoato de bencilo.** Derivado **4** sintetizado mediante 2,3,4,5,6-pentafluorobenzaldehído sobre una escala de 0,4 mmol usando el procedimiento general **b** (36 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3) 4,45 (s, 2H, CH_2), 4,75 (s a, 1H, NH), 5,09 (s, 2H, CH_2), 5,27 (s, 2H, CH_2), 6,21 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,22 (dd, $J = 8,6$, $2,0$ Hz, 1H, CH), 7,21-7,50 (m, 10H, 10 CH), 7,80 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 13,9, 20,8, 35,0, 60,2, 65,8, 70,1, 97,0, 104,7, 109,4, 126,7, 127,5, 127,6, 127,8, 128,2, 128,3, 134,3, 136,4, 136,5, 151,3, 160,7, 165,4, 171,0; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{F}_5\text{NO}_3 + \text{H}]$ 513,14 encontrada 514,20.



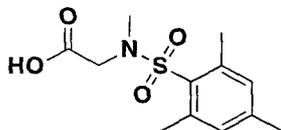
- 25 **4-(benzilamino)-2-(benziloxi)benzoato de bencilo.** Derivado **4** sintetizado mediante benzaldehído sobre una escala de 1,2 mmol mediante el procedimiento general **A** (210 mg, 40 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3) 4,21 (s, 2H, CH_2), 4,95 (s, 2H, CH_2), 5,20 (s, 2H, CH_2), 6,03 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,09 (dd, $J = 8,6$, $2,1$ Hz, 1H, CH), 7,15 - 7,34 (m, 15H, CH), 7,73 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 47,5, 66,7, 70,3, 97,2, 104,8, 108,3, 126,8, 127,2, 127,4, 127,5, 127,6, 127,9, 128,2, 128,3, 128,6, 134,2, 136,6, 136,7, 138,1, 152,8, 160,8, 165,6; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{NO}_3 + \text{H}]$ 424,19 encontrada 425,22.

30



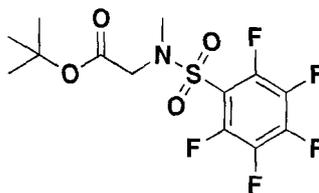
2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetato de *terc*-butilo. Derivado **5** sintetizado usando el procedimiento general **d** (77 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,37 (s, 9H, CH_3) 2,30 (s, 3H, CH_3), 2,61 (s, 6H, CH_3) 2,82 (s, 3H, CH_3), 3,99 (s, 2H, CH_2), 6,95 (s, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 21,0, 22,9, 27,5, 35,1, 51,6, 130,6, 137,4, 141,3, 145,5, 170,2; LRMS (ES+) calculada para $[C_{16}H_{25}NO_4S + H]$ 285,10, observada 286,22.

5



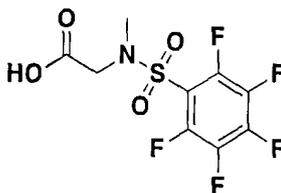
Ácido 2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acético. El derivado **6** se sintetizó mediante el procedimiento general **f** (95 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 2,32 (s, 3H, CH_3), 2,61 (s, 6H, CH_3), 2,82 (s, 3H, CH_3), 3,99 (s, 2H, CH_2), 6,95 (s, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 21,0, 22,9, 35,1, 51,6, 130,6, 137,4, 141,3, 145,5, 170,2; LRMS (ES+) calculada para $[C_{12}H_{17}NO_4S + H]$ 271,09, observada 272,28.

10



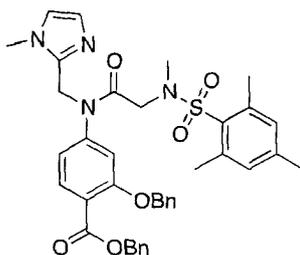
2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acetato de *terc*-butilo. El derivado **5** se sintetizó usando el procedimiento general **d** (90 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,37 (s, 9H, CH_3) 3,03 (s, 3H, CH_3), 4,10 (s, 2H, CH_2); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 27,5, 35,1, 51,6, 82,8, 115,6, 136,5, 144,8, 145,9, 167,0; LRMS (ES+) calculada para $[C_{13}H_{14}F_5NO_4S + H]$ 376,06, observada 377,09.

20



Ácido 2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acético. El derivado **6** se sintetizó usando el procedimiento general **f** (97 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 2,86 (s, 3H, CH_3), 4,10 (s, 2H, CH_2); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 35,5, 51,6, 115,6, 136,5, 144,8, 145,9, 167,0; LRMS (ES+) calculada para $[C_9H_6F_5NO_4S + H]$ 320,00, observada 321,05.

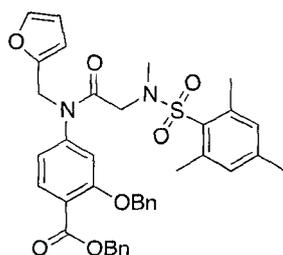
25



Ejemplo de referencia 1

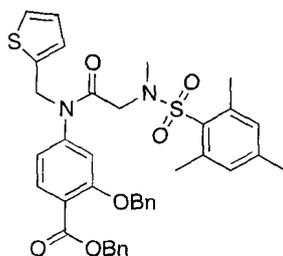
Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-((1-metil-1H-imidazol-2-il)metil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato. La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de mesitilo de **6** en una escala de 0,16 mmol mediante el procedimiento general **g** (60 %): δ_H (400 MHz, $d-CDCl_3$) 2,32 (s, 3H, CH_3), 2,62, (s, 6H, $2CH_3$), 2,90 (s, 3H, CH_3), 3,39 (d, $J = 3,1$ Hz, 3H, CH_3) 3,44- 3,59 (m, 2H, CH_2), 3,92, (s, 2H, CH_2), 5,18 (s, 2H, CH_2), 5,33 (s, 2H, CH_2), 6,93 (dd, $J = 8,6$ y $2,1$ Hz, 1H, CH), 7,00 (s, 2H, CH), 7,27 - 7,55 (m, 11H, CH), 7,68 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 7,89 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, $d-CDCl_3$) 21,6, 22,5, 33,4, 35,6, 48,1,49,3, 65,6, 70,7, 104,5, 113,8, 116,2, 120,2, 126,8, 127,1, 127,6, 128,8, 130,4, 131,1, 136,3, 136,7, 137,2, 141,3, 145,2, 147,0, 152,3, 161,3, 166,5, 168,3; LRMS (ES+) calc para $[C_{38}H_{40}N_4O_6S + H]$ 680,27 encontrado 681,28.

35



Ejemplo de referencia 2

- 5 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(furan-2-ilmetil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló con el derivado de mesitilo **6** en una escala de 1,0 mmol mediante el procedimiento general **g** (30 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3) 2,27 (s, 3H, CH_3), 2,54 (s, 6H, 2 CH_3), 2,77 (s, 3H, CH_3), 3,67 (s, 2H, CH_2), 4,77 (s, 2H, CH_2), 5,06 (s, 2H, CH_2), 5,36 (s, 2H, CH_2), 6,08 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,25 (dd, $J = 8,6$ y 2,1 Hz, 1H, CH), 6,60 (m, 2H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 7,27 - 7,49 (m, 11H, CH), 7,84 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 20,8, 22,7, 34,6, 66,9, 70,7, 109,4, 110,4, 113,6, 119,8, 126,9, 128,0, 128,1, 128,1, 128,4, 128,5, 131,7, 133,1, 135,6, 135,7, 140,4, 142,1, 142,4, 149,7, 158,8, 165,2, 166,7; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{38}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_7\text{S} + \text{H}]$ 666,24, observada 667,24.

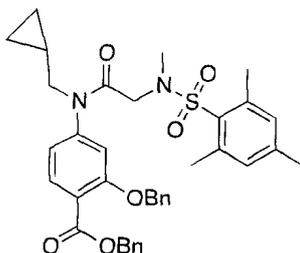


15

Ejemplo de referencia 3

- 20 **2-(benciloxi)-4-(2-(N-2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)-N-(tiofen-2-ilmetil)acetamido)benzoato de bencilo.** La anilina secundaria **4** se acopló con el derivado de mesitilo **6** en una escala de 0,9 mmol mediante el procedimiento general **g** (24 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3) 2,28 (s, 3H, CH_3), 2,56 (s, 6H, 2 CH_3), 2,78 (s, 3H, CH_3), 3,67 (s, 2H, CH_2), 4,90 (s, 2H, CH_2), 5,03 (s, 2H, CH_2), 5,36 (s, 2H, CH_2), 6,50-6,63 (m, 2H, 2CH), 6,72 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H, CH), 6,86 (m, 1H, CH), 6,91 (s, 2H, CH), 7,21 (d, 1H, CH), 7,29 - 7,43 (m, 10H, CH), 7,84 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 20,8, 22,7, 29,6, 34,6, 47,5, 49,4, 66,9, 70,7, 113,7, 119,8, 121,0, 125,0, 126,4, 126,9, 127,7, 128,1, 128,4, 128,6, 131,8, 133,2, 135,6, 138,6, 140,5, 142,4, 144,5, 158,8, 165,2, 166,6; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{38}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2 + \text{H}]$ 682,22, observada 683,18.

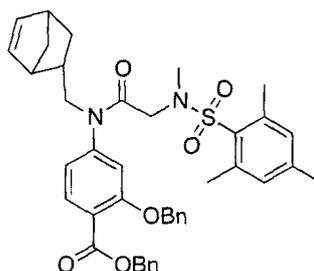
25



Ejemplo de referencia 4

- 30 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(ciclopropilmetil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de mesitilo **6** en una escala de 0,8 mmol mediante el procedimiento general **g** (34 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3): 0,035 (dd, $J = 5,1$ y 10,0 Hz, 2H, CH_2), 0,33 (dd, $J = 5,3$ y 12,9 Hz, 2H, CH_2), 1,05 (a, 1H, CH), (2,27 (s, 1H, CH_3), 2,56 (s, 6H, CH_3), 2,77 (s, 3H, CH_3), 3,47 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, CH_2), 3,67 (s, 2H, CH_2), 5,18 (s, 2H, CH_2), 5,38 (s, 2H, CH_2), 6,77 (dd, $J = 1,6$ y 8,0 Hz, 1H, CH), 6,81 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 7,25 - 7,46 (m, 10H), 7,89 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 3,6, 9,6, 14,1, 22,7, 34,6, 53,5, 60,2, 66,9, 70,7, 114,1, 120,1, 120,7, 126,9, 127,9, 128,1, 128,1, 128,4, 128,5, 131,7, 133,1, 135,7, 140,5, 142,2, 145,4, 158,8, 165,2, 166,4 LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}]$ 640,26, observada 641,24.

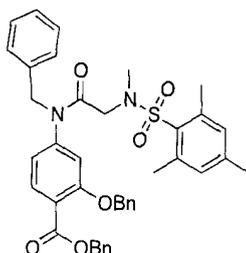
35



Ejemplo de referencia 5

- 5 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-ilmetil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria 4 se acopló al derivado de mesitilo 6 en una escala de 0,4 mmol mediante el procedimiento general g (25 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 0,40 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H, CH), 0,78 - 0,94 (m, 1H, CH), 1,05 - 1,13 (m, 1H, CH_2), 1,22 - 1,44 (m, 4H, CH) 11,56 - 1,64 (m, 1H, CH), 2,05 - 2,13 (m, 1H, CH), 2,27 (s, 3H, CH_3), 2,57 (s, 6H, CH_3), 2,78 (s, 3H, CH_3), 3,68 (s, 2H, CH_2), 5,19 (d, $J = 11,2$ Hz, 2H, CH), 5,38 (d, $J = 4,3$ Hz, 2H, CH), 5,69 (dd, $J = 2,5$ y 5,4 Hz, 1H, CH), 6,07 (dd, $J = 3,2$, 5,7 Hz, 1H, CH), 6,68-6,78 (m, 2H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 7,25-7,45 (m, 10H, CH), 7,90 (d, $J = 8,1$ Hz, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$) 30,3, 31,0, 38,4, 38,7, 41,6, 42,3, 44,1,44,3, 45,1,47,4, 48,7, 49,5, 65,7, 70,3, 96,9, 104,6, 104,6, 107,6, 126,9, 127,5, 127,6, 127,9, 128,3, 128,4, 131,8, 134,2, 134,3, 136,2, 136,8, 136,9, 137,8, 153,3, 160,9, 165,8. LRMS (ES+) calculada para $[C_{41}H_{44}N_2O_6S]$ 692,29, observada 693,30.

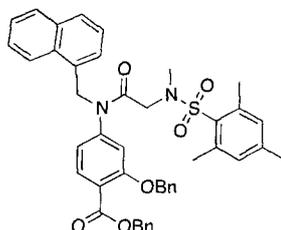
15



Ejemplo de referencia 6

- 20 **Bencil-4-(N-bencil-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)-2-(benciloxi)benzoato.** La anilina secundaria 4 se acopló con el derivado de mesitilo 6 en una escala de 0,39 mmol mediante el procedimiento general g (20 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$): 2,28 (s, 3H, CH_3), 2,55 (s, 6H, 2 CH_3), 2,79 (s, 3H, CH_3), 3,68 (s, 2H, CH_2), 4,79 (s, 2H, CH_2), 4,95 (s, 2H, CH_2), 5,34 (s, 2H, CH_2), 6,47 (s, 1H, CH), 6,51 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 7,04 - 7,09 (m, 2H, CH), 7,23 - 7,27 (m, 4H, CH), 7,29 - 7,36 (m, 8H, CH), 7,37-7,42 (m, 2H, CH), 7,79 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$) 20,8, 22,7, 34,7, 49,5, 52,9, 66,9, 70,6, 126,9, 127,6, 127,9, 128,1, 128,1, 128,4, 128,5, 128,7, 131,8, 133,1, 135,6, 136,5, 140,5, 142,4, 158,7, 165,2, 166,8. LRMS (ES+) calculada para $[C_{40}H_{40}N_2O_6S]$ 676,26, observada 677,28.

25

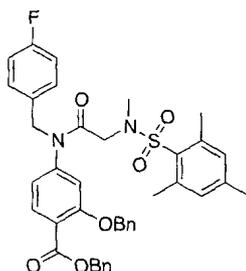


30

Ejemplo de referencia 7

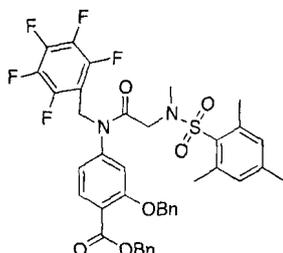
- 35 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(naftalen-1-ilmetil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria 4 se acopló con el derivado de mesitilo 6 en una escala de 0,39 mmol mediante el procedimiento general g (20 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$): 2,28 (s, 3H, CH_3), 2,55 (s, 6H, 2 CH_3), 2,79 (s, 3H, CH_3), 3,68 (s, 2H, CH_2), 4,79 (s, 2H, CH_2), 4,95 (s, 2H, CH_2), 5,34 (s, 2H, CH_2), 6,47 (s, 1H, CH), 6,51 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 7,04-7,09 (m, 2H, CH), 7,23 - 7,27 (m, 4H, CH), 7,29 - 7,36 (m, 8H, CH), 7,37 -7,42 (m, 2H, CH), 7,79 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$) 20,8, 22,7, 34,7, 49,5, 52,9, 66,9, 70,6, 126,9, 127,6, 127,9, 128,1, 128,1, 128,4, 128,5, 128,7, 131,8, 133,1, 135,6, 136,5, 140,5, 142,4, 158,7, 165,2, 166,8. LRMS (ES+) calculada para $[C_{40}H_{40}N_2O_6S]$ 726,28, observada 727,28.

40



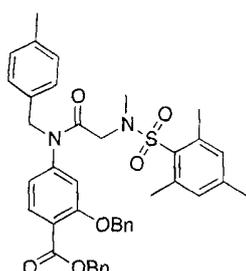
Ejemplo de referencia 8

- 5 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(4-fluorobencil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló con el derivado de mesitilo **6** en una escala de 0,39 mmol mediante el procedimiento general **g** (39 %): 2,27 (s, 1H, CH₃), 2,54 (s, 6H, CH₃), 2,77 (s, 3H, CH₃), 3,68 (s, 2H, CH₂), 3,73 (s, 2H, CH₂), 5,01 (s, 2H, CH₂), 5,35 (s, 2H, CH₂), 6,37 - 6,64 (m, 2H, CH), 6,87-6,99 (m, 4H, CH), 6,98-7,10 (m, 2H, CH), 7,27 - 7,46 (m, 10H, CH), 7,82 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d-CDCl₃) 20,8, 22,6, 34,7, 49,5, 52,1, 66,9, 70,6, 113,7, 115,1, 115,3, 119,8, 126,8, 127,9, 128,1, 128,4, 128,5, 130,5, 131,7, 132,3, 133,1, 135,5, 140,4, 142,4, 144,6, 158,7, 165,1, 166,8; LRMS (ES⁺) calculada para [C₄₀H₃₉FN₂O₆S] 694,25, observada 695,25.



15 Ejemplo de referencia 9

- Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(perfluorofenil)metil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló con el derivado de mesitilo **6** en una escala de 0,27 mmol mediante el procedimiento general **g** (58 %): 2,28 (s, 1H, CH₃), 2,53 (s, 6H, CH₃), 2,77 (s, 3H, CH₃), 3,66 (s, 2H, CH₂), 4,97 (s, 2H, CH₂), 5,12 (s, 2H, CH₂), 5,36 (s, 2H, CH₂), 6,57 (dd, *J* = 8,6 y 2,1 Hz, 1H, CH), 6,67 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 7,27-7,46 (m, 10H, CH), 7,83 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d-CDCl₃) 14,0, 20,7, 22,6, 34,7, 39,9, 49,3, 67,0, 70,8, 113,3, 119,4, 121,4, 126,7, 128,0, 128,1, 128,4, 128,5, 131,7, 133,3, 135,4, 135,5, 140,4, 142,5, 143,5, 158,9, 164,9, 166,7; LRMS (ES⁺) calculada para [C₄₀H₃₅F₅N₂O₆S] 766,21, observada 767,25.

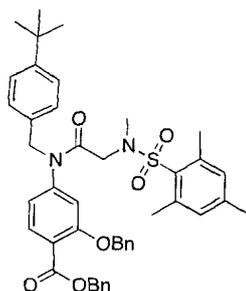


25

Ejemplo de referencia 10

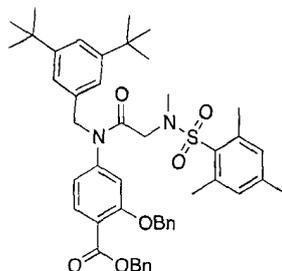
- 30 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(4-metilbencil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló con el derivado de mesitilo **6** en una escala de 0,39 mmol mediante el procedimiento general **g** (28 %): δ_H (400 MHz, d-CDCl₃): 2,28 (s, 3H, CH₃), 2,31 (s, 3H, CH₃), 2,55 (s, 6H, 2 CH₃), 2,79 (s, 3H, CH₃), 3,66 (s, 2H, CH₂), 4,73 (s, 2H, CH₂), 4,96 (s, 2H, CH₂), 5,34 (s, 2H, CH₂), 6,38 - 6,57 (m, 2H, 2CH), 6,89 - 6,98 (m, 4H, CH), 7,04 (s, 2H, CH), 7,29 - 7,43 (m, 10H, 10 CH), 7,78 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d-CDCl₃) 20,8, 20,9, 22,6, 34,6, 49,5, 52,5, 66,8, 70,6, 126,8, 127,9, 128,0, 128,1, 128,4, 128,5, 128,7, 129,0, 131,7, 133,0, 133,5, 135,6, 137,2, 140,4, 142,3, 158,6, 165,1, 166,6. LRMS (ES⁺) calculada para [C₄₁H₄₂N₂O₆S] 690,28, observada 691,28.

35



Ejemplo de referencia 11

- 5 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(4-(*tert*-butil)bencil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló con el derivado de mesitilo **6** en una escala de 0,39 mmol mediante el procedimiento general **g** (37 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3): 1,28 (s, 9H, C(CH₃)), 2,28 (s, 3H, CH₃), 2,55 (s, 6H, 2 CH₃), 2,78 (s, 3H, CH₃), 3,67 (s, 2H, CH₂), 4,75 (s, 2H, CH₂), 4,91 (s, 2H, CH₂), 5,34 (s, 2H, CH₂), 6,44 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,55 (dd, $J = 2,0$ y 8,6 Hz, 1H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 7,01 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, CH) 7,27 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, CH), 7,29-7,48 (m, 10H, 10 CH), 7,80 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 20,8, 22,6, 31,1, 34,3, 34,6, 49,5, 52,5, 66,8, 70,5, 125,2, 126,9, 127,9, 128,0, 128,1, 128,4, 128,5, 131,7, 133,0, 133,5, 135,6, 140,5, 142,3, 150,6, 158,6, 165,2, 166,6; LRMS (ES+) calculada para [C₄₄H₄₈N₂O₆S] 732,32, observada 733,36.

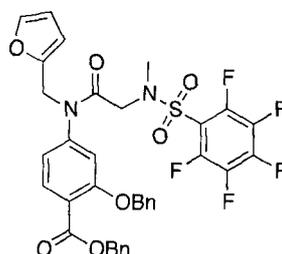


15

Ejemplo de referencia 12

- 20 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(3,5-(*di-tert*-butil)bencil)-2-(N,2,4,6-tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de mesitilo **6** en una escala de 0,20 mmol mediante el procedimiento general **g** (38 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3): 1,24 (s, 18H, 6CH₃), 2,04 (s, 3H, CH₃), 2,56 (s, 6H, 2 CH₃), 2,76 (s, 3H, CH₃), 3,70 (s, 2H, CH₂), 4,80 (s, 2H, CH₂), 4,85 (s, 2H, CH₂), 5,34 (s, 2H, CH₂), 6,42 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,56 (dd, $J = 2,0$, 8,6 Hz, 1H, CH), 6,88 - 6,99 (m, 4H, CH) y 2CH), 7,27-7,44 (m, 11H, CH), 7,80 (d, $J = 8,31$ Hz, 2H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 20,7, 22,6, 31,2, 34,4, 34,6, 49,5, 53,3, 66,8, 70,5, 121,2, 123,0, 126,8, 127,9, 128,0, 128,3, 128,4, 131,7, 132,9, 135,5, 135,6, 140,5, 142,3, 150,9, 158,6, 165,1, 166,4; LRMS (ES+) calculada para [C₄₈H₅₆N₂O₆S] 788,39, observada 789,41.

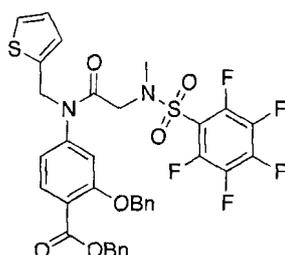
25



Ejemplo de referencia 13

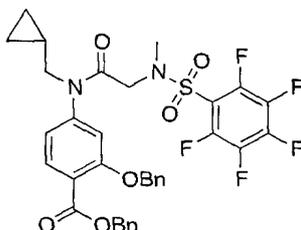
- 30 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(furan-2-ilmetil)-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de pentafluoro **6** en una escala de 0,4 mmol mediante el procedimiento general **g** (31 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3) 3,05 (s, 3H, CH₃), 3,84 (s, 2H, CH₂), 4,68 (s, 2H, CH₂), 5,08 (s, 2H, CH₂), 5,36 (s, 2H, CH₂), 6,02 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H, CH), 6,25 (m, 1H, CH), 6,58 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,67 (dd, $J = 8,6$, 2,1 Hz, 1H, CH), 7,26 - 7,53 (m, 11H, CH), 7,85 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 35,9, 51,6, 66,9, 70,6, 109,5, 110,3, 113,5, 119,6, 126,9, 128,0, 128,1, 128,4, 128,5, 133,2, 135,5, 142,4, 149,0, 158,7, 165,1; LRMS (ES+) calculada para [C₃₅H₂₇F₅N₂O₇S + H] 714,15, observada 715,16.

35



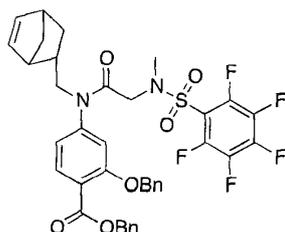
Ejemplo de referencia 14

- 5 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(2-(N-2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)-N-(tiofen-2-ilmetil)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de pentafluoro **6** en una escala de 0,3 mmol mediante el procedimiento general **g** (68 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3); 3,06 (s, 3H, CH_3), 3,87 (s, 2H, CH_2), 4,86 (s, 2H, CH_2), 5,07 (s, 2H, CH_2), 5,37 (s, 2H, CH_2), 6,60 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH), 6,68 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, CH), 6,70 (dd, $J = 8,6, 2,1$ Hz, 1H, CH), 6,88 (m, 1H, CH), 7,25 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, CH), 7,29 - 7,46 (m, 10H, CH), 7,88 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 14,0, 20,8, 24,5, 35,8, 36,4, 47,4, 51,6, 60,2, 66,9, 70,6, 113,6, 119,7, 121,3, 126,1, 126,4, 126,9, 127,7, 128,0, 128,1, 128,4, 128,5, 133,2, 135,5, 137,9, 143,7, 158,7, 165,1, 165,7; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{35}\text{H}_{27}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_6\text{S} + \text{H}]$ 730,12, observada 731,12.



- 15 **Ejemplo de referencia 15**

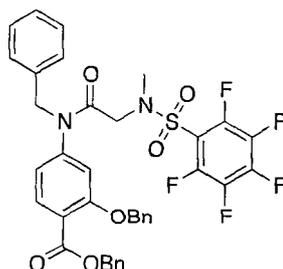
- 20 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(ciclopropilmetil)-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de pentafluoro **6** en una escala de 0,5 mmol mediante el procedimiento general **g** (93 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3); 0,01 (dd, $J = 5,1$ y 10,0 Hz, 2H, CH_2), 0,36 (dd, $J = 5,3$ y 12,9 Hz, 2H, CH_2), 0,73 (a, 1H, CH), 3,04 (s, 3H, CH_3), 3,38 (d, $J = 7,19$ Hz, 2H, CH_2), 3,86 (s, 2H, CH_2), 5,22 (s, 2H, CH_2), 5,38 (s, 2H, CH_2), 6,84 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, CH), 6,85 (dd, $J = 1,6$ y 8,0 Hz, 1H, CH), 7,28 - 7,47 (m, 10H, CH), 7,91 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 3,4, 9,3, 14,0, 35,9, 51,7, 53,6, 66,9, 70,7, 113,9, 119,9, 126,9, 127,9, 128,1, 128,4, 128,5, 133,2, 135,5, 135,6, 144,7, 158,7, 165,1, 165,6; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_6\text{S}]$ 688,17, observada 689,19.



Ejemplo de referencia 16

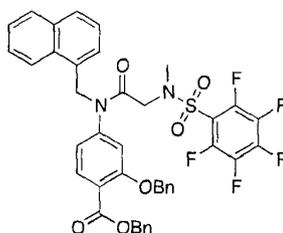
- 30 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-ilmetil)-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de pentafluoro **6** en una escala de 0,3 mmol mediante el procedimiento general **g** (84 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3) 0,40 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H, CH_2), 0,78 - 0,94 (m, 1H, CH), 1,05 - 1,13 (m, 1H, CH_2), 1,22 - 1,44 (m, 4H, CH) 11,56 - 1,64 (m, 1H, CH), 2,05 - 2,13 (m, 1H, CH), 2,78 (s, 3H, CH_3), 3,68 (s, 2H, CH_2), 5,19 (s, 2H, CH), 5,38 (s, 2H, CH), 5,69 (dd, $J = 2,5$ y 5,4 Hz, 1H, CH), 6,07 (J = 3,2, 5,7 Hz, 1H, CH), 6,68 - 6,78 (m, 2H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 7,25 - 7,45 (m, 10H, CH), 7,90 (d, $J = 8,1$ Hz, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 29,8, 35,9, 37,0, 41,7, 42,0, 44,2, 45,0, 49,3, 51,9, 53,4, 66,9, 70,7, 113,6, 119,4, 126,8, 126,9, 128,0, 128,1, 128,4, 128,6, 131,8, 133,2, 135,6, 137,4, 144,8, 158,7, 165,1, 165,6; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{38}\text{H}_{33}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_6\text{S}]$ 740,20, observada 741,21.

40



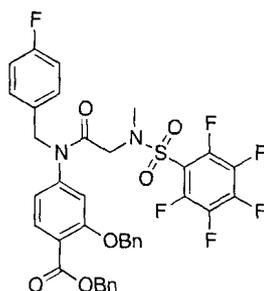
Ejemplo de referencia 17

- 5 **Bencil-4-(N-bencil-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acetamido)-2-(benciloxi)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de pentafluoro **6** en una escala de 0,5 mmol mediante el procedimiento general **g** (64 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3): 3,05 (s, 3H, CH_3), 3,87 (s, 2H, CH_2), 4,71 (s, 2H, CH_2), 4,99 (s, 2H, CH_2), 5,35 (s, 2H, CH_2), 6,49 (s, 1H, CH), 6,63 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH), 7,03 (m, 2H, CH), 7,19-7,44 (m, 12H, CH) 7,83 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 35,8, 51,8, 52,9, 66,9, 70,6, 113,8, 119,8, 121,2, 126,9, 127,8, 128,0, 128,1, 128,3, 128,4, 128,5, 128,6, 133,2, 135,5, 135,9, 144,0, 158,6, 165,1, 165,8; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{37}\text{H}_{29}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_6\text{S}]$ 724,17, observada 725,17.



15 Ejemplo de referencia 18

- 20 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(naftalen-1-ilmetil)-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de pentafluoro **6** en una escala de 0,5 mmol mediante el procedimiento general **g** (83 %): δ_{H} (400 MHz, d- CDCl_3): 3,06 (s, 3H, CH_3), 3,90 (s, 2H, CH_2), 4,87 (s, 2H, CH_2), 4,88 (s, 2H, CH_2), 5,33 (s, 2H, CH_2), 6,48 (s, 1H, CH), 6,63 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH), 7,14 - 7,53 (m, 14H, CH) 7,67 - 7,88 (m, 3H, CH) δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 35,8, 51,9, 53,0, 66,9, 70,6, 113,8, 119,8, 126,1, 126,2, 126,8, 127,5, 127,6, 127,8, 127,9, 128,1, 128,4, 132,7, 132,9, 133,2, 133,3, 135,4, 135,5, 158,7, 165,0, 166,0; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{41}\text{H}_{31}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_6\text{S}]$ 774,18, encontrado 775,19

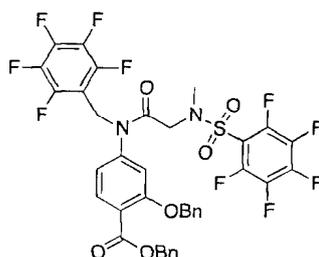


25

Ejemplo de referencia 19

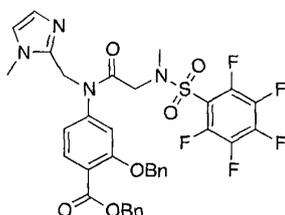
- 30 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(4-fluorobencil)-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-fenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria **4** se acopló al derivado de pentafluoro **6** en una escala de 0,2 mmol mediante el procedimiento general **g** (73 %): 3,05 (s, 3H, CH_3), 3,88 (s, 2H, CH_2), 4,67 (s, 2H, CH_2), 5,05 (s, 2H, CH_2), 5,36 (s, 2H, CH_2), 6,53 (s, 2H, CH), 6,61 (dd, $J = 2,05, 8,63$ Hz, 2H, CH), 6,87-7,04 (m, 4H, CH), 7,28 - 7,48 (m, 10H, CH), 7,84 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d- CDCl_3) 35,8, 50,8, 51,8, 52,2, 67,0, 70,6, 113,7, 115,2, 115,4, 119,8, 121,3, 126,8, 128,0, 128,1, 128,4, 128,5, 130,3, 130,4, 131,7, 133,2, 135,4, 135,5, 143,8, 158,7, 161,0, 163,4, 165,0, 165,9; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{37}\text{H}_{29}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_6\text{S}]$ 742,16, observada 743,16.

35



Ejemplo de referencia 20

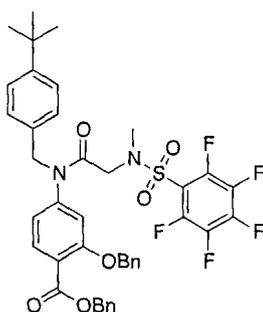
- 5 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)-N-((perfluorofenil)metil)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria 4 se acopló al derivado de pentafluoro 6 en una escala de 0,1 mmol mediante el procedimiento general g (74 %): 3,04 (s, 3H, CH₃), 3,85 (s, 2H, CH₂), 4,88 (s, 2H, CH₂), 5,15 (s, 2H, CH₂), 5,36 (s, 2H, CH₂), 6,65 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,69 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Hz, 1H, CH), 7,28-7,50 (m, 10H, CH), 7,87 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 35,3, 35,6, 48,3, 65,6, 70,9, 104,6, 112,2, 113,9, 115,4, 116,7, 127,1, 128,9, 131,3, 136,1, 136,2, 137,8, 141,4, 144,7, 147,3, 161,2, 166,8, 168,4; LRMS (ES⁺) calculada para [C₃₇H₂₄F₁₀N₂O₆S] 814,12, observada 815,14.



15 Ejemplo de referencia 21

- 20 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-((1-metil-1H-imidazol-2-il)metil)-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria 4 se acopló al derivado de pentafluoro 6 en una escala de 0,2 mmol mediante el procedimiento general g (72 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃) 2,28 (s, 3H, CH₃), 3,80 (d, *J* = 3,1 Hz, 3H, CH₃), 3,20 (s, 2H, CH₂), 4,22 (s, 2H, CH₂), 4,51 (s, 2H, CH₂), 4,76 (s, 2H, CH₂), 6,26 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Hz, 1H, CH), 6,29 (s, 2H, CH), 6,78 - 6,99 (m, 10H, CH), 6,35 (s, 1H, CH), 6,41 (s, 1H, CH), 7,68 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 7,44 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 33,4, 35,6, 48,1, 49,3, 65,6, 70,7, 104,5, 112,3, 113,8, 116,2, 120,2, 126,8, 127,1, 127,6, 128,8, 130,4, 131,1, 136,3, 136,7, 137,2, 144,9, 147,0, 152,3, 161,3, 166,5, 168,3; LRMS (ES⁺) calc. para [C₃₅H₂₉F₅N₄O₆S + H] 728,17 encontrado 729,18.

25



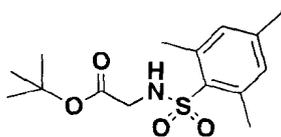
Ejemplo de referencia 22

- 30 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(N-(4-(terc-butil)bencil)-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenilsulfonamido)acetamido)benzoato.** La anilina secundaria 4 se acopló al derivado de pentafluoro 6 en una escala de 0,4 mmol mediante el procedimiento general g (98 %): δ_H (400 MHz, *d*-CDCl₃): 1,29 (s, 9H, C(CH₃)), 3,04 (s, 3H, CH₃), 3,85 (s, 2H, CH₂), 4,67 (s, 2H, CH₂), 4,94 (s, 2H, CH₂), 5,34 (s, 2H, CH₂), 6,46 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH), 6,65 (dd, *J* = 2,0, 8,6 Hz, 1H, CH), 6,96 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, CH), 7,27-7,42 (m, 12H, CH), 7,83 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, CH); δ_C (100 MHz, *d*-CDCl₃) 31,1, 34,3, 35,8, 51,8, 52,6, 66,9, 70,6, 113,8, 119,8, 125,3, 126,9, 128,0, 128,1, 128,4, 128,5, 132,9, 133,2, 135,4, 135,5, 150,8, 158,6, 165,1; LRMS (ES⁺) calculada para [C₄₁H₃₇F₅N₂O₆S] 780,23, observada 781,23.

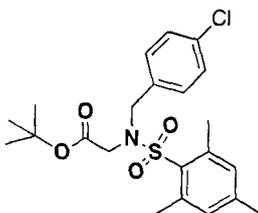
35

Síntesis de los inhibidores tetrapodales (13a-d)

40

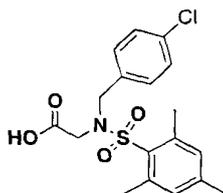


5 **(Mesitilsulfonyl)glicinato de *terc*-butilo.** Derivado **9** sintetizado usando el procedimiento general **d** (71 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,36 (s, 9H, $(CH_3)_3$), 2,29 (s, 3H, CH_3), 2,65 (s, 6H, CH_3), 3,60 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H, CH_2), 5,08 (t, $J = 5,13$ Hz, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 20,8, 23,0, 27,7, 46,5, 81,9, 130,0, 137,4, 140,1, 145,0, 167,5; LRMS (ES+) calculada para $[C_{15}H_{23}NO_4S + H]$ 313,13, observada 314,11.

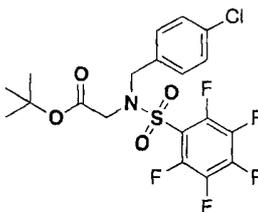


10 **N-(4-clorobencil)-N-(mesitilsulfonyl)glicinato de *terc*-butilo.** Derivado **10** sintetizado usando el procedimiento general **e** (77 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,34 (s, 9H, $(CH_3)_3$), 2,29 (s, 3H, CH_3), 2,63 (s, 6H, CH_3), 3,70 (s, 2H, CH_2), 4,49 (s, 2H, CH_2) 6,95 (s, 2H, CH), 7,08 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, CH), 7,25 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 20,8, 23,0, 27,7, 46,5, 51,8, 81,9, 128,6, 130,0, 132,3, 134,6, 137,4, 140,1, 145,0, 167,5; LRMS (ES+) calculada para $[C_{22}H_{28}ClNO_4S + H]$ 437,14, observada 438,10.

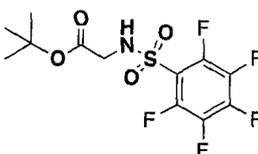
15



20 **N-(4-clorobencil)-N-(mesitilsulfonyl)glicina.** Derivado **11** sintetizado usando el procedimiento general **f** (90 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 2,29 (s, 3H, CH_3), 2,63 (s, 6H, CH_3), 3,70 (s, 2H, CH_2), 4,49 (s, 2H, CH_2) 6,95 (s, 2H, CH), 7,08 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, CH), 7,25 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 20,8, 23,0, 46,5, 51,8, 128,6, 130,0, 132,3, 134,6, 137,4, 140,1, 145,0, 167,5; LRMS (ES+) calculada para $[C_{18}H_{20}ClNO_4S + H]$ 381,08, observada 382,07.

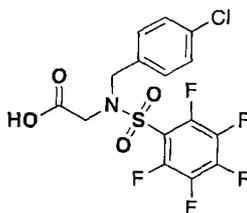


25 **((Perfluorofenil)sulfonyl)glicinato de *terc*-butilo.** Derivado **9** sintetizado usando el procedimiento general **d** (71 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,40 (s, 9H, $COO(CH_3)_3$), 3,93 (s, 2H, CH_2), 5,54 (s, 1H, NH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 27,5, 45,1, 82,8, 115,6, 136,5, 144,8, 145,9, 167,0; LRMS (ES+) calculada para $[C_{12}H_{12}F_5NO_4S + H]$ 361,04, observada 362,09.

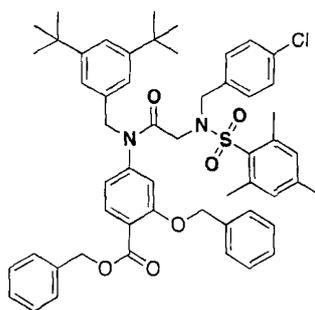


30

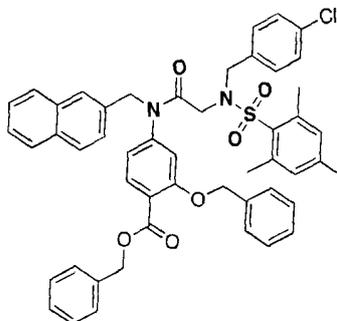
35 **N-(4-clorobencil)-N-((perfluorofenil)sulfonyl)glicinato de *terc*-butilo.** Derivado **10** sintetizado usando el procedimiento general **e** (71 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,37 (s, 9H, $(CH_3)_3$), 3,93 (s, 2H, CH_2), 4,57 (s, 2H, CH_2), 7,24 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH), 7,33 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 27,5, 52,5, 53,0, 81,8, 112,6, 126,5, 130,1, 132,4, 134,3, 136,5, 144,8, 145,9, 167,0; LRMS (ES+) calculado para $[C_{19}H_{17}F_5ClNO_4S + H]$ 485,05, observada 486,10.



- 5 **N-(4-clorobencil)-N-((perfluorofenil)sulfonyl)glicina.** Derivado **11** sintetizado usando el procedimiento general f (92 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 4,13 (s, 2H, CH_2), 4,58 (s, 2H, CH_2), 7,25 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, CH), 7,35 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 52,8, 54,2, 112,6, 126,5, 130,1, 132,4, 134,3, 136,5, 144,8, 145,9, 172,0; LRMS (ES+) calculado para $[C_{15}H_9F_5ClNO_4S + H]$ 428,99, observada 429,99.

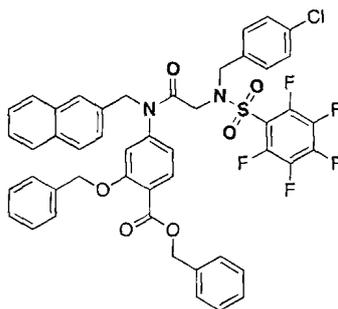


- 10 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,4,6-trimetilfenilsulfonamido)-N-(3,5-di-terc-butil-bencil)acetamido)benzoato.** Derivado **12** sintetizado usando el procedimiento general g (55 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,26 (s, 18H, $(CH_3)_3$), 2,31 (s, 3H, CH_3), 2,60 (s, 6H, CH_3), 3,58 (s, 2H, CH_2), 4,56 (s, 2H, CH_2), 4,75 (s, 4H, CH_2), 5,32 (s, 2H, CH_2), 6,24 (s, 2H, CH), 6,93 (s, 2H, CH), 6,96 (s, 2H, CH), 7,03 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, CH), 7,14 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, CH), 6,93 (s, 2H, CH), 7,29-7,38 (m, 10H, CH), 7,70 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 20,8, 22,8, 31,4, 34,6, 45,7, 49,5, 53,3, 66,9, 70,5, 113,5, 120,0, 121,3, 123,4, 127,0, 127,9, 128,0, 128,3, 128,4, 128,5, 130,3, 131,9, 132,6, 133,7, 135,4, 135,5, 140,3, 142,5, 150,9, 158,5, 165,2, 166,2; LRMS (ES+) calculada para $[C_{54}H_{59}ClN_2O_6S + H]$ 898,38, observada 899,39.

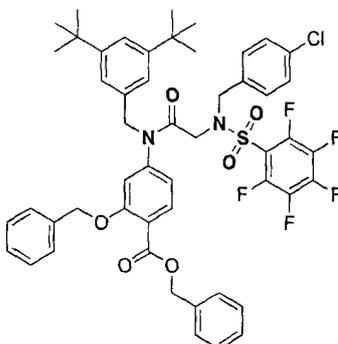


- 20 **2-(benciloxi)-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,4,6-trimetilfenilsulfonamido)-N-(naftalen-2-il-metil)acetamido)benzoato de bencilo.** Derivado **12** sintetizado usando el procedimiento general g (72 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 2,27 (s, 3H, CH_3), 2,59 (s, 6H, CH_3), 3,58 (s, 2H, CH_2), 4,62 (s, 2H, CH_2), 4,71 (s, 2H, CH_2), 4,86 (s, 2H, CH_2), 5,30 (s, 2H, CH_2), 6,21 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, CH), 6,27 (s, 1H, CH), 6,94 (s, 2H, CH), 7,07 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH), 7,16 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH), 7,19 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, CH), 7,22-7,27 (m, 2H, CH), 7,28-7,38 (m, 5H, CH), 7,42-7,53 (m, 4H, CH), 7,62-7,78 (m, 4H, CH), 7,82 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 20,8, 22,8, 45,6, 49,9, 52,9, 66,9, 70,5, 126,0, 126,2, 126,8, 127,5, 127,6, 127,8, 128,0, 128,1, 128,2, 128,3, 128,4, 128,6, 130,1, 131,8, 132,5, 132,6, 132,9, 133,6, 133,8, 135,3, 135,5, 140,3, 142,5, 158,6, 165,1, 166,6; LRMS (ES+) calculada para $[C_{50}H_{45}ClN_2O_6S + H]$ 836,27, observada 837,28.

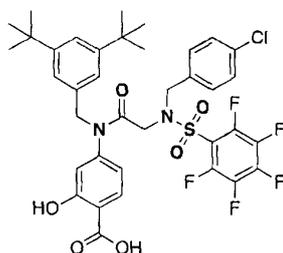
30



- 5 **2-(benciloxi)-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(naftalen-2-ilmetil)acetamido)benzoato de bencilo.** Derivado 12 sintetizado usando el procedimiento general g (61 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 3,77 (s, 2H, CH_2), 4,67 (s, 2H, CH_2), 4,73 (s, 2H, CH_2), 4,83 (s, 2H, CH_2), 5,29 (s, 2H, CH_2), 6,31 (d, 1H, CH), 6,39 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, CH), 7,13-7,23 (m, 5H, CH), 7,23-7,29 (m, 5H, CH), 7,29-7,36 (m, 5H, CH), 7,41 (s, 1H, CH), 7,45-7,54 (m, 2H, CH), 7,64-7,75 (m, 2H, CH), 7,78 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH), 7,81-7,89 (m, 1H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 47,5, 50,5, 53,0, 66,9, 70,6, 113,2, 119,5, 121,3, 126,1, 126,3, 126,9, 127,5, 127,9, 128,1, 128,3, 128,4, 128,9, 129,9, 132,7, 132,9, 133,1, 133,2, 134,3, 135,2, 135,4, 143,7, 158,7, 165,0, 165,8; LRMS (ES+) calculada para $[C_{47}H_{34}ClF_5N_2O_6S + H]$ 884,17, observada 885,19.

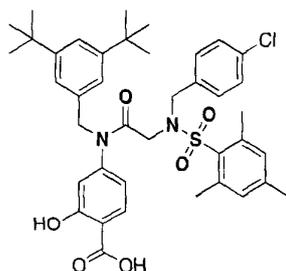


- 15 **Bencil-2-(benciloxi)-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(3,5-di-terc-butilbencil)acetamido)benzoato.** Derivado 12 sintetizado usando el procedimiento general g (61 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,25 (s, 18H, $(CH_3)_3$), 3,75 (s, 2H, CH_2), 4,63 (s, 2H, CH_2), 4,70 (s, 2H, CH_2), 4,76 (s, 2H, CH_2), 5,30 (s, 2H, CH_2), 6,25 (s, 1H, CH), 6,33 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, CH), 6,85 (s, 2H, CH), 7,17 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH), 7,25 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH), 7,28-7,37 (m, 12H, CH), 7,78 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 31,1, 34,5, 47,6, 50,3, 53,3, 111,3, 116,2, 117,2, 118,9, 121,6, 123,0, 128,9, 129,9, 132,0, 132,5, 134,3, 134,4, 136,4, 138,9, 143,5, 145,0, 145,9, 146,8, 151,0, 162,7, 165,3, 172,2; LRMS (ES+) calculada para $[C_{51}H_{48}ClF_5N_2O_6S + H]$ 946,28, observada 947,30.



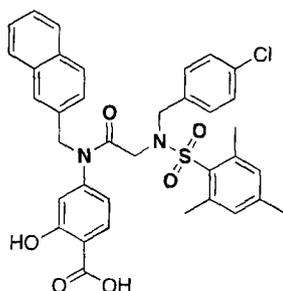
25 Ejemplo 1

- 30 **Ácido 4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(3,5-di-terc-butilbencil)acetamido)-2-hidroxibenzoico.** Derivado 13a sintetizado usando el procedimiento general h (76 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,25 (s, 18H, $(CH_3)_3$), 3,80 (s, 2H, CH_2), 4,61 (s, 2H, CH_2), 4,73 (s, 2H, CH_2), 6,25 (s, 1H, CH), 6,36 (s, 1H, CH), 6,88 (s, 2H, CH), 7,15 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH), 7,24 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH), 7,31 (s, 1H, CH), 7,75 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 31,1, 34,5, 47,6, 50,3, 121,6, 128,7, 128,9, 129,9, 132,5, 134,4, 151,0, 162,7, 172,4; LRMS (ES+) calculada para $[C_{37}H_{36}ClF_5N_2O_6S + H]$ 766,19, encontrada 765,18; HPLC (I), (II) $tR = 48,22$ min (95,25 %).



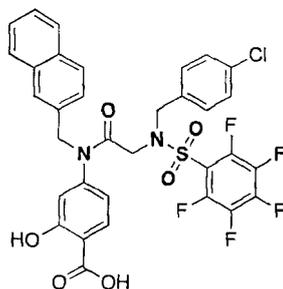
Ejemplo 2

- 5 **Ácido 4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,4,6-trimetilfenil)sulfonamido)-N-(3,5-di-terc-butilbencil)acetamido)-2-hidroxi benzoico.** Derivado **13b** sintetizado usando el procedimiento general **h** (59 %): δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,25 (s, 18H, CH_3), 2,29 (s, 3H, CH_3), 2,60 (s, 6H, CH_3), 3,59 (s, 2H, CH_2), 4,60 (s, 2H, CH_2), 4,72 (s, 2H, CH_2), 6,11 (s, 1H, CH), 6,25 (s, 1H, CH), 6,92 (s, 2H, CH), 6,96 (s, 2H, CH), 7,05 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, CH), 7,14 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, CH), 7,31 (s, 1H, CH), 7,73 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (400 MHz, CDCl_3) 20,6, 20,8, 22,7, 31,2, 34,5, 45,6, 49,6, 53,3, 117,1, 118,9, 121,4, 123,2, 128,6, 130,2, 131,9, 132,4, 133,6, 133,7, 134,8, 140,3, 142,6, 147,3, 150,8, 162,6, 166,1, 173,1, 177,4; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O}_6\text{S} + \text{H}]$ 718,28, encontrada 717,3; HPLC (I) $tR = 32,08$ min (97,63 %), (II) $tR = 49,69$ min (97,12 %).



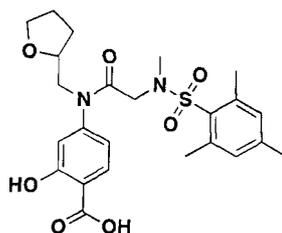
Ejemplo 3

- 15 **Ácido 4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,4,6-trimetilfenil)sulfonamido)-N-(naftalen-2-ilmetil)acetamido)-2-hidroxi benzoico.** Derivado **13c** sintetizado usando el procedimiento general **h** (72 %): δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 2,34 (s, 3H, CH_3), 2,63 (s, 6H, CH_3), 3,88 (s, 2H, CH_2), 4,40 (s, 2H, CH_2), 4,90 (s, 2H, CH_2), 6,31 (s, 1H, CH), 6,51 (s, 1H, CH), 7,03 (s, 2H, CH), 7,08 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, CH), 7,20 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, CH), 7,44-7,49 (m, 2H, CH), 7,67-7,93 (m, 5H, CH); δ_{C} (400 MHz, CDCl_3) 21,0, 23,0, 47,5, 50,5, 53,0, 107,0, 107,2, 110,7, 125,1, 126,0, 127,6, 1270, 127,3, 128,6, 130,1, 131,7, 132,5, 133,7, 134,2, 135,2, 137,7, 141,1, 143,8, 145,1, 148,3, 163,1, 166,9, 173,2 LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{36}\text{H}_{33}\text{ClN}_2\text{O}_6\text{S} + \text{H}]$ 656,17, encontrada 655,20; HPLC (I) $tR = \#$ min (# %), (II) $tR = \#$ min (# %).

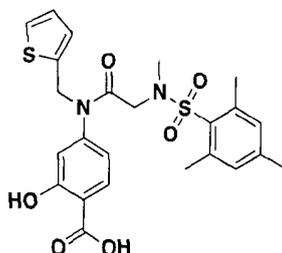


Ejemplo 4

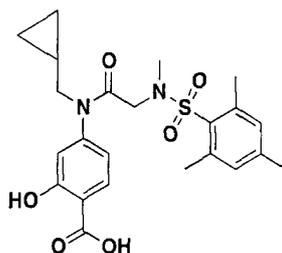
- 30 **Ácido 4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(naftalen-2-ilmetil)acetamido)-2-hidroxi benzoico.** Derivado **13d** sintetizado usando el procedimiento general **h** (61 %): δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 3,88 (s, 2H, CH_2), 4,66 (s, 2H, CH_2), 4,90 (s, 2H, CH_2), 6,31 (s, 1H, CH), 6,51 (s, 1H, CH), 7,15-7,36 (m, 4H, CH), 7,41-7,57 (m, 3H, CH), 7,67-7,93 (m, 5H, CH); δ_{C} (400 MHz, CDCl_3) 47,5, 50,5, 53,1, 66,9, 70,6, 113,2, 119,6, 121,2, 126,2, 126,3, 126,9, 127,5, 127,6, 127,8, 127,9, 128,1, 128,4, 128,6, 128,9, 129,9, 132,7, 132,9, 133,1, 133,2, 134,3, 135,2, 135,4, 143,7, 158,7, 165,0, 165,8; LRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{33}\text{H}_{22}\text{ClF}_5\text{N}_2\text{O}_6\text{S} + \text{H}]$ 704,08, encontrada 703,09; HPLC (I) $tR = 26,58$ min (94,41 %), (II) $tR = 41,17$ min (84,06 %).

**Ejemplo de referencia 23**

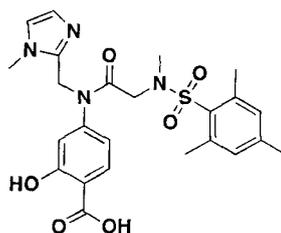
- 5 **Ácido 2-(hidroxi)-4-(N-(tetrahydrofuran-2-il)metil)-2-(N,2,4,6 tetrametilfenilsulfonamido)acetamido)benzoico.** Derivado **8a** hidrogenado en una escala de 0,3 mmol mediante el procedimiento general **h** (95 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 1,79-2,04 (m, 4H, 2CH₂), 2,29 (s, 3H, CH₃(Ph)), 2,57 (s, 6H, 2CH₃(Ph)), 2,82 (s, 3H, CH₃NSO₂), 3,61-3,79 (m, 2H, COCH₂), 3,80-3,89 (m, 4H, NHCH₂ THF, O-CH₂), 4,02-4,17 (m, 1H, CH), 6,72 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, CH (Ph)), 6,79 (s, 1H, CH (Ph)), 6,93 (s, 2H, CH), 7,83 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$) 21,1, 22,9, 25,4, 29,3, 29,8, 34,9, 49,9, 53,3, 68,1, 117,1, 119,1, 131,7, 132,1, 132,3, 140,8, 142,9, 148,0, 163,1; HRMS (ES+) calculada para [C₂₄H₃₀N₂O₇S + H] 490,18, encontrada 491,20; HPLC (I) $tR = 16,45$ min (96,95 %), (II) $tR = 24,99$ min (96,49 %).

15 **Ejemplo de referencia 24**

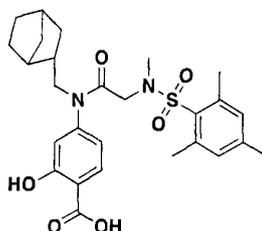
- 20 **Ácido 2-(hidroxi)-4-(2-((N,2,4,6 tetrametilfenilsulfonamido)-N-(tiofen-2-ilmetil)acetamido)benzoico.** Derivado **8b** hidrogenado en una escala de 0,2 mmol mediante el procedimiento general **h** (82 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 2,28 (s, 3H, CH₃(Ph)), 2,57 (s, 6H, 2CH₃), 2,85 (s, 3H, CH₃NSO₂), 3,79 (s, 2H, COCH₂), 4,94 (s, 2H, CH₂Ar), 6,48 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, CH), 6,58 (s, 1H, CH), 6,77 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz, CH), 6,85-6,87 (m, 1H, CH), 6,93 (s, 2H, CH), 7,21 (d, 1H, $J = 5,3$ Hz, CH), 7,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$): 20,8, 22,6, 29,5, 34,6, 47,6, 49,5, 118,8, 125,9, 126,4, 127,5, 131,4, 131,8, 132,4, 138,3, 140,6, 142,6, 165,2; HRMS (ES+) calculada para [C₂₄H₂₆N₂O₆S₂ + H] 502,12, encontrada 503,1; HPLC (I) $tR = 18,77$ min (87,95 %), (II) $tR = 29,19$ min (87,95 %).

25 **Ejemplo de referencia 25**

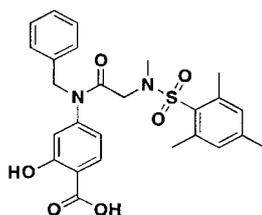
- 30 **Ácido 4-(N-(ciclopropilmetil)-2-((N,2,4,6 tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)-2-benzoico.** Derivado **8d** hidrogenado en una escala de 0,3 mmol mediante el procedimiento general **h** (90 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 0,05-0,18 (m, 2H, CH₂), 0,37-0,49 (m, 2H, CH₂), 0,77-0,97 (m, 1H, CH), 2,28 (s, 3H, CH₃), 2,57 (s, 6H, CH₃), 2,83 (s, 3H, CH₃), 3,53 (d, $J = 71,2$ Hz, 2H), 3,79 (s, 2H, CH₂), 6,71 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H CH), 6,77 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H, CH), 6,94 (s, 2H, CH), 7,94 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$): 3,6, 9,6, 20,6, 20,8, 22,6, 29,5, 34,7, 49,5, 53,6, 111,9, 117,2, 119,2, 131,5, 131,8, 132,3, 140,6, 142,6, 147,9, 162,9, 166,7, 172,7, 177,3; HRMS (ES+) calculada para [C₂₃H₂₆N₂O₆S + H] 460,17, encontrada 461,2; HPLC (I) $tR = 18,10$ min (93,12 %), (II) $tR = 27,83$ min (93,25 %).

**Ejemplo de referencia 26**

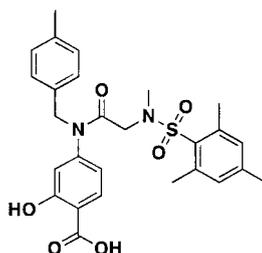
- 5 **Ácido 2-hidroxi-4-((1-metil-1H-imidazol-2-il)metil)-2-((N,2,4,6 tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)benzoico.** Derivado **8c** hidrogenado en una escala de 0,15 mmol mediante el procedimiento general **h** (40 %); δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 2,28 (s, 3H, CH_3), 2,50 (s, 6H, CH_3), 2,81 (s, 3H, CH_3), 3,78 (s, 2H, CH_2), 4,06 (s, 2H, CH_2), 6,40 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH), 6,46 (s, 1H, CH), 6,91 (s, 2H, CH), 7,00 (s, 1H, CH), 7,25 (s, 1H, CH), 7,65 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$): 20,8, 22,6, 33,1, 34,6, 47,8, 49,5, 106,0, 113,2, 120,5, 127,1, 131,4, 131,9, 138,2, 140,6, 142,9, 147,3, 152,4, 164,8, 166,9, 171,8; HRMS (ES+) calculada para $[C_{24}H_{28}N_4O_6S + H]$ 500,17, encontrada 501,20; HPLC (I) $tR = 10,65$ min (98,04 %), (II) $tR = 15,79$ min (83,06 %).

**Ejemplo de referencia 27**

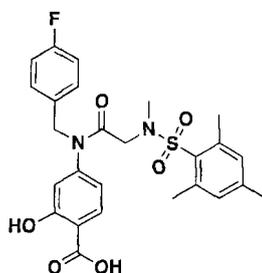
- 15 **Ácido 4-(N-(biciclo[2.2.1]heptan-2-ilmetil)-2-((N,2,4,6 tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)-2-hidroxibenzoico.** Derivado **8e** hidrogenado en una escala de 0,14 mmol mediante el procedimiento general **h** (35 %); δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 0,78-1,06 (m, 2H, CH_2), 1,07-1,22 (m, 2H, CH_2), 1,29-1,60 (m, 3H, CH_2 , CH), 1,82-2,04 (m, 2H, CH), 2,22 (s, 3H, CH_3), 2,47 (s, 6H, CH_3), 2,70 (s, 3H, CH_3), 3,45 (s, 2H, CH_2), 3,63 (s, 2H, CH_2), 3,81 (s, 2H, CH_2), 6,51 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH), 6,64 (s, 1H, CH), 6,86 (s, 2H, CH), 7,85 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$): 20,8, 22,5, 22,6, 29,7, 34,3, 34,4, 36,7, 38,7, 39,6, 51,3, 131,5, 131,8, 137,2, 140,4, 142,5, 148,3, 164,4, 166,2, 171,3; HRMS (ES+) calculada para $[C_{27}H_{34}N_2O_6S + H]$ 514,21, encontrada 515,20; HPLC (I) $tR = 22,48$ min (99,40 %), (II) $tR = 35,27$ min (96,56 %).

**Ejemplo de referencia 28**

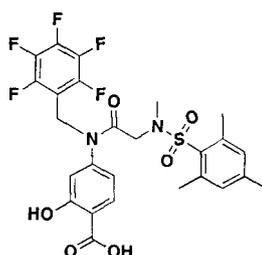
- 30 **Ácido 4-(N-bencil-2-((N,2,4,6 tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)-2-hidroxibenzoico.** Derivado **8g** hidrogenado en una escala de 0,07 mmol mediante el procedimiento general **h** (75 %); δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 2,29 (s, 3H, CH_3), 2,57 (s, 6H, CH_3), 2,87 (s, 3H, CH_3), 3,81 (s, 2H, CH_2), 4,82 (s, 2H, CH_2), 6,41 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, CH), 6,54 (s, 1H, CH), 6,94 (s, 2H, CH), 7,06-7,16 (m, 2H, CH), 7,18-7,25 (m, 3H, CH), 7,84 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$): 20,8, 22,6, 34,6, 49,6, 52,9, 118,8, 127,6, 128,4, 131,6, 131,8, 136,2, 140,5, 142,5, 166,8; HRMS (ES+) calculada para $[C_{26}H_{28}N_2O_6S + H]$ 496,17, encontrada 497,17; HPLC (I) $tR = 19,17$ min (98,29 %), (II) $tR = 29,81$ min (97,35 %).

**Ejemplo de referencia 29**

- 5 **Ácido 2-hidroxi-4-(N-(4-metilbencil)-2-((N,2,4,6-tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)benzoico.** Derivado **8f** hidrogenado en una escala de 0,04 mmol mediante el procedimiento general **h** (85 %); δ_{H} (400 MHz, α -CDCl₃) 2,30 (s, 3H, CH₃), 2,57 (s, 6H, CH₃), 2,87 (s, 3H, CH₃), 3,79 (s, 2H, CH₂), 4,77 (s, 2H, CH₂), 6,41 (d, J = 8,5 Hz, 1H, CH), 6,52 (s, 1H, CH), 6,93 (s, 2H, CH), 6,98 (d, J = 8,3, 2H, CH), 7,04 (d, J = 8,3 Hz, 2H, CH), 7,82 (d, J = 8,3 Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-CDCl₃): 20,8, 20,9, 22,6, 31,7, 34,6, 36,8, 49,5, 52,6, 116,7, 118,7, 128,3, 129,0, 131,5, 131,7, 132,0, 133,2, 137,2, 140,5, 142,5, 147,1, 162,7, 163,3, 166,7, 171,8; HRMS (ES⁺) calculada para [C₂₆H₂₈N₂O₆S + H] 510,18, encontrada 511,20; HPLC (I) t_{R} = 20,32 min (95,53 %), (II) t_{R} = 31,81 min (93,81 %).

**Ejemplo de referencia 30**

- 15 **Ácido 4-(N-(4-fluorobencil)-2-((N,2,4,6-tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)-2-hidroxibenzoico.** Derivado **8h** hidrogenado en una escala de 0,1 mmol mediante el procedimiento general **h** (89 %); δ_{H} (400 MHz, d-CDCl₃): 2,29 (s, 3H, CH₃), 2,57 (s, 6H, CH₃), 2,86 (s, 3H, CH₃), 3,82 (s, 2H, CH₂), 4,79 (s, 2H, CH₂), 6,43 (d, J = 8,3 Hz, 1H, CH), 6,55 (s, 1H, CH), 6,84-7,01 (m, 4H, CH), 7,02-7,17 (m, 2H, CH), 7,85 (d, J = 8,3 Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-CDCl₃): 20,8, 22,6, 29,5, 34,8, 49,6, 52,2, 111,7, 115,2, 115,4, 116,9, 118,9, 130,2, 130,3, 131,4, 131,8, 132,0, 132,3, 140,5, 142,6, 147,2, 160,9, 162,8, 163,4, 166,8, 171,8; HRMS (ES⁺) calculada para [C₂₆H₂₇FN₂O₆S + H] 514,16, encontrada 515,20; HPLC (I) t_{R} = 19,48 min (96,92 %), (II) t_{R} = 30,84 min (92,79 %).

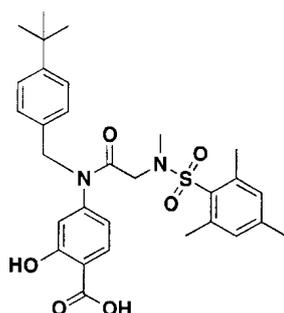


25

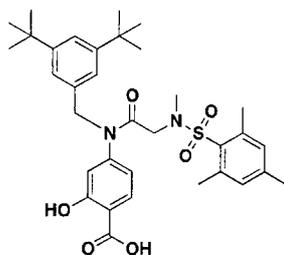
Ejemplo de referencia 31

- 30 **Ácido 2-hidroxi-4-(N-((perfluorofenil)metil)-2-((N,2,4,6-tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)benzoico.** Derivado **8i** hidrogenado en una escala de 0,16 mmol mediante el procedimiento general **h** (90 %); δ_{H} (400 MHz, α -DMSO): 2,24 (s, 3H, CH₃), 2,40 (s, 6H, CH₃), 2,73 (s, 3H, CH₃), 3,71 (s, 2H, CH₂), 4,93 (s, 2H, CH₂), 6,60 (d, J = 8,5 Hz, 1H, CH), 6,79 (s, 1H, CH), 6,97 (s, 2H, CH), 7,76 (d, J = 8,4 Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-DMSO): 20,8, 22,6, 34,6, 36,8, 49,5, 115,4, 131,6, 136,4, 141,3, 145,3, 162,9, 166,7, 172,7; HRMS (ES⁺) calculada para [C₂₆H₂₃F₅N₂O₆S + H] 586,12, encontrada 587,10; HPLC (I) t_{R} = 20,63 min (99,83 %), (II) t_{R} = 32,50 min (98,56 %).

35

**Ejemplo de referencia 32**

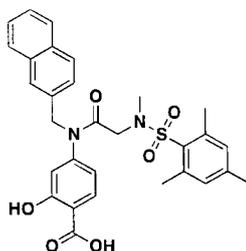
- 5 **Ácido 4-(N-(4-(*tert*-butil)encil)-2-((N,2,4,6-tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)-2-hidroxi-3,5-dimetilbenzoico.** Derivado **8k** hidrogenado en una escala de 0,08 mmol mediante el procedimiento general **h** (40 %); δ_{H} (400 MHz, d-CDCl_3): 1,29 (s, 9H, CH_3), 2,29 (s, 3H, CH_3), 2,57 (s, 6H, CH_3), 2,86 (s, 3H, CH_3), 3,81 (s, 2H, CH_2), 4,79 (s, 2H, CH_2), 6,47 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, CH), 6,57 (s, 1H, CH), 6,94 (s, 2H, CH), 7,03 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, CH), 7,27 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, CH), 7,84 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-CDCl_3): 20,5, 20,8, 22,6, 31,1,34,3, 34,6, 49,5, 52,7, 116,8, 118,9, 125,3, 127,9, 131,5, 131,7, 132,2, 133,1, 140,5, 142,5, 150,5, 162,7, 166,7, 173,0, 177,0; HRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_6\text{S} + \text{H}]$ 552,23, encontrada 553,20; HPLC (I) $t_{\text{R}} = 23,33$ min (98,57 %), (II) $t_{\text{R}} = 37,15$ min (98,89 %).



- 15 **Ejemplo de referencia 33**

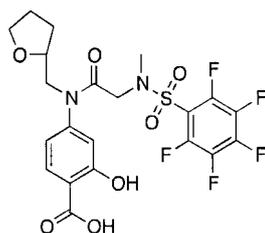
- 20 **Ácido 4-(N-(3,5-di-*tert*-butil)encil)-2-((N,2,4,6-tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)-2-hidroxi-3,5-dimetilbenzoico.** Derivado **8l** hidrogenado en una escala de 0,07 mmol mediante el procedimiento general **h** (65 %); δ_{H} (400 MHz, d-CDCl_3): 1,24 (s, 18H, CH_3), 2,28 (s, 3H, CH_3), 2,58 (s, 6H, CH_3), 2,81 (s, 3H, CH_3), 3,83 (s, 2H, CH_2), 4,83 (s, 2H, CH_2), 6,46 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH), 6,55 (s, 1H, CH), 6,93 (s, 2H, CH), 6,95 (s, 2H, CH), 7,28 (s, 1H, CH), 7,83 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-CDCl_3): 20,5, 20,8, 22,6, 31,2, 34,4, 34,5, 49,5, 53,4, 121,3, 122,9, 131,4, 131,7, 132,0, 135,0, 140,5, 142,5, 150,8, 162,7, 177,1; HRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_6\text{S} + \text{H}]$ 608,29, encontrada 609,30; HPLC (I) $t_{\text{R}} = 26,49$ min (99,72 %), (II) $t_{\text{R}} = 42,87$ min (98,62 %).

25

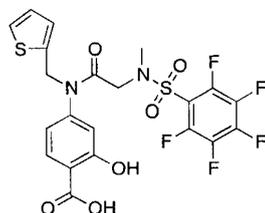
**Ejemplo de referencia 34**

- 30 **Ácido 2-hidroxi-4-(N-(naftalen-2-ilmetil)-2-((N,2,4,6-tetrametilfenil)sulfonamido)-acetamido)benzoico.** Derivado **8j** hidrogenado en una escala de 0,09 mmol mediante el procedimiento general **h** (40 %); δ_{H} (400 MHz, d-CDCl_3): 2,24 (s, 3H, CH_3), 2,57 (s, 6H, CH_3), 2,89 (s, 3H, CH_3), 3,84 (s, 2H, CH_2), 4,99 (s, 2H, CH_2), 6,42 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH), 6,58 (s, 1H, CH), 6,91 (s, 2H, CH), 7,27 (s, 1H, CH), 7,38-7,50 (m, 2H, CH), 7,54 (s, 1H, CH), 7,68-7,88 (m, 4H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-CDCl_3): 20,5, 20,7, 22,6, 34,7, 49,6, 53,1, 111,8, 116,8, 118,9, 125,9, 126,1, 127,5, 127,6, 128,3, 131,4, 131,8, 132,2, 132,6, 133,0, 133,6, 140,5, 142,5, 147,4, 162,8, 167,0, 172,5, 177,0; HRMS (ES+) calculada para $[\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{S} + \text{H}]$ 546,18, encontrada 547,20; HPLC (I) $t_{\text{R}} = 21,21$ min (97,90 %), (II) $t_{\text{R}} = 33,46$ min (95,26 %).

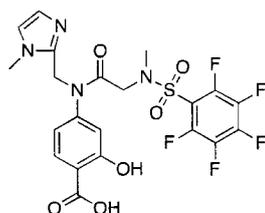
35

**Ejemplo de referencia 35**

- 5 **Ácido 2-hidroxi-4-(2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamido)-N-((tetrahidrofuran-2-il)metil)acetamido)benzoico.** Derivado **8m** hidrogenado en una escala de 0,1 mmol mediante el procedimiento general **h** (70 %); δ_{H} (400 MHz, α -CDCl₃): 1,41-1,60 (m, 1H, CH), 1,79-2,01 (m, 3H, CH₂, CH), 3,07 (s, 3H, CH₃), 3,67 (d, J = 6,5 Hz, 2H, CH₂), 3,71-3,89 (m, 2H, CH₂), 3,93-4,21 (m, 2H, CH₂), 6,80 (d, J = 8,2 Hz, 1H, CH), 6,89 (s, 1H, CH), 7,95 (d, J = 8,3 Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-CDCl₃): 20,5, 25,2, 28,8, 31,7, 35,7, 36,8, 52,0, 52,9, 67,7, 116,7, 118,6, 132,3, 146,9, 162,9, 163,3, 171,9, 176,1; HRMS (ES⁺) calculada para [C₂₁H₁₉F₅N₂O₇S + H] 538,08, encontrada 539,10; HPLC (I) t_{R} = 24,63 min (97,67 %), (II) t_{R} = 26,45 min (95,84 %).

15 **Ejemplo de referencia 36**

- 20 **Ácido 2-hidroxi-4-(2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamida)-N-(tiofen-2-ilmetil)acetamido)benzoico.** Derivado **8n** hidrogenado en una escala de 0,1 mmol mediante el procedimiento general **h** (95 %): δ_{H} (400 MHz, d-CDCl₃) 3,03 (s, 3H, CH₃), 3,97 (s, 2H, CH₂), 4,83 (s, 2H, CH₂), 6,52 (d, J = 8,3 Hz, 1H, CH), 6,65 (s, 1H, CH), 6,68 (s, 1H, CH), 6,78-6,85 (m, 1H, CH), 7,17 (d, J = 5,4 Hz, 1H, CH), 7,87 (d, J = 8,4 Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-CDCl₃) 20,5, 22,6, 29,3, 29,6, 31,6, 32,3, 34,2, 35,9, 47,8, 52,0, 52,2, 112,1, 117,1, 119,0, 126,3, 126,6, 127,6, 132,7, 137,8, 146,8, 147,1, 163,1, 163,2, 165,7, 172,5, 176,5; HRMS (ES⁺) calculada para [C₂₁H₁₅F₅N₂O₆S₂ + H] 550,03, encontrada 551,0.; HPLC (I) t_{R} = 26,91 min (64,94 %), (II) t_{R} = 30,17 min (92,72 %).



25

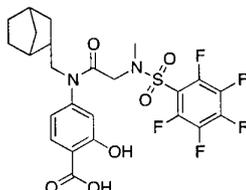
Ejemplo de referencia 37

- 30 **Ácido 2-hidroxi-4-(N-((1-metil-1H-imidazol-2-il)metil)-2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamido)acetamido)benzoico.** Derivado **8o** hidrogenado en una escala de 0,16 mmol mediante el procedimiento general **h** (54 %): δ_{H} (400 MHz, α -DMSO) 2,94 (s, 3H, CH₃), 3,60 (s, 3H, CH₃), 3,61 (s, 2H, CH₂), 4,99 (s, 2H, CH₂), 6,64 (s, 1H, CH), 6,78 (s, 1H, CH), 7,18 (s, 1H, CH), 7,37 (s, 1H, CH), 7,72 (s, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, d-DMSO); 33,1, 34,6, 47,8, 49,5, 106,0, 113,2, 120,5, 127,1, 131,4, 131,9, 138,2, 140,6, 142,9, 147,3, 152,4, 164,8, 166,9, 171,8; HRMS (ES⁺) calculada para [C₂₁H₁₇F₅N₄O₆S₂ + H] 548,08, encontrada 549,10; HPLC (I) t_{R} = 17,52 min (74,54 %), (II) t_{R} = 15,87 min (79,92 %).

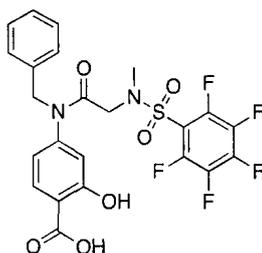


Ejemplo de referencia 38

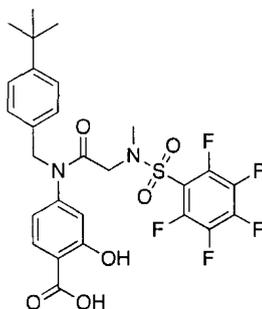
Ácido 4-(N-(ciclopropilmetil)-2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamido)acetamido)-2-hidroxibenzoico. Derivado **8p** hidrogenado en una escala de 0,4 mmol mediante el procedimiento general **h** (87 %): δ_{H} (400 MHz, *d*-CDCl₃) 0,04-0,18 (m, 2H, CH₂), 0,40-0,59 (m, 2H, CH₂), 0,78-1,00 (m, 1H, CH), 3,07 (s, 3H, CH₃), 3,49 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂), 4,04 (s, 2H, CH₂), 6,83 (s, 1H, CH), 6,90 (s, 1H, CH), 8,00 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, *d*-CDCl₃): 3,5, 9,4, 20,5, 35,8, 52,0, 53,8, 111,9, 117,2, 119,1, 132,6, 147,4, 163,0, 165,7, 172,9; HRMS (ES⁺) calculado para [C₂₀H₁₇F₅N₂O₆S₂ + H] 508,07, encontrada 509,10; HPLC (I) *tR* = 26,33 min (97,61 %), (II) *tR* = 29,31 min (96,90 %).

**Ejemplo de referencia 39**

Ácido 4-(N-(biciclo[2.2.1]heptan-2-ilmetil)-2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamido)acetamido)-2-hidroxibenzoico. Derivado **8q** hidrogenado en una escala de 0,3 mmol mediante el procedimiento general **h** (66 %): δ_{H} (400 MHz, *d*-CDCl₃) 0,40-0,61 (m, 1H, CH), 0,85-1,07 (m, 2H, CH₂), 1,08-1,27 (m, 3H, CH₂, CH), 1,28-1,45 (m, 2H, CH₂), 1,72-1,90 (m, 1H, CH), 1,99 (s, 1H, CH₂), 2,07 (s, 1H, CH₂), 2,94 (s, 3H, CH₃), 3,48-3,70 (m, 2H, CH₂), 4,00 (s, 2H, CH₂), 6,83 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, CH), 6,91 (s, 1H, CH), 7,86 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, *d*-CDCl₃): 28,2, 29,4, 34,3, 34,4, 37,7, 38,7, 39,6, 42,6, 48,9, 113,2, 131,5, 131,8, 137,2, 140,4, 142,5, 148,3, 164,4, 166,2, 171,3; HRMS (ES⁺) calculada para [C₂₄H₂₃F₅N₂O₆S + H] 562,12, encontrada 563,10; HPLC (I) *tR* = 30,77 min (98,73 %), (II) *tR* = 36,21 min (99,12 %).

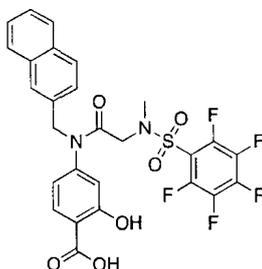
**Ejemplo de referencia 40**

Ácido 4-(N-(bencil-2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamido)acetamido)-2-hidroxibenzoico. Derivado **8s** hidrogenado en una escala de 0,3 mmol mediante el procedimiento general **h** (87 %): δ_{H} (400 MHz, *d*-CDCl₃) 3,10 (s, 3H, CH₃), 4,06 (s, 2H, CH₂), 4,78 (s, 2H, CH₂), 6,55 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH), 6,69 (s, 1H, CH), 7,04-7,16 (m, 2H, CH), 7,26-7,32 (m, 3H, CH), 7,89 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, CH); δ_{C} (100 MHz, *d*-CDCl₃): 29,6, 30,3, 35,9, 50,8, 52,2, 53,2, 111,9, 115,8, 117,1, 119,1, 128,0, 128,4, 128,6, 132,2, 132,6, 135,7, 139,1, 143,5, 146,1, 147,1, 163,1, 166,0, 172,3; HRMS (ES⁺) calculada para [C₂₃H₁₇F₅N₂O₆S + H] 544,07, encontrada 545,10; HPLC (I) *tR* = 19,74 min (97,50 %), (II) *tR* = 30,90 min (96,37 %).

**Ejemplo de referencia 41**

Ácido 4-(N-(4-terc-butil)bencil)-2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamido)acetamido)-2-hidroxibenzoico. Derivado **8w** hidrogenado en una escala de 0,4 mmol mediante el procedimiento general **h** (92 %): δ_{H} (400 MHz, *d*-CDCl₃) 1,29 (s, 9H, CH₃), 3,10 (s, 3H, CH₃), 4,08 (s, 2H, CH₂), 4,76 (s, 2H, CH₂), 6,59 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, CH), 6,72 (s, 1H, CH), 7,01 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, CH), 7,29 (d, *J* = 8,15 Hz, 2H, CH), 7,90 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, CH);

δ_c (100 MHz, d- $CDCl_3$): 31,1,32,0, 34,3, 35,8, 37,1, 52,1, 52,9, 116,9, 118,8, 125,4, 127,9, 132,50, 150,8, 162,92, 165,9, 172,4; HRMS (ES+) calculada para $[C_{27}H_{25}F_5N_2O_6S + H]$ 600,14, encontrada 601,10; HPLC (I) tR = 23,68 min (98,12 %), (II) tR = 37,81 min (98,08 %).



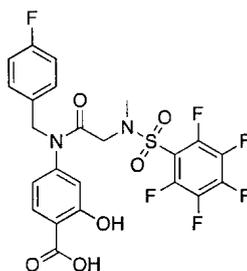
5

Ejemplo de referencia 42

Ácido 2-hidroxi-4-(N-(naftalen-2-ilmetil)-2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-

10 **metilfenil)sulfonamida)acetamido)benzoico.** Derivado **8v** hidrogenado en una escala de 0,4 mmol mediante el procedimiento general **h** (73 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 3,10 (s, 3H, CH_3), 4,09 (s, 2H, CH_2), 4,95 (s, 2H, CH_2), 6,54 (d, J = 8,4 Hz, 1H, CH), 6,72 (s, 1H, CH), 7,23 (s, 1H, CH), 7,40-7,56 (m, 3H, CH), 7,67-7,94 (m, 4H, CH); δ_c (100 MHz, d- $CDCl_3$): 20,6, 35,7, 52,1, 53,1, 118,9, 125,8, 126,0, 126,1, 127,5, 127,6, 128,5, 132,5, 132,7, 133,0, 133,1, 162,8, 166,1, 177,5; HRMS (ES+) calculada para $[C_{27}H_{19}F_5N_2O_6S + H]$ 594,09, encontrada 595,10; HPLC (I) tR = 21,64 min (90,45 %), (II) tR = 34,27 min (88,02 %).

15



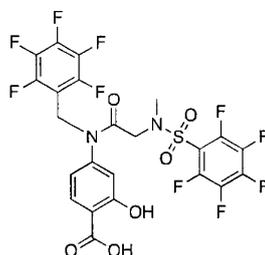
Ejemplo de referencia 43

20

Ácido 4-(N-(4-fluorobencil)-2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamida)acetamido)-2-hidroxi-benzoico.

25 Derivado **8t** hidrogenado en una escala de 0,15 mmol mediante el procedimiento general **h** (63 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 3,09 (s, 3H, CH_3), 4,05 (s, 2H, CH_2), 4,75 (s, 2H, CH_2), 6,54 (d, J = 8,53 Hz, 1H, CH), 6,68 (s, 1H, CH), 6,90-7,03 (m, 2H, CH), 7,03-7,12 (m, 2H, CH), 7,92 (d, J = 8,50 Hz, 1H, CH); δ_c (100 MHz, d- $CDCl_3$): 20,5, 29,6, 35,9, 52,0, 52,2, 52,4, 112,1, 115,5, 115,7, 117,1, 117,6, 119,1, 120,4, 129,6, 130,3, 130,4, 131,7, 132,7, 146,9, 147,0, 161,2, 163,1, 163,6, 165,9, 172,7, 176,5; HRMS (ES+) calculada para $[C_{23}H_{16}F_6N_2O_6S + H]$ 562,06, encontrada 563,10; HPLC (I) tR = 19,99 min (98,87 %), (II) tR = 31,40 min (97,59 %).

25



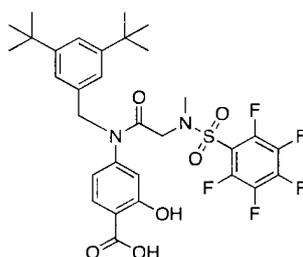
30

Ejemplo de referencia 44

Ácido 2-hidroxi-4-(2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamida)-N-

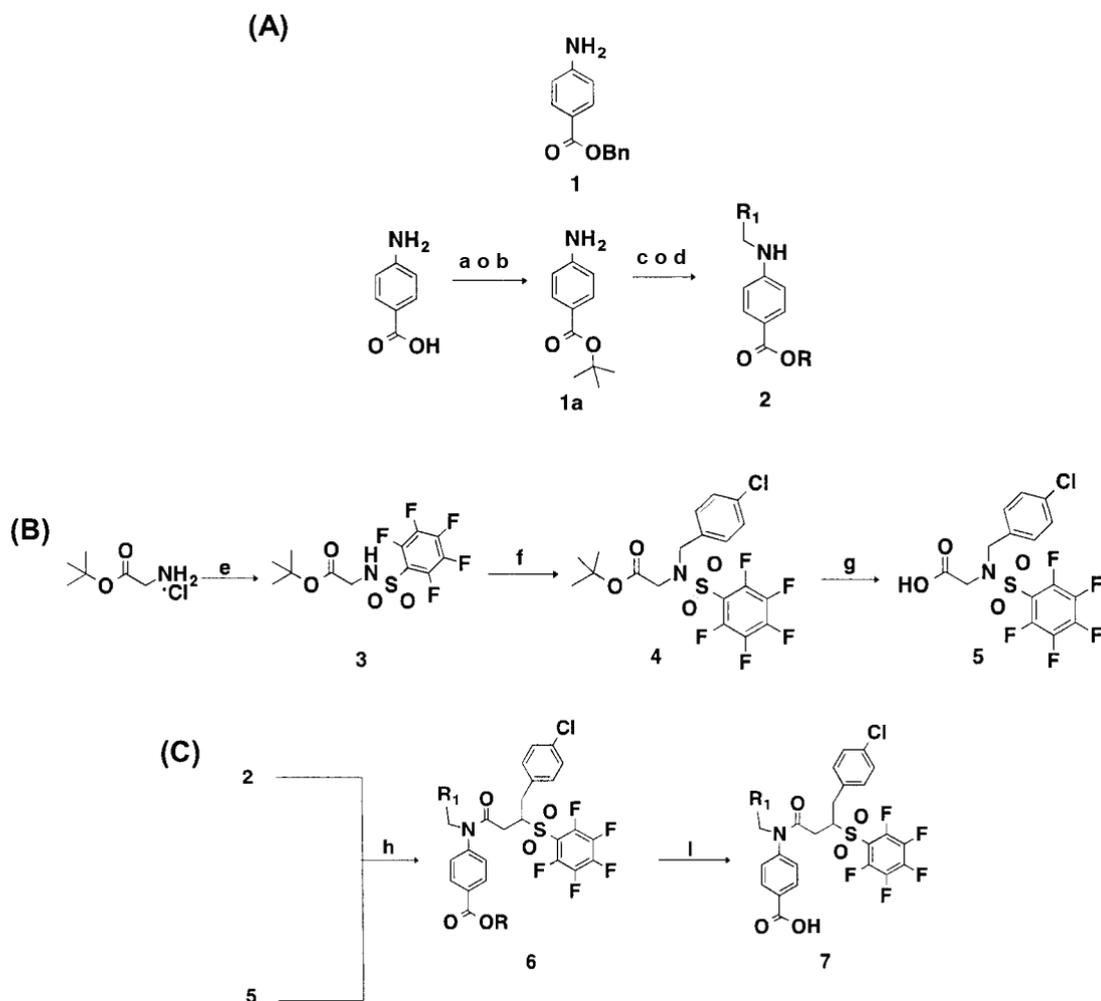
35 **((perfluorofenil)metil)acetamido)benzoico.** Derivado **8u** hidrogenado en una escala de 0,07 mmol mediante el procedimiento general **h** (89 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 3,06 (s, 3H, CH_3), 4,01 (s, 2H, CH_2), 4,94 (s, 2H, CH_2), 6,62 (d, J = 8,34 Hz, 1H, CH), 6,73 (s, 1H, CH), 7,95 (d, J = 8,52 Hz, 1H, CH); δ_c (100 MHz, d- $CDCl_3$): 29,6, 30,8, 31,3, 35,8, 40,0, 52,0, 58,3, 61,4, 109,0, 112,9, 115,6, 116,8, 118,4, 125,9, 133,0, 136,1, 136,3, 136,5, 138,5, 138,6, 138,9, 142,5, 143,5, 144,0, 145,0, 146,0, 146,5, 163,1, 165,9, 171,5, 173,4; HRMS (ES+) calculada para $[C_{23}H_{12}F_{10}N_2O_6S + H]$ 634,03, encontrada 635,0; HPLC (I) tR = 20,88 min (98,71 %), (II) tR = 33,06 min (98,39 %).

40



Ejemplo de referencia 45

- 5 **Ácido** **4-(N-(3,5-di-*tert*-butilencil)-2-((2,3,4,5,6-pentafluoro-N-metilfenil)sulfonamida)acetamido)-2-hidroxibenzoico**. Derivado **8x** hidrogenado en una escala de 0,07 mmol mediante el procedimiento general **h** (89 %): δ_H (400 MHz, d- $CDCl_3$) 3,06 (s, 3H, CH_3), 4,01 (s, 2H, CH_2), 4,94 (s, 2H, CH_2), 6,62 (d, $J = 8,34$ Hz, 1H, CH), 6,73 (s, 1H, CH), 7,95 (d, $J = 8,52$ Hz, 1H, CH); δ_C (100 MHz, d- $CDCl_3$): 29,6, 30,8, 31,3, 35,8, 40,0, 52,0, 58,3, 61,4, 109,0, 112,9, 115,6, 116,8, 118,4, 125,9, 133,0, 136,1, 136,3, 136,5, 138,5, 138,6, 138,9, 142,5, 143,5, 144,0, 145,0, 146,0, 146,5, 163,1, 165,9, 171,5, 173,4; HRMS (ES+) calculada para $[C_{23}H_{12}F_{10}N_2O_6S + H]$ 634,03, encontrada 635,0; HPLC (I) $tR = 26,48$ min (99,42 %), (II) $tR = 43,39$ min (98,62 %).
- 10 Otros compuestos de la divulgación se sintetizaron de acuerdo con el esquema 2:



- 15 **Esquema 2:** (A) a) i) K^tOBu , $BnBr$, DMF, $0^\circ C \rightarrow TA$, 1 h; después K^tOBu , $BnBr$, DMF, $0^\circ C \rightarrow TA$, 16 h, 60 %; b) $SOCl_2$, *t*-butanol, DCM, $0^\circ C \rightarrow TA$, 83 %; c) 1) Aldehído, $AcOH$, tamices moleculares de 3 Å, CH_3OH , $45^\circ C$, 2 h; 2) $NaCNBH_3$, $45^\circ C$, 16 h, 56-96 %; d) Aldehído, tamices moleculares de 3 Å, CH_2Cl_2 , $NaOAc$, $Na(OAc)_3BH$, TA, 16 h, 82 %; (e) d) $C_5F_5SO_2Cl$, K_2CO_3 , CH_3CN , 16 h, $0^\circ C \rightarrow TA$, 60-77 %; f) 1) $p-Cl(C_6H_4)BnBr$, Cs_2CO_3 , DMF, T.A., N_2 , 2 h, 70 %; g) $CH_2Cl_2:TFA$ 1:1, TA, 1 h, 90 %; h) PPh_3Cl_2 , $CHCl_3$, 30 min, $100^\circ C$ calentamiento asistido por microondas, 20-98 %; i) H_2 , Pd/C, 1:1 de THF/ CH_3OH , 3-10 h, TA, 35-95 %. ia) 1:1 TFA/DCM, 30 min, t.a. DMF = *N,N*-dimetilformamida, TFA = ácido trifluoroacético.
- 20

Procedimiento general a (dibencilación del ácido salicílico). A una solución en agitación de ácido 4-aminosalicílico (1,0 equiv.) en DMF (0,1 M) a 0 °C se le añadió KO^tBu (1,2 equiv.). Después de 15 min, se añadió bromuro de bencilo (1,2 equiv.) gota a gota. La suspensión se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 h más antes de que se volviera a enfriar el recipiente de reacción a 0 °C. Una vez más, se añadió KO^tBu (1,2 equiv.) antes de la adición gota a gota de bromuro de bencilo (1,2 equiv.). La reacción se dejó en agitación durante una noche antes de inactivar con H₂O. Después, la solución se extrajo repetidamente con acetato de etilo y las fases orgánicas se combinaron. Después, los orgánicos se lavaron con H₂O y salmuera, después se concentraron, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó usando el cromatógrafo en columna automático Biotage Isolera con un gradiente 4:1 de hexanos/EtOAc a presión reducida.

Procedimiento general b (protección con t-butilo del ácido salicílico). Se suspendió ácido 4-aminobenzoico en SOCl₂ (2,0 equiv.) a 25 °C. La suspensión se calentó a reflujo durante 2 h. El SOCl₂ se eliminó a presión reducida, las últimas trazas mediante azeotropía con CHCl₃ (x 3). El cloruro de ácido resultante se disolvió en CH₂Cl₂ y se añadió una solución de t-butanol en CH₂Cl₂ a la solución en agitación, que se enfrió a 0 °C. Se formó un precipitado sólido de color blanco - la sal de clorhidrato se inactivó con KOH 1,0 M y se extrajo con EtOAc (x4).

Procedimiento general c (aminación reductora usando cianoborohidruro sódico). A una solución de 4-amino ácido salicílico protegido **1/1a** (1,0 equiv.) y ácido acético (1,5 equiv.) en agitación en CH₃OH anhidro (0,1 M) con tamices moleculares de 3 Å se le añadió el aldehído (1,0 equiv.). La solución se calentó a 45 °C durante 3 h y después se dejó enfriar a ta. A continuación, se añadió NaCNBH₃ (1,3 equiv.) en porciones y la reacción se dejó en agitación a ta durante una noche. La reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se filtró y se concentró al vacío. El concentrado se purificó usando el cromatógrafo en columna automático de Biotage Isolera usando un gradiente de hexanos/EtOAc para formar las anilinas secundarias **2**.

Procedimiento general d (aminación reductora usando triacetoxiborohidruro sódico). A una solución de 4-amino ácido salicílico protegido **1/1a** (1,2 equiv.) y ácido acético (1,2 equiv.) en agitación en dicloroetano anhidro (0,1 M) con tamices moleculares de 3 Å se le añadió el aldehído (1,0 equiv.). Después, la solución se agitó a ta durante 5 min tras lo cual se añadió Na(OAc)₃BH (1,5 equiv.) y se dejó en agitación a ta durante una noche. La reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se filtró y se concentró al vacío. El concentrado se purificó usando el cromatógrafo en columna automático de Biotage Isolera usando un gradiente de hexanos/EtOAc para formar derivados de la anilina secundaria **2**.

Procedimiento general e (sulfonilación de t-butil éster de glicina y sarcosina). Una solución de t-butil éster de aminoácido (1 equiv.) y K₂CO₃ (1,1 equiv.) se disolvió en acetonitrilo anhidro y se enfrió a 0 °C antes de añadir cloruro de sulfonilo (1 equiv.). La solución resultante se dejó en agitación durante una noche a ta. La reacción se concentró al vacío y el residuo se disolvió en CH₂Cl₂. Los extractos orgánicos se combinaron y después se lavaron secuencialmente con HCl 0,1 M, NaHCO₃ saturado y salmuera. Después, los orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para formar derivados **3** sin más purificación.

Procedimiento general f (alquilación de sulfonamida). Una solución de **3** (1 equiv.) y Cs₂CO₃ (1,3 equiv.) se disolvió en DMF anhidra seguido de la adición de p-CIBnBr (1 equiv.). La solución resultante se dejó en agitación durante 2 h a t.a. La reacción se interrumpió con H₂O y después se extrajo repetidas veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con H₂O, salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó usando el cromatógrafo en columna automático de Biotage Isolera con un gradiente 2:1 de hexanos/EtOAc a presión reducida para proporcionar el compuesto **4**.

Procedimiento general g (desprotección del t-butil éster). Una solución de t-butil éster de aminoácido (1 equiv.) se disolvió en TFA e inmediatamente se diluyó con CH₂Cl₂ en una solución mezclada 1:1 (0,1 M). La solución resultante se dejó en agitación durante 1 h y después se coevaporó con CH₃OH (3 x) y CHCl₃ (3 x). El residuo resultante se usó más adelante sin purificación para proporcionar los compuestos **5**.

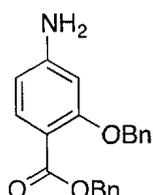
Procedimiento general h (acoplamiento peptídico de PPh₃Cl₂). A una solución en agitación del ácido carboxílico (**5**) (1,1 equiv.) en CHCl₃ (0,1 M) se le añadió PPh₃Cl₂ (2,5 equiv.). La reacción se dejó en agitación 5 min a ta o hasta que se completó la disolución, seguido de la adición gota a gota de la anilina secundaria **2** (1,0 equiv.). Después, la mezcla de reacción se calentó en un microondas a 100 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se dejó enfriar a ta seguido de lavado secuencial con NaHCO₃ saturado y salmuera. Las capas orgánicas se secaron después sobre Na₂SO₄ y se secaron al vacío. El concentrado se absorbió directamente sobre sílice para purificación por cromatografía en columna usando un gradiente de hexanos y EtOAc para formar los derivados **6**.

Procedimiento general i (hidrogenólisis del bencil éster y el bencil éter). El ácido salicílico protegido por bencilo, **6** (1 equiv.) se disolvió en una solución en agitación de CH₃OH/THF (1:2, 0,1 M). La solución se desgasificó a fondo antes de la adición cuidadosa de Pd al 10 %/C (10 mg/mmol). Se burbujeó gas H₂ a través del disolvente durante 5 min antes de colocar la solución en atmósfera de gas H₂ y se agitó de manera continua durante 2-5 h, controlando la compleción de la reacción mediante TLC. El gas H₂ se evacuó y la reacción se filtró a través de celite para eliminar el catalizador de Pd y se concentró al vacío. El residuo resultante se adsorbió sobre sílice y se colocó en

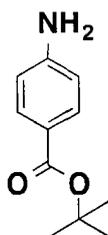
columna usando un sistema Biotage Isolera en un gradiente de CH₂Cl₂, CH₃OH y ácido acético al 1 % para proporcionar la serie final de moléculas 7.

5 **Procedimiento general i (desprotección ácida de los grupos funcionales t-butilo).** El ácido salicílico protegido con t-butilo, se disolvió con una relación 1:1 de TFA/DCM y se agitó durante 30 min. La solución en bruto se concentró al vacío. El residuo resultante se adsorbió sobre sílice y se colocó en columna usando un sistema Biotage Isolera en un gradiente de CH₂Cl₂, CH₃OH y ácido acético al 1 % para proporcionar la serie final de moléculas 7.

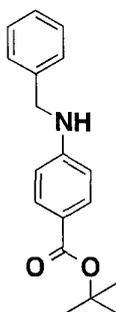
10 **Datos de caracterización de los intermedios**



15 **4-amino-2-(benciloxi)benzoato de bencilo (Esquema 2 - 1).** Compuesto 1 sintetizado de acuerdo con el procedimiento general a, produciendo el producto final en forma de un sólido de color naranja (47 %): δ_H (400 MHz, d- CDCl₃) 5,07 (s, 2H, CH₂), 5,21 (s, 2H, CH₂), 5,99 (s a, 2H, NH₂), 6,18 (dd, J = 8,6 y 1,8 Hz, 1H, CH), 6,32 (d, J = 1,7 Hz, 1H, CH), 7,28-7,38 (8H, m, CH), 7,47 (d, J = 7,2 Hz, 2H, CH), 7,60 (d, J = 8,6 Hz, 1H, CH);; δ_C (400 MHz, CDCl₃) 65,8, 70,2, 99,1, 106,7, 109,0, 126,8, 127,5, 127,7, 127,9, 128,3, 128,4, 134,3, 136,6, 136,7, 152,2, 160,7, 165,7; LRMS (ESI+) calculada para C₂₁H₁₉NO₃ [M + H]⁺ 333,2, observada 333,2.

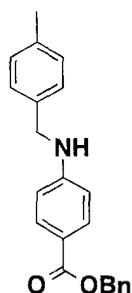


20 **4-aminobenzoato de terc-butilo (1a).** Derivado 1a sintetizado de acuerdo con el procedimiento general b en (83 %): RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1,06 - 1,19 (m, 7H), 1,39 (s, 1H), 1,46 (s, 16H), 1,52 (d, J = 3,6 Hz, 3H), 1,88 (s, 1H), 1,96 (s, 6H), 4,00 (c, J = 7,1 Hz, 4H), 5,82 (d, J = 15,3 Hz, 4H), 6,47 - 6,55 (m, 4H), 7,50 - 7,59 (m, 4H), 7,79 - 7,98 (m, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, DMSO-d₆) δ 28,16, 28,30, 79,14, 112,80, 117,95, 119,36, 119,66, 129,89, 131,18, 153,37, 165,58. LRMS (ESI+) calculada para C₁₁H₁₆NO₂ [M + H]⁺ 194,11, observada 194,15.

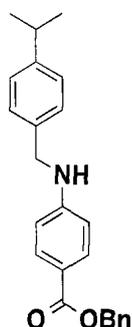


30 **4-(bencilamino)benzoato de terc-butilo (2a).** Derivado 2a se sintetizó de acuerdo con el procedimiento general c en (67 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,62 (s, 9H), 4,37 (d, J = 5,3 Hz, 2H), 4,76 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 6,54 - 6,63 (m, 2H), 7,26 - 7,41 (m, 5H), 7,84 - 7,94 (m, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-d) δ 28,27, 47,41, 79,74, 111,50, 120,25, 127,19, 127,26, 128,61, 131,25, 138,56, 151,50, 166,14. LRMS (ESI+) calculada para C₁₈H₂₂NO₂ [M + H]⁺ 284,15, observada 284,16.

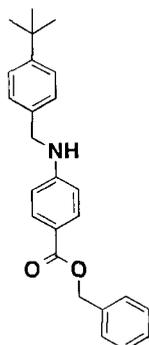
35



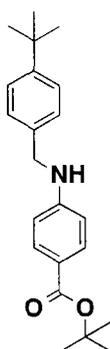
5 **4-((4-metilbencil)amino)benzoato de bencilo (2b)**. Derivado **2b** sintetizado de acuerdo con el procedimiento general c en (80 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,50 - 1,57 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 4,33 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H), 4,57 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 5,30 (d, *J* = 14,9 Hz, 6H), 6,55 - 6,63 (m, 2H), 7,17 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,24 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,29 - 7,43 (m, 3H), 7,45 (dt, *J* = 6,1, 1,6 Hz, 2H), 7,88 - 7,97 (m, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-d) δ 20,97, 47,24, 53,36, 65,83, 111,51, 118,22, 127,26, 127,84, 128,37, 129,31, 131,58, 135,17, 136,58, 137,06, 151,83, 166,50. LRMS (ESI+) calculada para C₂₂H₂₂NO₂ [M + H]⁺ 332,15, observada 332,17.



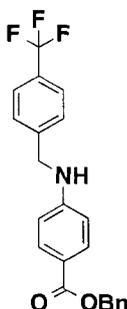
10 **4-((4-isopropilbencil)amino)benzoato de bencilo (2c)**. Derivado **2c** sintetizado de acuerdo con el procedimiento general c en (76 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,26 (d, *J* = 7,0 Hz, 6H), 2,91 (sept., *J* = 6,9 Hz, 1H), 4,34 (s, 2H), 4,53 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 6,59 (dd, *J* = 8,5, 1,2 Hz, 2H), 7,22 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,24 - 7,40 (m, 4H), 7,44 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,88 - 7,95 (m, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-d) δ 23,87, 33,68, 47,31, 65,82, 111,48, 118,30, 126,69, 127,39, 127,81, 127,84, 128,35, 131,59, 135,47, 136,56, 148,18, 151,76. LRMS (ESI+) calculada para C₂₄H₂₆NO₂ [M + H]⁺ 360,18, observada 360,18.



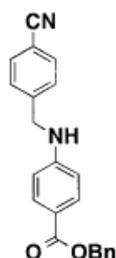
20 **4-((4-(terc-butil)bencil)amino)benzoato de bencilo (2d)**. El derivado **2d** se sintetizó de acuerdo con el procedimiento general c: RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,34 (s, 9H), 4,35 (s, 2H), 5,33 (s, 2H), 6,56 - 6,63 (m, 2H), 7,23 - 7,48 (m, 9H), 7,89 - 7,96 (m, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-d) δ 31,23, 34,41, 47,21, 65,82, 111,49, 118,29, 125,56, 127,13, 127,82, 127,85, 128,36, 131,60, 135,13, 151,79, 166,46. LRMS (ESI+) calculada para C₂₅H₂₈NO₂ [M + H]⁺ 374,20, observada 374,22.



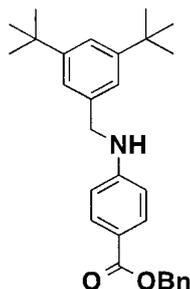
- 5 **4-((4-(*tert*-butil)benzil)amino)benzoato de *tert*-butilo (2d).** Derivado **2d** sintetizado de acuerdo con el procedimiento general c en (71 %): RMN ^1H (400 MHz, metanol- d_4) δ 1,29 (s, 5H), 1,54 (s, 5H), 4,32 (s, 1H), 6,56 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,26 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,35 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,62 - 7,70 (m, 1H). LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{NO}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 331,22, observada 331,24.



- 10 **4-((4-(trifluorometil)benzil)amino)benzoato de bencilo (2e).** Derivado **2e** sintetizado de acuerdo con el procedimiento general c en (71 %): LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{NO}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 386,13, observada 386,15.

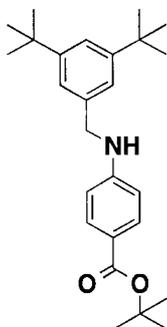


- 15 **4-((4-cianobencil)amino)benzoato de bencilo (2f).** Derivado **2f** sintetizado de acuerdo con el procedimiento general d en (60 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo- d) δ 1,24 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 2,02 (s, 1H), 4,10 (c, $J = 7,1$ Hz, 1H), 4,41 (d, $J = 4,4$ Hz, 2H), 4,72 (s, 1H), 5,12 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 5,27 (s, 2H), 6,52 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,23 - 7,46 (m, 8H), 7,54 (dd, $J = 8,1, 5,6$ Hz, 3H), 7,85 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo- d) δ 14,07, 46,77, 63,75, 65,90, 110,75, 111,65, 118,61 (d, $J = 19,5$ Hz), 126,87, 127,50, 127,85 (d, $J = 15,2$ Hz), 128,41, 131,58, 132,02, 132,33, 136,38, 144,38, 151,46, 166,51. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 343,13, observada 343,14.

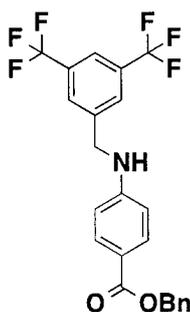


- 25 **4-((3,5-di-*tert*-butilbenzil)amino)benzoato de bencilo (2g).** Derivado **2g** sintetizado de acuerdo con el

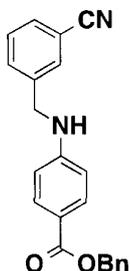
procedimiento general d en (60 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,26 (d, $J = 7,0$ Hz, 6H), 2,91 (sept., $J = 6,9$ Hz, 1H), 4,34 (s, 2H), 5,32 (s, 2H), 6,59 (dd, $J = 8,5, 1,2$ Hz, 2H), 7,22 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,24 - 7,40 (m, 4H), 7,44 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,88 - 7,95 (m, 2H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 23,87, 33,68, 47,31, 65,82, 111,48, 118,30, 126,69, 127,39, 127,81, 127,84, 128,35, 131,59, 135,47, 136,56, 148,18, 151,76. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{NO}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 430,26, observada 430,28.



10 **4-((3,5-di-*tert*-butilbencil)amino)benzoato de *tert*-butilo (2g)**. Derivado **2g** sintetizado de acuerdo con el procedimiento general d en (85 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,47 (s, 18H), 1,68 (s, 9H), 4,43 (d, $J = 5,1$ Hz, 2H), 4,67 (t, $J = 5,3$ Hz, 1H), 6,66 - 6,73 (m, 2H), 7,32 (d, $J = 1,8$ Hz, 2H), 7,50 (t, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,93 - 8,00 (m, 2H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 28,34, 31,49, 34,82, 48,43, 79,64, 111,45, 120,27, 121,47, 121,90, 131,32, 137,58, 151,18, 151,74, 166,15. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{NO}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 396,28, observada 396,30.

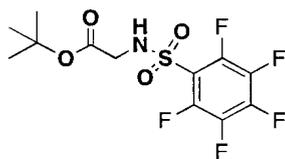


15 **4-((3,5-bis(trifluorometil)bencil)amino)benzoato de bencil (2h)**. Derivado **2h** sintetizado de acuerdo con el procedimiento general c en (41 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 4,53 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H), 4,71 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 5,31 (s, 2H), 6,52 - 6,61 (m, 2H), 7,27 - 7,39 (m, 3H), 7,39 - 7,46 (m, 2H), 7,80 (s, 3H), 7,87 - 7,96 (m, 2H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 46,80, 65,99, 111,75, 119,52, 121,39, 127,01, 127,86, 127,89, 128,37, 131,66, 132,13, 136,35, 141,29, 150,87, 166,27. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{F}_6\text{NO}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 454,12, observada 454,15.

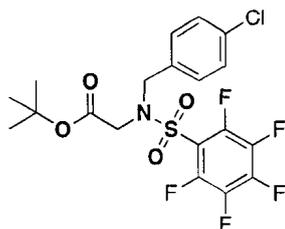


25 **4-((3-cianobencil)amino)benzoato de bencil (2i)**. Derivado **2i** sintetizado de acuerdo con el procedimiento general d en (83 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,24 (c, $J = 7,6, 7,1$ Hz, 1H), 3,49 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 4,38 (d, $J = 5,7$ Hz, 3H), 4,67 (d, $J = 2,9$ Hz, 3H), 5,14 (d, $J = 4,9$ Hz, 2H), 5,26 (s, 3H), 6,49 - 6,57 (m, 3H), 7,23 - 7,39 (m, 5H), 7,34 - 7,43 (m, 5H), 7,44 - 7,63 (m, 11H), 7,80 - 7,88 (m, 3H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 46,40, 63,43, 65,96, 111,68, 111,95, 112,33, 118,40, 127,78, 127,94, 128,42, 129,06, 129,42, 129,96, 130,36, 130,76, 130,89, 130,99, 131,49, 131,60, 136,33, 140,30, 142,65, 151,50, 166,67. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 343,13, observada 343,16.

30

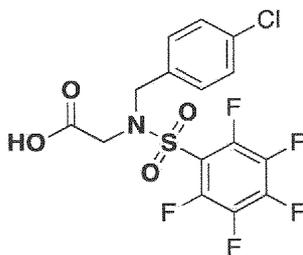


- 5 **((perfluorofenil)sulfonyl)glicinato de terc-butilo (3)**. Derivado **3** sintetizado usando el procedimiento general **e** (71 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,40 (s, 9H, $COO(CH_3)_3$), 3,93 (s, 2H, CH_2), 5,54 (s, 1H, NH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 27,5, 45,1, 82,8, 115,6, 136,5, 144,8, 145,9, 167,0; LRMS (ESI+) calculada para $C_{12}H_{12}F_5NO_4S$ $[M + H]^+$ 361,0, observada 362,1.

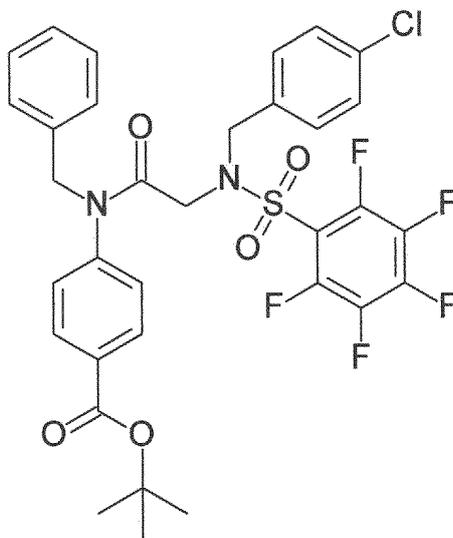


- 10 **N-(4-clorobencil)-N-((perfluorofenil)sulfonyl)glicinato de terc-butilo (4)**. Derivado **4** sintetizado usando el procedimiento general **f** (71 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,37 (s, 9H, $(CH_3)_3$), 3,93 (s, 2H, CH_2), 4,57 (s, 2H, CH_2), 7,24 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH), 7,33 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 27,5, 52,5, 53,0, 81,8, 112,6, 126,5, 130,1, 132,4, 134,3, 136,5, 144,8, 145,9, 167,0; LRMS (ESI+) calculada para $C_{19}H_{17}F_5ClNO_4S$ $[M + H]^+$ 485,0, observada 486,1.

15



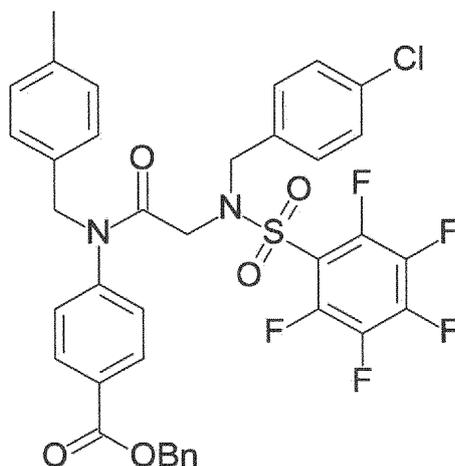
- 20 **N-(4-clorobencil)-N-((perfluorofenil)sulfonyl)glicina (5)**. Derivado **5** sintetizado usando el procedimiento general **g** (92 %): δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 4,13 (s, 2H, CH_2), 4,58 (s, 2H, CH_2), 7,25 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, CH), 7,35 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, CH); δ_C (400 MHz, $CDCl_3$) 52,8, 54,2, 112,6, 126,5, 130,1, 132,4, 134,3, 136,5, 144,8, 145,9, 172,0; LRMS (ESI+) calculada para $C_{15}H_9F_5ClNO_4S$ $[M + H]^+$ 428,9, observada 429,9.



25 Ejemplo 5

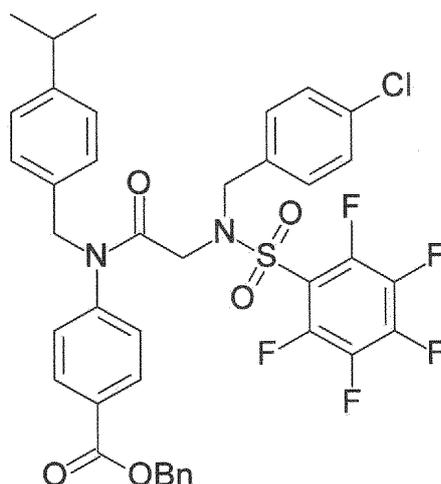
4-(N-bencil-2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)acetamido)benzoato de terc-butilo

(6a). Derivado **6a** sintetizado usando el procedimiento general h (61 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,25 (s, 3H), 1,56 (s, 27H), 2,04 (s, 1H), 3,72 (s, 3H), 4,65 (s, 4H), 4,72 (s, 6H), 6,79 (d, $J = 8,0$ Hz, 6H), 7,02 (dd, $J = 6,5, 2,9$ Hz, 6H), 7,18 (d, $J = 8,4$ Hz, 6H), 7,23 - 7,31 (m, 16H), 7,88 (d, $J = 8,1$ Hz, 6H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 27,93, 47,57, 50,51, 53,13, 81,66, 127,67, 127,85, 128,45, 128,57, 128,93, 129,89, 131,07, 132,72, 135,74, 143,14, 164,22, 165,62. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{F}_5\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 695,14, observada 695,16.



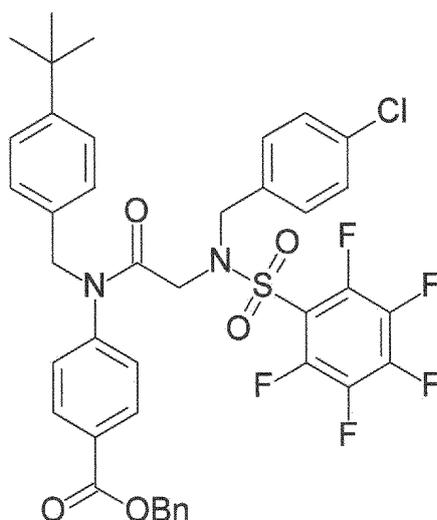
Ejemplo 6

10 **4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(4-metilbencil)acetamido)benzoato de bencilo (6b)**. Derivado **6b** sintetizado usando el procedimiento general h (68 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,27 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,05 (s, 1H), 2,33 (s, 5H), 3,73 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 4,13 (c, $J = 7,1$ Hz, 1H), 4,68 (d, $J = 12,0$ Hz, 5H), 5,34 (s, 3H), 6,83 (d, $J = 8,1$ Hz, 3H), 6,91 (d, $J = 7,8$ Hz, 3H), 7,08 (d, $J = 7,8$ Hz, 3H), 7,16 - 7,23 (m, 3H), 7,23 - 7,47 (m, 11H), 7,98 (d, $J = 8,2$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 20,98, 47,62, 50,54, 52,87, 66,97, 127,97, 128,16, 128,31, 128,51, 128,55, 128,94, 129,14, 129,91, 130,46, 131,34, 132,66, 132,76, 134,25, 135,46, 137,66, 143,77, 164,96, 165,49. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{37}\text{H}_{29}\text{ClF}_5\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 743,13, observada 743,15.



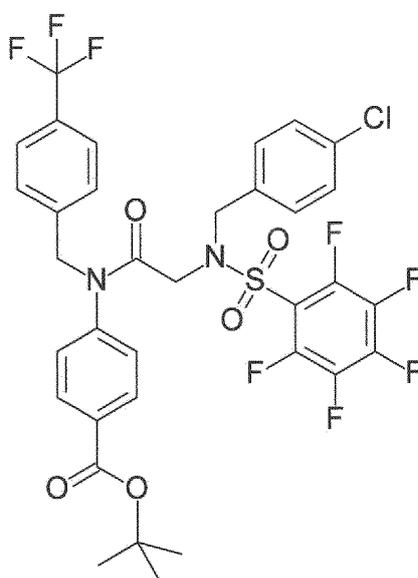
Ejemplo 7

25 **Bencil-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(4-isopropilbencil)acetamido)benzoato (6c)**. Derivado **6c** sintetizado usando el procedimiento general h (55 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 0,88 (dt, $J = 11,6, 7,3$ Hz, 1H), 1,25 (d, $J = 6,9$ Hz, 12H), 2,90 (p, $J = 6,9$ Hz, 2H), 3,73 (s, 2H), 4,68 (d, $J = 13,2$ Hz, 6H), 5,35 (s, 4H), 6,82 (d, $J = 8,1$ Hz, 3H), 6,95 (d, $J = 7,9$ Hz, 3H), 7,11 - 7,21 (m, 7H), 7,26 (d, $J = 3,1$ Hz, 4H), 7,29 - 7,47 (m, 9H), 7,98 (d, $J = 8,1$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 23,78, 33,65, 47,61, 50,50, 52,93, 66,99, 126,51, 127,95, 128,17, 128,32, 128,52, 128,56, 128,94, 129,93, 130,46, 131,34, 132,69, 132,97, 135,45, 143,87, 148,66, 164,99, 165,47. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{39}\text{H}_{33}\text{ClF}_5\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 771,16, observada 771,17.



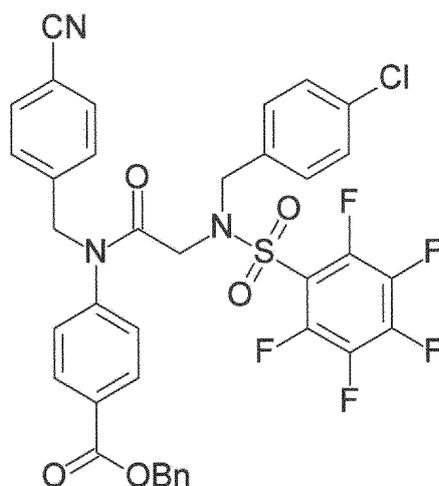
Ejemplo 8

- 5 **Bencil-4-(N-(4-(*terc*-butil)bencil)-2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)acetamido)benzoato (6d)**. Derivado **6d** sintetizado usando el procedimiento general h (71 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,31 (d, J = 1,3 Hz, 10H), 3,72 (s, 1H), 4,67 (d, J = 13,0 Hz, 4H), 5,34 (s, 2H), 6,82 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 6,95 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,18 (d, J = 8,0 Hz, 3H), 7,24 - 7,37 (m, 7H), 7,37 - 7,42 (m, 4H), 7,44 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 8,1 Hz, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-d) δ 31,14, 34,41,47,59, 50,48, 52,85, 67,00, 125,35, 127,93, 128,17, 128,24, 128,33, 128,52, 128,94, 129,93, 131,35, 132,57, 132,66, 134,27, 135,42, 143,90, 165,00, 165,45. LRMS (ESI+) calculada para C₄₀H₃₅ClF₅N₂O₅S [M + H]⁺ 785,18 encontrada 785,21.



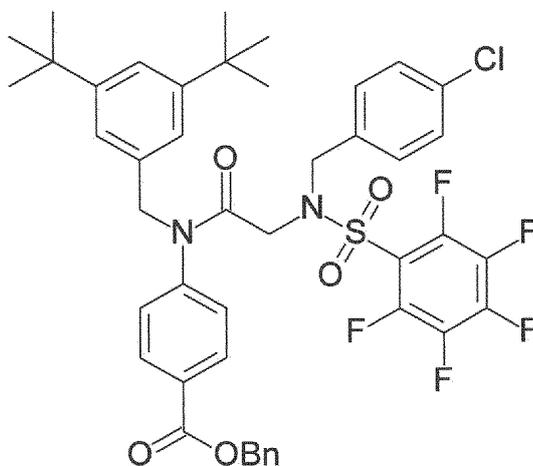
15 Ejemplo 9

- terc*-butil-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(4-(trifluorometil)bencil)acetamido)benzoato (6e). Derivado **6e** sintetizado usando el procedimiento general h (77 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,57 (s, 5H), 3,75 (s, 1H), 4,63 (s, 1H), 4,77 (s, 1H), 6,83 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,18 (dd, J = 8,2, 4,0 Hz, 2H), 7,27 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,55 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,92 (d, J = 8,2 Hz, 1H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-d) δ 27,92, 47,60, 50,51, 52,76, 77,06, 81,81, 125,44, 125,48, 127,50, 128,78, 128,97, 129,84, 131,31, 132,59, 132,68, 134,36, 139,71, 142,91, 166,03. LRMS (ESI+) calculada para C₃₄H₂₈ClF₈N₂O₅S [M + H]⁺ 763,12 encontrada 763,15.



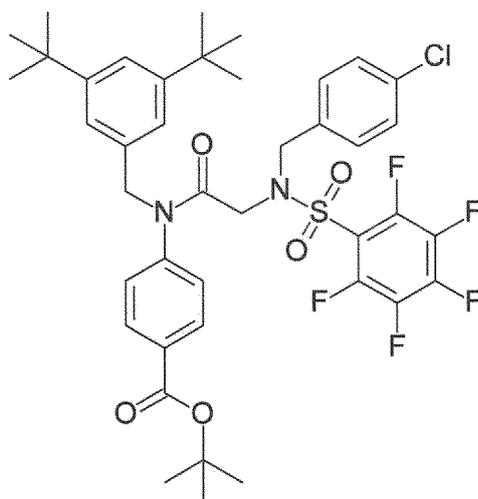
Ejemplo 10

- 5 **Bencil-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(4-cianobencil)acetamido)benzoato (6f)**. Derivado **6f** sintetizado usando el procedimiento general **h** (60 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo- d) δ 1,25 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 2,04 (s, 1H), 3,77 (s, 1H), 4,62 (s, 2H), 4,78 (s, 2H), 5,34 (s, 2H), 6,86 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,17 (dd, J = 8,4, 2,6 Hz, 4H), 7,24 - 7,30 (m, 2H), 7,30 - 7,45 (m, 5H), 7,55 - 7,62 (m, 2H), 7,97 - 8,05 (m, 2H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo- d) δ 47,67, 50,55, 52,85, 67,10, 127,65, 128,19, 128,37, 128,53, 128,99, 129,09, 129,82, 130,92, 131,67, 132,33, 132,51, 134,40, 135,32, 140,93, 143,34, 164,71, 166,16. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{37}\text{H}_{26}\text{ClF}_5\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 754,11 encontrada 754,15.



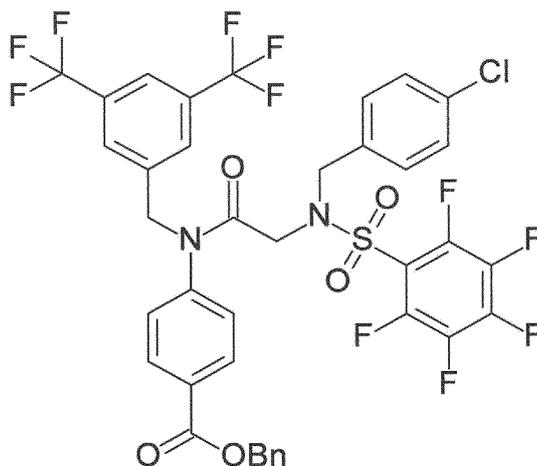
15 Ejemplo 11

- 20 **Bencil-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(3,5-di-terc-butylbencil)acetamido)benzoato (6g)**. Derivado **6g** sintetizado usando el procedimiento general **h** (84 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo- d) δ 0,82 - 0,93 (m, 1H), 1,24 - 1,37 (m, 25H), 3,71 (s, 2H), 4,62 (s, 2H), 4,74 (s, 3H), 5,35 (s, 3H), 6,75 (d, J = 8,0 Hz, 3H), 6,85 (s, 3H), 7,15 (d, J = 8,1 Hz, 3H), 7,24 (d, J = 8,1 Hz, 4H), 7,29 - 7,46 (m, 10H), 7,94 (d, J = 8,0 Hz, 3H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo- d) δ 31,18, 34,56, 47,70, 50,27, 53,34, 66,94, 121,51, 123,13, 128,05, 128,09, 128,28, 128,51, 128,92, 129,97, 131,11, 132,59, 134,31, 134,47, 135,47, 150,98, 165,27. LRMS (ESI+) calculada para $\text{C}_{44}\text{H}_{43}\text{ClF}_5\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 841,24 encontrada 841,27.



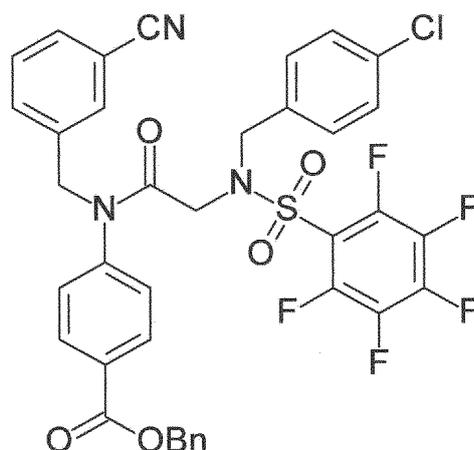
Ejemplo 12

- 5 **4-(2-((N-(4-clorobenzil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(3,5-di-*tert*-butilbencil)acetamido)benzoato de *tert*-butilo (6g)**. RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 1,24 (s, 18H), 1,56 (s, 9H), 3,52 - 3,87 (m, 2H), 4,61 (s, 2H), 4,74 (d, *J* = 12,3 Hz, 2H), 6,71 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 6,81 - 6,87 (m, 2H), 7,14 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,20 - 7,34 (m, 3H), 7,84 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-*d*) δ 27,94, 31,16, 34,55, 47,68, 50,26, 53,34, 81,60, 121,45, 123,10, 127,83, 128,91, 129,97, 130,81, 132,22, 132,62, 134,28, 134,55, 10
150,92, 164,26, 165,33. LRMS (ESI+) calculada para C₄₁H₄₅ClF₅N₂O₅S [M + H]⁺ 807,26 encontrada 807,29.



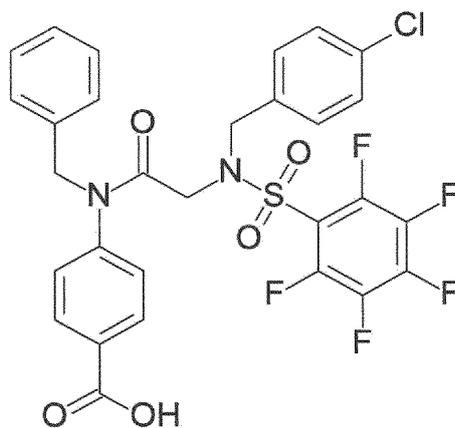
Ejemplo 13

- 15 **Bencil-4-(N-(3,5-bis(trifluorometil)bencil)-2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)acetamido)benzoato (6h)**. Derivado 6h sintetizado usando el procedimiento general h (89 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 0,81 - 0,94 (m, 1H), 1,21 - 1,32 (m, 3H), 2,04 (s, 1H), 3,46 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 4,13 (dt, *J* = 14,3, 7,6 Hz, 1H), 4,55 (d, *J* = 17,3 Hz, 2H), 4,62 (s, 4H), 4,87 (s, 5H), 5,32 (d, *J* = 18,0 Hz, 6H), 6,86 (d, *J* = 8,1 Hz, 5H), 7,17 (d, *J* = 8,3 Hz, 6H), 7,23 - 7,33 (m, 7H), 7,33 - 7,46 (m, 15H), 7,57 (s, 5H), 7,81 (d, *J* = 9,5 Hz, 4H), 7,90 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 8,02 (d, *J* = 8,2 Hz, 5H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-*d*) δ 46,75, 47,54, 50,35, 52,41, 65,94, 67,11, 111,72, 119,44, 121,50, 121,87, 124,21, 127,04, 127,51, 127,84, 128,14, 128,35, 128,39, 128,42, 128,52, 129,03, 129,82, 131,07, 131,45, 131,62, 131,79, 132,12, 132,40, 134,48, 135,32, 138,44, 143,28, 20
164,65, 166,42. LRMS (ESI+) calculada para C₃₈H₂₅ClF₁₁N₂O₅S [M + H]⁺ 865,09 encontrada 865,12.
- 25



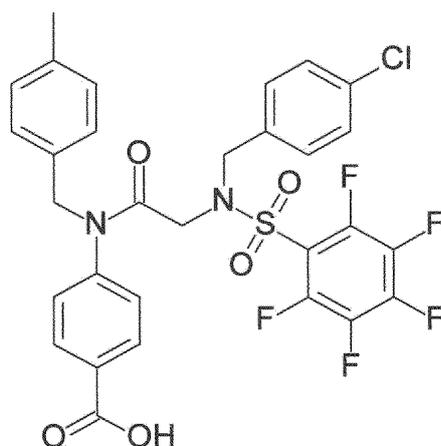
Ejemplo 14

- 5 **Bencil-4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(3-cianobencil)acetamido)benzoato (6i).** Derivado **6i** sintetizado usando el procedimiento general h (63 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 1,20 - 1,29 (m, 2H), 2,03 (s, 2H), 3,77 (s, 2H), 4,11 (c, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,62 (s, 2H), 4,76 (s, 3H), 5,34 (s, 3H), 6,85 (d, *J* = 8,1 Hz, 3H), 7,18 (d, *J* = 8,2 Hz, 3H), 7,28 (d, *J* = 8,3 Hz, 3H), 7,30 - 7,46 (m, 12H), 7,58 (dc, *J* = 7,8, 1,2 Hz, 2H), 8,00 (d, *J* = 8,2 Hz, 3H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-*d*) δ 47,66, 50,48, 52,47, 67,08, 112,71, 127,66, 128,16, 128,34, 128,52, 129,00, 129,46, 129,83, 130,90, 131,62, 131,67, 131,83, 132,51, 132,81, 134,37, 135,35, 136,39, 137,35, 143,34, 164,71, 166,15. LRMS (ESI+) calculada para C₃₇H₂₆ClF₅N₃O₅S [M + H]⁺ 754,11 encontrada 754,14.



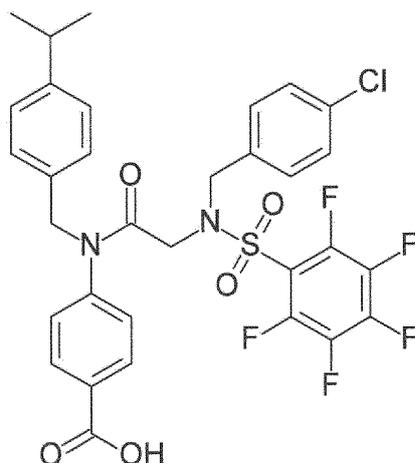
15 Ejemplo 15

- 20 **Ácido 4-(N-bencil-2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)acetamido)benzoico (7a):** Derivado **7a** sintetizado usando el procedimiento general i (45 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 3,75 (s, 2H), 4,65 (s, 2H), 4,74 (s, 2H), 6,68 - 6,90 (m, 2H), 6,90 - 7,14 (m, 2H), 7,19 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,26 - 7,41 (m, 5H), 7,98 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 11,25 (s, 1H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-*d*) δ 20,66, 47,64, 50,50, 53,22, 127,86, 127,96, 128,04, 128,47, 128,52, 128,64, 128,80, 128,96, 129,93, 131,83, 131,99, 132,61, 134,33, 135,52, 143,38, 143,46, 144,33, 165,69, 170,43.



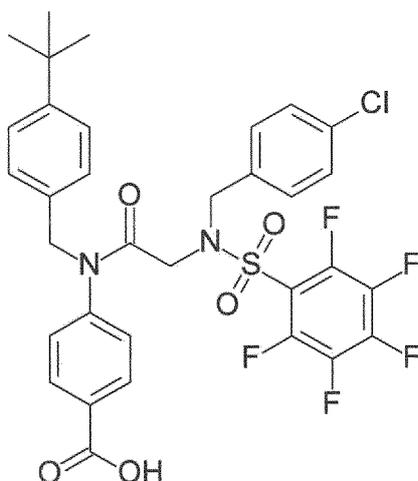
Ejemplo 16

- 5 **Ácido 4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(4-metilbencil)acetamido)benzoico (7b).** Derivado **7b** sintetizado usando el procedimiento general i (53 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 2,11 (s, 6H), 2,33 (s, 3H), 3,74 (s, 1H), 4,70 (s, 4H), 6,77 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,80 - 6,95 (m, 3H), 7,08 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 7,16 - 7,35 (m, 5H), 7,96 (dd, $J = 22,4, 8,1$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 20,64, 20,97, 47,62, 50,51, 51,04, 52,87, 128,03, 128,34, 128,51, 128,67, 128,78, 128,95, 129,14, 129,92, 131,66, 131,79, 132,57, 133,98, 137,64, 144,46, 165,70, 170,35, 177,40. HRMS (ESI-) calculada para $[\text{C}_{30}\text{H}_{21}\text{ClF}_5\text{N}_2\text{O}_6\text{S}]^-$ 651,0785, encontrada 651,0791;



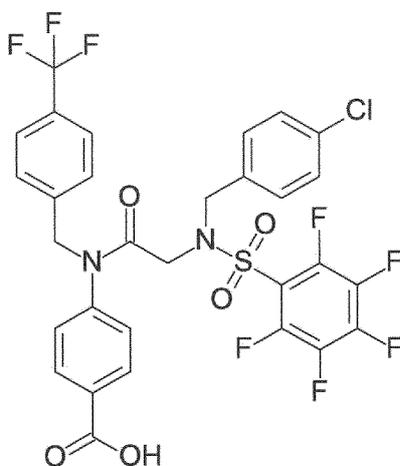
15 Ejemplo 17

- Ácido 4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(4-isopropilbencil)acetamido)benzoico (7c).** Derivado **7c** sintetizado usando el procedimiento general i (69 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,24 (dd, $J = 11,6, 7,0$ Hz, 7H), 2,06 (d, $J = 18,9$ Hz, 2H), 2,80 - 2,94 (m, 1H), 3,47 (s, 6H), 3,72 (s, 1H), 4,11 (c, $J = 7,1$ Hz, 1H), 4,63 (s, 2H), 4,68 (s, 2H), 6,81 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,94 (dd, $J = 7,9, 4,0$ Hz, 2H), 7,15 (dd, $J = 19,3, 8,0$ Hz, 3H), 7,23 - 7,33 (m, 2H), 7,88 - 8,00 (m, 2H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 14,00, 20,59, 20,87, 23,74, 33,63, 47,62, 50,48, 50,50, 52,97, 53,26, 60,33, 77,08, 116,11, 116,26, 126,49, 127,93, 128,53, 128,66, 128,75, 128,93, 129,94, 130,22, 131,55, 131,67, 132,63, 132,88, 134,29, 136,40, 138,94, 142,39, 143,43, 144,13, 144,99, 146,04, 148,68, 165,54, 169,00, 171,22, 176,02. HRMS (ESI-) calculada para $[\text{C}_{32}\text{H}_{25}\text{ClF}_5\text{N}_2\text{O}_5\text{S}]^-$ 679,1098, observada 679,1105.



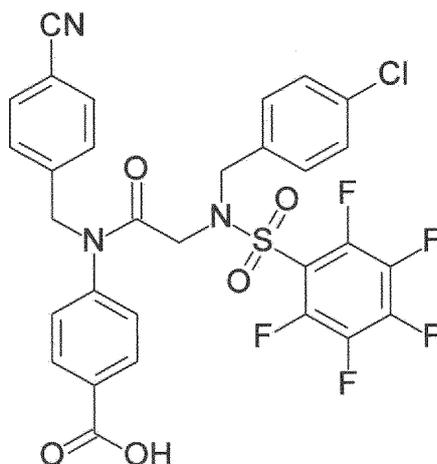
Ejemplo 18

- 5 **Ácido** **4-(N-(4-(*tert*-butil)benzil)-2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)acetamido)benzoico (7d)**. Derivado **7d** sintetizado usando el procedimiento general i (63 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 1,30 (s, 9H), 3,65 - 3,82 (s, 2H), 4,65 (s, 2H), 4,69 (s, 2H), 6,84 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 6,95 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,17 (s, 2H), 7,27 (dd, *J* = 13,5, 7,9 Hz, 5H), 7,97 (s, 1H), 10,22 (s, 1H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-*d*) δ 31,12, 34,39, 47,63, 50,48, 52,95, 116,12, 125,35, 127,95, 128,22, 128,93, 129,96, 131,79, 132,49, 132,65, 134,27, 143,50, 144,24, 165,61. HRMS (ESI-) calculada para [C₃₃H₂₇ClF₅N₂O₅S]⁻ 693,1255, observada 693,1270.



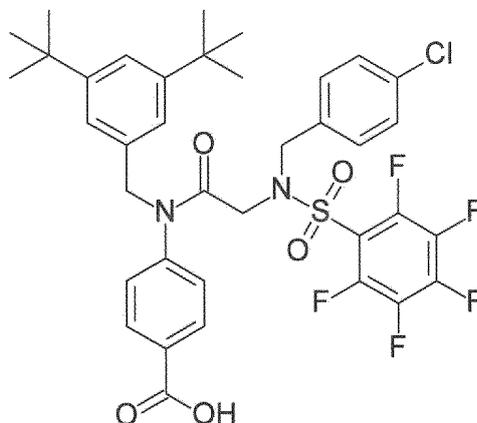
15 Ejemplo 19

- Ácido** **4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(4-(trifluorometil)benzil)acetamido)benzoico (7e)**. Derivado **7e** sintetizado usando el procedimiento general i (95 %): RMN ¹H (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 3,87 (s, 2H), 4,61 (s, 2H), 4,86 (s, 2H) 7,02 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,21 - 7,35 (m, 7H), 7,58 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,95 (dd, *J* = 8,4, 1,5 Hz, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, MeOD) δ 47,91, 50,61, 52,16, 124,91, 124,95, 127,68, 128,45, 128,68, 129,83, 130,94, 131,03, 131,09, 131,18, 131,50, 133,29, 133,78, 140,61, 166,49, 166,83. HRMS (ESI-) calculada para [C₃₀H₁₈ClF₈N₂O₅S]⁻ 705,0503, observada 705,0513.



Ejemplo 20

- 5 **Ácido 4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(4-cianobencil)acetamido)benzoico (7f)**. Derivado **7f** sintetizado usando el procedimiento general i (54 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 0,86 (t, J = 10,5 Hz, 4H), 1,25 (s, 10H), 1,42 (s, 2H), 2,10 (s, 7H), 3,78 (s, 3H), 4,59 - 4,67 (m, 4H), 4,78 (s, 4H), 6,80 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 6,89 (d, J = 7,9 Hz, 3H), 7,18 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 7H), 7,29 (dd, J = 18,1, 10,1 Hz, 12H), 7,59 (d, J = 7,9 Hz, 6H), 7,77 (s, 1H), 7,99 (dd, J = 22,5, 7,9 Hz, 6H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 20,72, 22,53, 29,54, 47,66, 50,54, 51,04, 52,90, 77,07, 112,00, 116,09, 118,14, 127,68, 128,48, 128,61, 128,83, 129,00, 129,05, 129,85, 131,97, 132,10, 132,33, 132,36, 132,45, 133,78, 134,46, 136,37, 138,95, 140,85, 140,97, 143,44, 143,83, 145,95, 166,22, 166,32, 169,86, 177,13. HRMS (ESI-) calculada para $[\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{ClF}_5\text{N}_3\text{O}_5\text{S}]^-$ 662,0581, observada 662,0590.

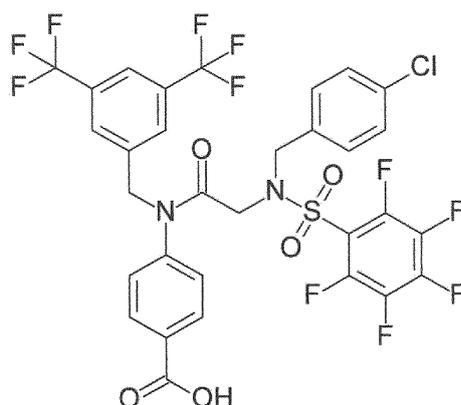


15

Ejemplo 21

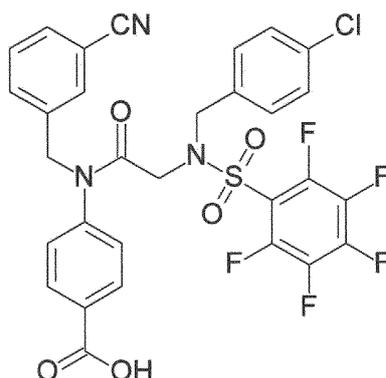
- 20 **Ácido 4-(2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(3,5-di-terc-butilbencil)acetamido)benzoico (7g)**. Derivado **7g** sintetizado usando el procedimiento general i (78 %): RMN ^1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 1,24 (d, J = 1,1 Hz, 10H), 4,62 (s, 1H), 4,75 (s, 1H), 6,77 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 7,15 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,18 - 7,28 (m, 2H), 7,28 - 7,34 (m, 1H), 7,96 (d, J = 8,0 Hz, 1H). RMN ^{13}C (101 MHz, cloroformo-d) δ 31,32, 34,72, 47,87, 50,42, 53,54, 77,21, 121,73, 123,33, 128,41, 129,09, 130,15, 131,74, 132,69, 134,51, 146,24, 151,19, 165,39, 169,84. HRMS (ESI-) calculada para $[\text{C}_{37}\text{H}_{35}\text{ClF}_5\text{N}_2\text{O}_5\text{S}]^-$ 749,1881, observada 749,1902.

25



Ejemplo 22

- 5 **Ácido 4-((N-(3,5-bis(trifluorometil)encil)-2-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)acetamido)benzoico (7h).** Derivado 7h sintetizado usando el procedimiento general i (86 %): RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-d) δ 2,12 (s, 6H), 3,81 (s, 4H), 4,64 (d, J = 10,9 Hz, 5H), 4,88 (d, J = 2,9 Hz, 6H), 6,78 (d, J = 8,1 Hz, 3H), 6,89 (d, J = 8,1 Hz, 3H), 7,14 - 7,25 (m, 6H), 7,25 - 7,35 (m, 8H), 7,56 (d, J = 1,6 Hz, 6H), 7,82 (d, J = 6,8 Hz, 4H), 8,01 (dd, J = 26,3, 8,2 Hz, 6H). RMN ¹³C (101 MHz, cloroformo-d) δ 20,61, 47,54, 50,36, 50,88, 52,40, 52,46, 111,76, 121,48, 121,90, 124,19, 127,66, 128,43, 128,53, 128,61, 128,88, 129,04, 129,85, 130,07, 131,83, 132,12, 132,26, 132,33, 133,66, 138,28, 138,35, 143,90, 144,00, 166,47, 166,56, 170,12, 177,61. HRMS (ESI-) calculada para [C₃₁H₁₇ClF₁₁N₂O₅S]⁻ 773,0377, observada 773,0387.



15

Ejemplo 23

- 20 **Ácido 4-((N-(4-clorobencil)-2,3,4,5,6-pentafluorofenil)sulfonamido)-N-(3-cianobencil)acetamido)benzoico (7i).** Derivado 7i sintetizado usando el procedimiento general i (67 %): RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3,96 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,84 (s, 2H), 7,25 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 7,35 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,39 - 7,51 (m, 2H), 7,58 (s, 1H), 7,69 (dt, J = 7,4, 1,6 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 13,10 (s, 1H). RMN ¹³C (101 MHz, DMSO-d₆) δ 28,27, 49,34, 51,31, 51,79, 111,72, 118,86, 128,32, 128,78, 128,29, 129,88, 130,35, 131,01, 131,08, 131,11, 131,09, 131,57, 132,90, 133,09, 134,44, 138,51, 166,58, 166,69. HRMS (ESI-) calculada para [C₃₀H₁₈ClF₅N₃O₅S]⁻ 662,0581, observada 662,0581.

25

Ejemplo 2: Exploración de cinasa DiscoverX

- El perfil de cinasa KINOMEscan se realizó como se ha descrito anteriormente (Fabian *et al.*, 2005; Karaman *et al.*, 2008). Para la mayoría de los ensayos, las cepas de fago T7 marcadas con cinasa se cultivaron en paralelo en bloques de 24 pocillos en un hospedador de *E. coli* procedente de la cepa BL21. Se cultivaron *E. coli* hasta la fase logarítmica y se infectaron con el fago T7 de una reserva congelada (multiplicidad de infección = 0,4) y se incubaron con agitación a 32 °C hasta la lisis (90-150 minutos). Los lisados se centrifugaron (6000 x g) y se filtraron (0,2 μm) para eliminar residuos celulares. Las cinasas restantes se produjeron en células HEK-293 y posteriormente se marcaron con ADN para detección de qPCR como se ha descrito previamente (Wodicka *et al.*, 2010). Se trataron microesferas magnéticas recubiertas con estreptavidina con ligandos biotinilados de molécula pequeña durante 30 minutos a temperatura ambiente para generar resinas de afinidad para ensayos de cinasa. Las perlas con ligando se bloquearon con exceso de biotina y se lavaron con tampón de bloqueo (SeaBlock (Pierce), BSA al 1 %, Tween 20 al 0,05 %, DTT 1 mM) para eliminar el ligando no unido y reducir la unión de fagos inespecífica. Las reacciones de unión se ensamblaron combinando cinasas, perlas de afinidad con ligandos y compuestos de ensayo en tampón de unión 1x (SeaBlock al 20 %, PBS 0,17x, Tween 20 al 0,05 %, DTT 6 mM). **13a** se preparó como reservas 40x en

40

DMSO al 100 % y se diluyó directamente en el ensayo. Todas las reacciones se realizaron en placas de polipropileno de 384 pocillos en un volumen final de 0,04 ml. Las placas de ensayo se incubaron a temperatura ambiente con agitación durante 1 hora y las perlas de afinidad se lavaron con tampón de lavado (PBS 1x, Tween 20 al 0,05 %). Las perlas se resuspendieron después en tampón de elución (PBS 1x, Tween 20 al 0,05 %, ligando de afinidad no biotinilado 0,5 μ M) y se incubó a temperatura ambiente con agitación durante 30 minutos. La concentración de cinasa en los eluidos se midió mediante qPCR y los datos se presentaron como % de Ctrl (**Figura 1**). También se representan datos para **13a** en un dendrograma TreeSpot para mayor simplicidad (**Figura 1**).

Análisis

Para determinar la selectividad de **13a** para STAT5, la actividad cinasa fuera del objetivo se exploró como una posible diana alternativa para un efector de la fosforilación de STAT5. **13a** se evaluó contra 120 cinasas representativas que abarcan la diversidad de las familias de cinasas (DiscoverX). Se usó PCR cuantitativa ultrasensible (qPCR) para medir los niveles de cinasas inmovilizadas después del tratamiento con **13a** a 5 μ M. **13a** mostró efectos insignificantes contra el banco de cinasas y, en particular, contra las cinasas activadoras de STAT5 corriente arriba, JAK 1/2, ABL y FLT-3. Estos datos indican que la inhibición de la fosforilación de STAT5 se debe a la interacción con el dominio SH2 de STAT5 y no a través de la inhibición de las cinasas corriente arriba.

Ejemplo 3: Estudios de resonancia de plasmón superficial (RPS).

Se investigaron las interacciones de STAT3 y STAT5 marcados con His con moléculas pequeñas usando espectroscopia de RPS. Los experimentos de unión se llevaron a cabo en un biosensor ProteOn XPR36 (Bio-Rad) a 25 °C usando el chip sensor HTE (Bio-Rad, Ontario, Canadá). Las celdas de flujo del chip sensor se cargaron con una solución de níquel a 30 μ l/min durante 120 s para saturar la superficie de Tris-NTA con iones Ni(II). Se inyectaron STAT3 y STAT5 marcados con His purificada (SignalChem, Columbia Británica, Canadá) en tampón PBST (PBS con Tween-20 al 0,005 % (v/v) y DMSO 0,001 % pH 7,4) en el primer y segundo canal del chip respectivamente, en la dirección vertical a un caudal de 25 μ g/ μ l durante 300 s, que alcanzó, en promedio, ~8000 unidades de resonancia (UR). Después de un lavado con tampón de PBST, se supervisó la unión de los compuestos (**13a-d**) con las proteínas inmovilizadas inyectando un intervalo de concentraciones junto con un blanco a un caudal de 100 μ l/min durante 200 s para cada uno de estos compuestos. Cuando se completó la inyección de los compuestos, se permitió que el tampón de ejecución fluyera sobre los sustratos inmovilizados para que los inhibidores unidos de manera inespecífica se disociaran durante 600 s. Tras la disociación de los compuestos, la superficie del chip se regeneró con una inyección de NaCl 1 M a un caudal de 100 μ l/min durante 18 s. La referencia de canal entre puntos se usó para correcciones de unión inespecíficas y el canal en blanco usado con cada inyección de analito actuó como una referencia doble para corregir la posible deriva del valor inicial. Los datos se analizaron usando software ProteOn Manager versión 3.1. Se usó el modelo de unión Langmuir 1:1 para determinar los valores de K_D . Ya se ha informado de experimentos de control que validan este protocolo. Se realizaron experimentos de unión a múltiples concentraciones, **13b, d** (5, 1,67, 0,56, 0,19 μ M, siendo la línea superior 5) y **13c** (10, 3,3, 1,1, 0,37 μ M, siendo la línea superior 10) en la figura 2.

Análisis

Se llevaron a cabo experimentos de unión de RPS para medir la asociación y disociación cinética usando un ProteOn XPR36 (Biorad) con STAT5 y STAT3 marcados con His (SignalChem) inmovilizados en un chip biosensor. Los inhibidores presentaron afinidades de unión nanomolar para STAT5 y selectividad para el STAT5 en lugar de la proteína STAT3. El compuesto 13a presentó la K_D (k_{off}/k_{on}) más potente de $41,9 \pm 4$ nM con selectividad de 7 veces para STAT5 frente a STAT3, $K_D = 287 \pm 29$ nM.

Ejemplo 4: Ensayo de polarización de fluorescencia

La unión de los compuestos de la divulgación con el dominio STAT5b SH2 se evaluó usando ensayos de polarización de fluorescencia similares a los señalados previamente.¹⁵ También se realizaron ensayos análogos con la proteína STAT3 para determinar la especificidad de los compuestos (**13a-d**). Se realizaron ensayos de fluorescencia en placas planas negras de 384 pocillos (Corning) y se tomaron mediciones de polarización de fluorescencia con la máquina Infinite M1000 (Tecan, Crailsheim, Alemania). Las condiciones de tampón para todos los ensayos fueron HEPES 20 mM, NaCl 50 mM, EDTA 1 mM, ditiotritol 2 mM, pH 7,5 y la concentración final de DMSO en los pocillos se mantuvo constante al 10 %.

Las curvas de calibración para las proteínas STAT3 y STAT5b de tipo silvestre se obtuvieron incubando una concentración final de 10 nM de fosfopéptido fluoresceinado (5-FAM-pYLPQTC (SEQ ID NO: 1) y 5-FAM-GpYLVLDKW (SEQ ID NO: 2) para STAT3 y STAT5B, respectivamente), que se sabe que se unen con los dominios SH2, con concentraciones crecientes de proteína (como se muestra en la **figura 3**). El punto en el que se unió el 80 % del fosfopéptido fluoresceinado se usó como la concentración óptima de proteína necesaria para los ensayos competitivos de polarización fluorescente.

Para los ensayos de polarización de fluorescencia de STAT5b, el péptido 5-FAM-GpYLVLDKW (SEQ ID NO: 2) y la

proteína STAT5b se incubaron primero durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los compuestos se valoraron a concentraciones que variaban de 1 a >60.000 nM y se incubaron durante 15 minutos más, momento en el que se tomaron medidas de polarización de fluorescencia por triplicado. Las concentraciones finales de los pocillos del fosfopéptido fluoresceinado y STAT5B fueron 10 nM y 250 nM, respectivamente. Se usó el mismo protocolo para los ensayos de PF de STAT3 análogos, excepto que el péptido 5-FAM-pYLPQTC (SEQ ID NO: 1) se usó como sonda y la concentración final de STAT3 fue de 150 nM en cada pocillo.

Las medidas de polarización de fluorescencia resultantes se normalizaron y se representaron frente a la concentración del compuesto en una escala logarítmica. Los datos en bruto se ajustaron con una curva de inhibición de respuesta normalizada con respecto a la dosis convencional usando el software GraphPad Prism 6. Los valores de CI_{50} se convirtieron en valores de K_i usando la **ecuación 1**, que corrige la concentración de proteínas y es una determinación más precisa de las constantes inhibitoras en un ensayo de polarización de fluorescencia que la ecuación de Cheng-Prusoff.¹⁵ Todas las constantes inhibitoras y valores de K_i calculados se resumen en la **tabla 1**.

$$K_i = \frac{CI_{50}}{1 + \frac{[Péptido]}{K_d} + \frac{[Proteína]}{K_d}}$$

Ecuación 1: Ecuación de Cheng-Prusoff modificada que contiene un factor de corrección para la concentración de proteínas. Para los ensayos de STAT5b, [Péptido] = 10 nM, [Proteína] = 250 nM y K_d = 170 nM. Para los ensayos de STAT3, [Péptido] = 10 nM, [Proteína] = 160 nM y K_d = 105 nM.

Como se muestra en las figuras 4 y 5, los compuestos de la divulgación se evaluaron usando PF, en el que se descubrió que **13a** alteraba de manera potente las interacciones de fosfopéptido-STAT5B, K_i = 145 nM. Por otra parte, **13a** fue 1000 veces más selectivo para STAT5B que STAT3, con una K_i de STAT3 = 143 μ M.

Ejemplo 5: Líneas celulares y técnicas de cultivo

Se cultivaron células de eritroleucemia humana K562 y MV-4-11 en medio de dulbecco modificado por Iscove (Gibco) complementado con FBS al 10 % (Sigma). Se cultivaron líneas de carcinoma de mama MDA-MB-231 y MDA-MB-468 en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), complementado con FBS al 10 % (sigma). Para regulación negativa de la actividad de STAT5, las células se trataron con 5, 10, 15, 20 μ M de compuestos de STAT5 **13a-d**, para puntos temporales de 3 h y 5 h. Como control, las células se trataron con el DMSO solo.

Como se muestra en las figuras 6 y 7, **13a** se evaluó para determinar la potencia de la célula completa frente a las líneas celulares CML y AML transformadas con STAT5, K562 (Bcr-Abl) y MV-4;11 (FLT3-ITD), respectivamente. La viabilidad celular se evaluó después del tratamiento a diversas concentraciones de inhibidor (0,78-50 μ M) usando un ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue (72 horas). En comparación con los inhibidores de STAT5 (**8j**, **8l**, **8v**, **8x**), los valores de CI_{50} para **13a-d** fueron 2-3 veces mayores en potencia, con actividades que variaban de 3 a 20 μ M (de apoyo). **13a**, presentó la actividad más potente en células MV4;11 impulsadas por FLT3-ITD, CI_{50} = 3,5 μ M.

Ejemplo 6: Transferencia de Western

Se cultivaron 1×10^6 células en matraces de cultivo celular de 25 cm (cellstar) y se trataron con inhibidor **13a**. Se extrajeron proteínas usando tampón RIPA con inhibidores de proteasa y fosfatos y se realizó una determinación cuidadosa de proteínas (kit de ensayo de proteínas BCA, Pierce). En cada ensayo, se resolvieron 30 μ g de extracto de células completas clarificadas en un gel de SDS de poliacrilamida al 10 % y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad). Las membranas se bloquearon con leche desnatada al 5 % durante al menos 1 h seguido de una incubación durante una noche en anticuerpo primario.

Se realizó inmunodetección usando anticuerpos contra el STAT5 total (Cell Signaling n.º 9363), STAT5 fosforilado (Tyr 694) (Cell Signaling, cat. n.º 9359), STAT3 total (Cell Signaling n.º 4904) y STAT3 fosforilado (Tyr 705) (Cell Signaling n.º 9661), caspase-3 escindida (Asp175) (Cell Signaling n.º 9661), Parp-1 escindido (ab72805) anti-ciclina D1 (Abcam ab16663), anti-ciclina-D2 (Abcam ab94685), anti-c-Myc (Abcam ab32072) y β -actina (Cell Signaling n.º 3700) como control de carga, seguido de anticuerpos secundarios de cabra conjugados fluorescentes Alexa Fluor 488 (Cell Signaling n.º 4408) y Alexa Fluor 647.

Como se muestra en la figura 8, **13a** medió en la inhibición de los niveles de fosforilación de STAT5. Las células de leucemia K652 se trataron con **13a** durante 5 horas, se recogieron las células y se determinaron los niveles de STAT5 fosforilado (Y694) (A). **13a** redujo pSTAT5 de una manera dependiente de la dosis y anuló pSTAT5 por encima de 10 μ M sin cambio en la concentración total de STAT5 o PARP-1 escindible. Sin embargo, se descubrió que las células K562 experimentan muerte celular (PARP-1 escindido, caspasa-3) a las 24 horas a 15 μ M, lo que indica que **13a** induce apoptosis como resultado de la inactivación de STAT5 (B). Para investigar la selectividad, se evaluaron células de cáncer de mama MDA-MB-231, que albergan alta actividad de pSTAT3 y baja de pSTAT5, para determinar la inhibición diferencial de pSTAT por **13a**. pSTAT3 no se inhibió a las dosis correspondientes a la inhibición de STAT5 dentro de la línea celular leucémica (C). Corriente abajo de STAT5, se evaluó la modulación de

las dianas transcripcionales de STAT5, MCL-1, CICLINAD1/D2 y MYC. Se razonó que **13a** debería disminuir la expresión génica e inducir apoptosis en 24 horas. Las células K562 se dosificaron con **13a** a las mismas concentraciones observadas para inhibición selectiva de STAT5. A las 5 horas, se observaron disminuciones dependientes de la dosis en MYC y atenuación completa de MCL-1 a las 24 horas (D).

5

Ejemplo 7 - Propiedades de ADME

La estabilidad metabólica del compuesto 13a se evaluó a través de una exploración de perfil de ADME en hepatocitos de ratón, como se muestra en las figuras 9-13. Se obtuvieron espectros de LC-MS y MS/MS en tándem, que ilustran que la presencia de metabolitos de 13a es mínima y que la mayoría de 13a intacto se recupera después de 240 min.

10

Como se muestra en la figura 9, el compuesto 13a se evaluó para determinar su estabilidad metabólica en hepatocitos de ratón y se obtuvieron espectros de LC-MS en diversos puntos temporales. Pico 1: 13a conjugado con glutatión+deshidratación (PM=1054,2 g/mol). Pico 2: 13a conjugado con glutatión+acetilación+deshidratación (PM=1096,3 g/mol). Pico 3: Oxidación del compuesto 13a (PM=783,2 g/mol). Pico 4: Compuesto intacto 13a (PM=767. Áreas de o relativas para el pico 1: (<1 %), Pico 2: (<1 %), Pico 3 (1-10 %), Pico 4: (>10 %).

15

La figura 10 muestra un espectro de masas en tándem (MS/MS) para el pico 1 que ilustra la fragmentación con el fin de dilucidar la estructura del compuesto 13a deshidratado y conjugado con glutatión. La figura 11 muestra un espectro de masas en tándem (MS/MS) para el pico 2 que ilustra la fragmentación con el fin de dilucidar la estructura del compuesto 13a deshidratado, acetilado y conjugado con glutatión. La figura 12 muestra un espectro de masas en tándem (MS/MS) para el pico 3 que ilustra la fragmentación con el fin de dilucidar la estructura de la oxidación del compuesto 13a. La figura 13 muestra un espectro de masas en tándem (MS/MS) para el pico 4 que ilustra la fragmentación para el compuesto original 13a.

20

25

Ejemplo 8 - Efecto sobre las células CD34+ y células AML MV4-11

El compuesto **13a** se evaluó en células de cordón umbilical CD34+ humanas sanas para determinar los efectos fuera de diana y la ventana terapéutica. Existía un orden aproximado de diferencia de magnitud en la sensibilidad, con poca reducción de la viabilidad celular a 10 μ M de **13a**, mientras que se anularon células MV-4;11 a las mismas concentraciones.

30

Como se muestra en la figura 14, el compuesto 13a mostró poco efecto en células CD34+ humanas sanas células del cordón umbilical a 10 μ M con un efecto limitado sobre la viabilidad celular en comparación con células MV4;11.

35

Ejemplo 9 - Efecto sobre las células CML y AML

Para investigar la selectividad, se evaluaron células de cáncer de mama MDA-MB-231, que albergan actividad pSTAT3 alta y pSTAT5 insignificante, figura 8c y figura 15c, para determinar la inhibición diferencial de pSTAT por **13a**. pSTAT3 no se inhibió a las dosis correspondientes a la inhibición de pSTAT5 dentro de la línea celular leucémica y ni los niveles totales de proteína STAT3 ni STAT5 se vieron afectados. Asimismo, no hubo niveles detectables de pSTAT1 en células tanto K562 y como MDA-MB-231. De manera correspondiente, **13a** no alteró el complejo de fosfopéptido-STAT1 con valores de $CI_{50} > 150 \mu$ M, figura 15a. También se ha mostrado que **13a** fue 3 veces menos citotóxico en células MDA-MB-231 ($CI_{50} = 10 \mu$ M) que en la línea celular leucémica pSTAT5 alta, figura 15d.

40

45

Informes anteriores indican que la atenuación de pSTAT5 en células de leucemia anula la expresión de MCL-1 corriente abajo a nivel tanto de ARNm como de proteína y es suficiente para inducir apoptosis. Asimismo, la expresión de MCL-1 depende en gran medida de las rutas de señalización de STAT5, lo que sugiere que los inhibidores de STAT5 podrían ser importantes para desencadenar apoptosis en células leucémicas. Con la selectividad establecida corriente arriba del factor de transcripción, así como dentro de la familia STAT, se investigaron los efectos posteriores de la atenuación de pSTAT5, específicamente la modulación de las dianas transcripcionales de STAT5. Para confirmar los efectos inhibitorios de **13a**, se realizaron experimentos para medir los cambios en el nivel de expresión de genes conocidos regulados por STAT5, MCL-1, CICLINA D1/D2 y MYC en células K562.

50

55

Las células K562 fueron dosificadas con **13a** a las mismas concentraciones observadas para la inhibición selectiva de pSTAT5. Después de 5 h, se observaron disminuciones dependientes de la dosis en la expresión de c-MYC y se observó atenuación completa de MCL-1 a las 24 h a 15 μ M, que son coherentes con sus respectivas velocidades de recambio celular, figura 8d.

60

De manera correspondiente, el análisis de transferencia de Western para niveles de proteína de pSTAT5 y expresión génica diana corriente abajo también se investigaron dentro de la línea celular de AML, MV-4;11. De forma coherente con la línea celular CML K562, **13a** a concentraciones similares mostró una disminución dependiente de la dosis de pSTAT5 a las 5 h con anulación completa de la fosforilación después de 24 h a 10 μ M, figura 16a. Además,

65

a las 24 h, se observó el inicio de la apoptosis, figura 16b, así como atenuación completa de la diana corriente abajo de MCL-1 a 10 μ M, figura 16c. En general, **13a** tuvo una potencia más pronunciada dentro de la AML que las células de CML. Estos datos, junto con el análisis de transferencia de Western de pSTAT5, la alteración *in vitro* potente de la formación de complejos de STAT5/fosfopéptidos (tabla 1), la exploración de RPS (figura 2) y KINOME (figura 1) y los resultados de células completas (figura 6 y 7), indican que los agentes de unión de STAT5 inhiben la función transcripcional de STAT5.

Ejemplo 9 - Estudios metabólicos

Los hepatocitos primarios son populares para la biotransformación de fármacos debido a su gran parecido con el hígado humano *in vivo*. Los hepatocitos intactos contienen enzimas oxidativas de fase I, así como enzimas de fase II como sulfo y glucuronosiltransferasas. Pueden generarse hepatocitos a partir de diversas especies animales, necesitando el método todo el hígado, que puede no estar disponible en el caso del hígado humano. Más bien, se obtiene hígado humano de pacientes que se someten a resección hepática debido a metástasis hepática. Una vez aislados, los hepatocitos se crioconservan para mantener la actividad catalítica de las enzimas metabólicas. Por lo tanto, para entender las propiedades fisicoquímicas y el perfil metabólico de **13a**, se investigaron las exploraciones de absorción, distribución, metabolismo y secreción (ADME) tanto en fracciones s9 como en hepatocitos intactos.

La estabilidad metabólica de **13a** se evaluó en fracciones s9 de hígado humano y de ratón agrupadas y en hepatocitos humanos y de ratón. Las concentraciones del fármaco original **13a** se evaluaron mediante LC-MS/MS para estimar su estabilidad en ambos sistemas de reacción.

Para las fracciones s9 agrupadas, se añadió solución de la fracción s9 junto con NADPH a cada pocillo. El control negativo no tenía NADPH, que se usó para excluir el factor de la inestabilidad del fármaco en sí mismo. El control positivo utilizado en el ensayo fue Verapamilo, un fármaco conocido para ser metabolizado por enzimas hepáticas. La reacción se inició mediante la adición de **13a** y realizado por duplicado. Se tomaron alícuotas de la solución de reacción a los 0 min y 60 min. La reacción se detuvo mediante la adición de metanol frío. Las muestras se analizaron después a través de LC-MS/MS para determinar el perfil metabólico. Como ilustra la figura 17, después de 60 min, se recuperó **13a** al 59,82 % en fracciones de hígado humano s9 (HLS9) con solo 6,96 % recuperado en fracciones de hígado de ratón s9 (MMLS9). La menor recuperación de **13a** en MMLS9 frente a HLS9 se debe a una concentración 1,5 veces mayor de CPY450 y enzimas de conjugación de fase II.

13a se evaluó después dentro de hepatocitos humanos y de ratón intactos. Como las fracciones s9, se usó verapamilo como control positivo en el ensayo. Los hepatocitos crioconservados se descongelaron y se colocaron en placas a una densidad celular de trabajo de $0,5 \times 10^6$ células viables/ml. Se hirvió una parte de los hepatocitos a $0,5 \times 10^6$ células viables/ml durante 5 min antes de añadirlos a la placa como control negativo para eliminar la actividad enzimática de modo que debería observarse poco o ningún recambio de sustrato y para excluir la posibilidad de inestabilidad **13a** en sí mismo. Se añadieron tanto **13a** como verapamilo y se tomaron los puntos temporales de 0 min y 120 min mediante la adición de metanol frío para detener la reacción y se analizaron los porcentajes restantes de **13a** a través de LC-MS/MS. Como muestra la figura 18, **13a** se recupera en una parte significativa al 68,56 % en hepatocitos humanos en comparación con 53,37 % en hepatocitos de ratón. Como cabía esperar, el control negativo tuvo mayores tasas recuperables de **13a** a ~85 % en ambos sistemas hepáticos.

En general, resulta evidente que **13a** es estable entre las fracciones agrupadas de s9 de ratón y humano, así como los hepatocitos. Dentro de estos estudios, se identificó una serie de metabolitos de fase I y fase II dentro de hepatocitos de ratón. Como ilustra la figura 9, **13a** es recuperable a >85 % después de 4 h con tres metabolitos medibles de fase I y fase II. Cada pico del espectro de masa inicial se vuelve a ejecutar a través de una especificación de masa en tándem para identificar el pico principal junto con los patrones de fraccionamiento correspondientes de ese metabolito. En primer lugar, los inventores analizaron la especificación de masa en tándem del **pico 4**, lo que confirmó que se había recuperado el fármaco original **13a**. Presente entre 1 y 10 % después de 4 h, el **pico 1** con un m/z principal de 1054,2, corresponde a un metabolito conjugado con glutatión de fase II de **13a**, figura 10. El **pico 2**, por otro lado, es una combinación de metabolismo de fase I y fase II. Con un pico de masa principal en m/z de 1096,3, esto corresponde a un **13a** conjugado con glutatión (m / z 1054,2), que se ha acetilado adicionalmente. Muy probablemente, los inventores dedujeron que se produce acetilación en la posición ácida del resto de ácido salicílico, figura 11.

Como el metabolito principal recuperado entre 10 y 20 %, el **pico 3** es un producto del metabolismo de fase I en el que **13a** (m/z 767,1) se ha oxidado para producir el pico principal con un m/z de 783,1. Según el patrón de fragmentación, el sitio más probable de oxidación podría residir en el núcleo de glicina o el anillo de bencilo del ácido salicílico, figura 12.

Dos de los picos principales correspondieron a un derivado de glutatión del fármaco original **13a**, que colectivamente constituyen el 10 % de los metabolitos recuperados. Se investigó la estabilidad de **13a** en condiciones más duras con un exceso del tripéptido de glutatión. Teniendo en cuenta la estructura de **13a**, el pentafluorobenceno es el resto funcional que probablemente sea más susceptible al ataque nucleófilo de la enzima GST. De manera específica, la

posición *para* es muy electroatrayente lo que permite que tenga lugar la sustitución aromática nucleófila. Se realizaron experimentos de HPLC de **13a** con 1000x la concentración del tripéptido de glutatión (10 mM) en relación con **13a** (100 μ M) en un tampón de fosfato (HEPES) que se eligió según la solubilidad de **13a** dentro de este sistema de tampón. Los puntos de datos obtenidos con los experimentos analíticos de HPLC se ajustaron usando software ORIGIN usando una ecuación de desintegración exponencial. Esta ecuación modela procesos químicos/biológicos por los cuales una velocidad a la que sucede algo es proporcional a la cantidad restante. Cada molécula de fármaco tiene una probabilidad determinada de ser metabolizada en un pequeño intervalo temporal. Por tanto, a medida que baja la concentración de un fármaco, la velocidad de su metabolismo también baja. Como ilustra la figura 19, **13a** (línea decreciente) fue estable frente a la conjugación de glutatión (línea creciente) durante un periodo de tiempo de 20 h.

Tabla 1. Sumario de los valores de CI_{50} y constantes inhibitoras (K_i) procedentes de ensayos de unión de PF con compuestos (13a-d) y los inhibidores de control de STAT5 (pimozida y cromona).

Compuesto	STAT5b		STAT3	
	CI_{50} (μ M)	K_i (μ M)	CI_{50} (μ M)	K_i (μ M)
13a	0,37	0,15	>150	>60
13b	6,53	2,57	>150	>60
13c	8,2	3,24	>150	>60
13d	3,95	1,56	>150	>60
Pimozida	75,11	29,64	n/d	n/d
Cromona	>150	>60	n/d	n/d

15 REFERENCIAS

- (1) Hasinoff, B. B., Patel, D. The lack of target specificity of small molecule anticancer kinase inhibitors correlated with their ability to damage myocytes *in vitro*. *Toxicol. Appl. Pharm.* **2010**, 249, 132-39.
- (2) Mouhayar, E., Durand, J. B., Cortes, J. Cardiovascular toxicity of tyrosine kinase inhibitors. *Expert. Opin. Drug Saf.* **2013**, 12, 687-96.
- (3) Yang, B., Papoian, T. Tyrosine kinase inhibitor (TKI)-induced cardiotoxicity: approaches to narrow the gaps between preclinical safety evaluation and clinical outcome. *J. Appl. Toxicol.* **2012**, 32, 945-51.
- (4) Engelman, J. A., Settleman, J. Acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors during cancer therapy. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2008**, 18, 73-79.
- (5) Barouch-Bentov, R. Mechanisms of Drug-Resistance in Kinases. *Expert. Opin. Inv. Drug.* **2011**, 2, 153-208.
- (6) Daub, H., Specht, K., Ullrich, A. Strategies to overcome resistance to targeted protein kinase inhibitors. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2004**, 3, 1001-10.
- (7) Shyh-Han, T., Nevalainen, M. T. Signal Transducer and Activator of Transcription 5A/B in prostate and breast cancers. *Endocr. Relat. Cancer.* **2008**, 15, 367-90.
- (8) Becker, S., Groner, B., Muller, C. W. Three-dimensional structure of the Stat3beta homodimer bound to DNA. *Nature.* **1998**, 394, 145-51.
- (9) Chen, X., Vinkemeier, U., Zhao, Y., Jeruzalmi, D., Darnell J. E., Kuriyan, J. Crystal structure of a tyrosine phosphorylated Stat-1 dimer bound to DNA. *Cell.* **1998**, 93, 827-39.
- (10) Nosaka, T., Kawashima, T., Misawa, K., Ikuta, K., Mui, A. L., Kitamura, T. STAT5 as a molecular regulator of proliferation, differentiation and apoptosis in hematopoietic cells. *EMBO. J.* **1999**, 18, 4754-65.
- (11) A) Cumaraswamy, A.A., Todic, A., Resetca, D., Minden, M.D., Gunning, P.T. Inhibitors of Stat5 protein signaling. *Med. Chem. Comm.* 2012, 3, 22-27. B) Cumaraswamy, A.A., Gunning, P.T. Progress towards direct inhibitors of Stat5 protein. *Horm. Mol. Biol. Clin. Invest.* **2012**, 10, 281-286.
- (12) Muller, J., Sperl, B., Reindl, W., Kiessling, A., Berg, T. Discovery of chromone-based inhibitors of the transcription factor Stat5. *ChemBioChem.* **2008**, 9, 723-27.
- (13) Nelson, E. A., Walker, S. R., Xiang, M., Weisberg, E., Bar-Natan, M., Barrett, R., Liu, S., Kharbanda, S., Christie, A. L., Nicolais, M., Griffin, J.D., Stone, R.M., Kung, A.L., Frank, D. A. The STAT5 inhibitor pimozide displays efficacy in models of acute myelogenous leukemia driven by FLT3 mutations. *Blood.* **2011**, 117, 3421-29.
- (14) Walker, S. R., Xiang, M., Frank, D. A. Distinct roles of STAT3 and STAT5 in the pathogenesis and targeted

therapy of breast cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2014**, 382, 616-21.

(15) Muller, J., Schust, J., Berg, T. A high-throughput assay for signal transducer and activator of transcription 5b based on fluorescence polarization. *Anal. Biochem.* **2008**, 375, 249-54.

(16) Page, B. D., Khoury, H., Laister, R. C., Fletcher, S., Vellozo, M., Manzoli, A., Yue, P., Turkson, J., Minden, M. D., Gunning, P. T. Small molecule STAT5-SH2 domain inhibitors exhibit potent antileukemia activity. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 1047-55.

(17) Andricopulo, A. D., Salum, L. B., Abraham, D. J. Structure-based drug design strategies in medicinal chemistry. *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, 9, 771-90.

(18) Kraskouskaya, D., Duodu, E., Arpin, C. C., Gunning, P.T. Progress towards the development of SH2 domain inhibitors. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 3337-70.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> El consejo de gobierno de la Universidad de Toronto

<120> INHIBIDORES DE STAT5

<130> 2223-P46449PC00

<150> US 62/005.308

<151> 30/05/2014

<160> 2

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa=5-FAM-pTyr

<400> 1

Xaa Tyr Leu Pro Gln Thr Cys
1 5

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

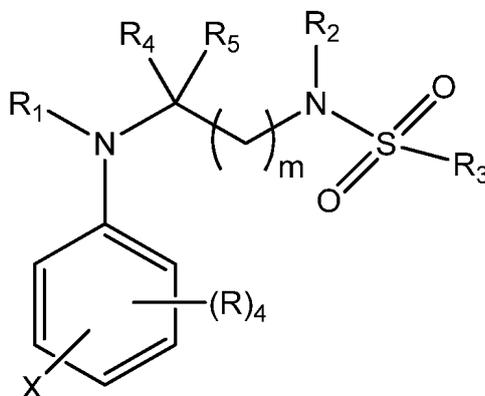
<223> Xaa=5-FAM-pTyr

<400> 2

Gly Xaa Tyr Leu Val Leu Asp Lys Trp
1 5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula

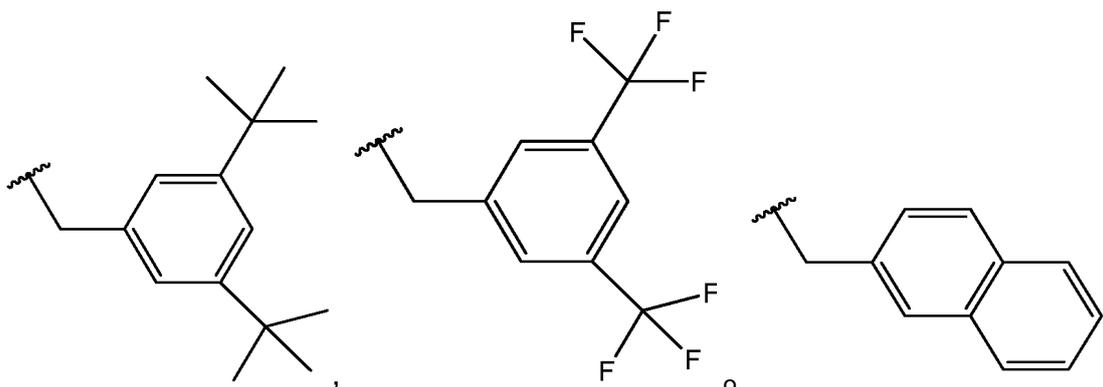


5

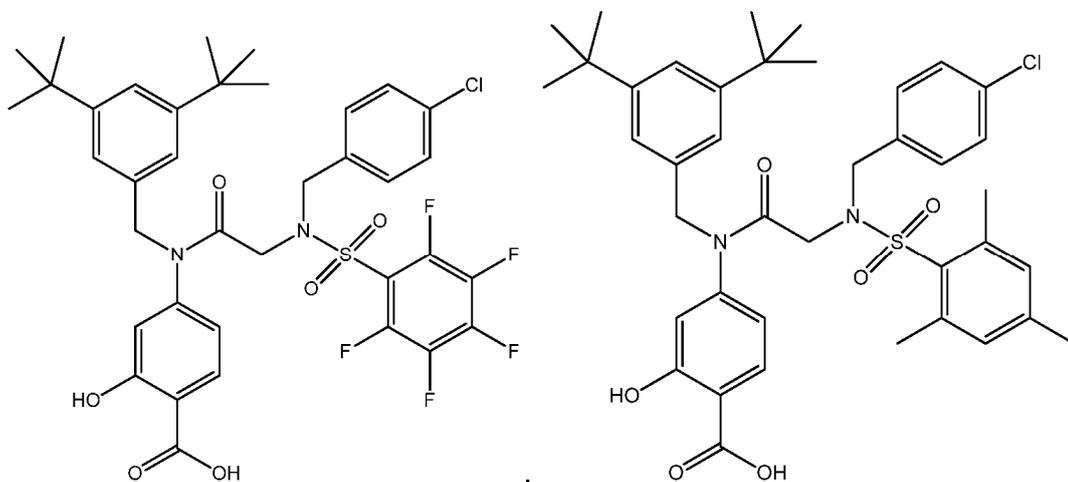
en donde

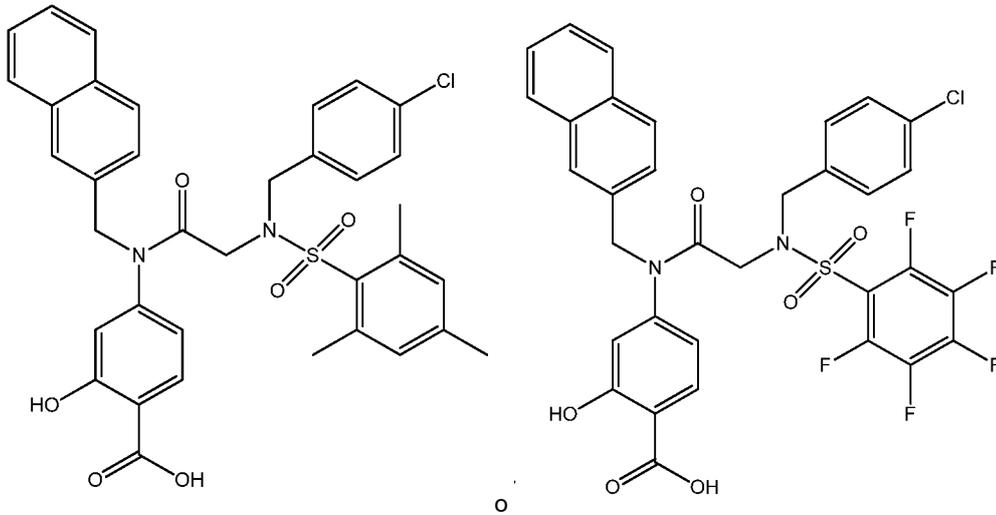
- 10 R_1 es $-(CH_2)_n$ -arilo (C_6-C_{10}) o $-C(=O)-(CH_2)_n$ -arilo (C_6-C_{10}), en donde los grupos arilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C_1-C_6), alcoxi (C_1-C_6), alquilo (C_1-C_4) sustituido con halo, $-(ciclopropil)-CF_3$, $-NO_2$, CN, $-SO_3R'$ y $-COOR'$, en donde R' es H o alquilo (C_1-C_4);
- 15 R_2 es $-(CH_2)_n$ -arilo (C_6-C_{10}), en donde los grupos arilo están sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C_1-C_6), alcoxi (C_1-C_6), alquilo (C_1-C_4) sustituido con halo, $-(ciclopropil)-CF_3$, $-NO_2$, CN, $-SO_3R'$ y $-COOR'$, en donde R' es H o alquilo (C_1-C_4);
- 20 R_3 es $-(CH_2)_n$ -arilo (C_6-C_{10}), en donde los grupos arilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alquilo (C_1-C_6), alcoxi (C_1-C_6), alquilo (C_1-C_4) sustituido con halo, $-(ciclopropil)-CF_3$, $-NO_2$, CN, $-SO_3R'$ y $-COOR'$, en donde R' es H o alquilo (C_1-C_4);
- X es $-COOR''$, $-P(O)(OR'')_2$, tetrazol, $-C(=O)NR''-OH$ o $-CF_2OH$, en donde R'' es H o alquilo (C_1-C_4) o $-CH_2$ -bencilo (C_6-C_{10});
- R_4 y R_5 son independiente o simultáneamente H o CF_3 , en donde uno de R_4 o R_5 es H o, tomados juntos R_4 y R_5 son $-C(=O)$ o $-C(=S)$;
- R es H, OH, halo, alquilo (C_1-C_6) o alcoxi (C_1-C_6);
- n es independiente o simultáneamente 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 y
- 25 m es 1, 2, 3 o 4; o una sal, un solvato y/o un estereoisómero farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R_1 es -arilo (C_6-C_{10}), $-(CH_2)$ -arilo (C_6-C_{10}) o $-C(=O)$ -arilo (C_6-C_{10}).
3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en donde R_1 es fenilo, naftilo, $-CH_2$ -fenilo, $-CH_2$ -naftilo, $-C(=O)$ -fenilo o $-C(=O)$ -naftilo.
4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, los sustituyentes opcionales en el grupo arilo de R_1 se seleccionan entre uno a cinco de halo, alquilo (C_1-C_6) y alcoxi (C_1-C_6).
- 35 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4, en donde los sustituyentes opcionales en el grupo arilo de R_1 se seleccionan entre uno a tres sustituyentes seleccionados entre flúor, metilo o t-butilo.
6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde R_1 es

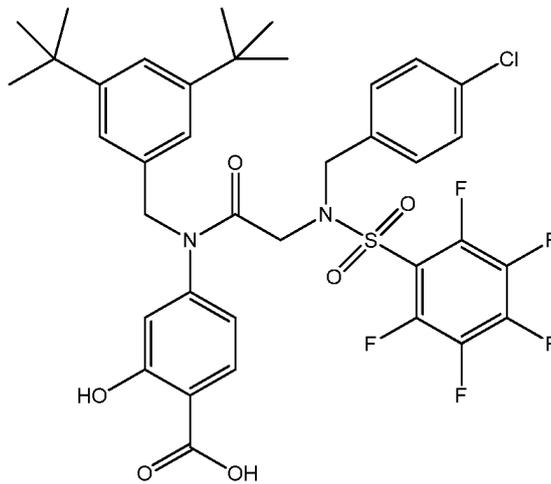


7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde R_2 es -arilo (C_6-C_{10}) o -(CH_2)-arilo (C_6-C_{10}).
- 5 8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en donde R_2 es fenilo o - CH_2 -fenilo.
9. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 7 u 8, en donde los sustituyentes en el grupo arilo de R_2 se seleccionan entre uno a cinco de halo, -alquilo (C_1-C_4) sustituido con halo, -(ciclopropil)- CF_3 , - NO_2 , CN, - SO_3R' y - $COOR'$, en donde R' es H o alquilo (C_1-C_4).
- 10 10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en donde los sustituyentes en el grupo arilo de R_2 son de uno a tres grupos cloro.
- 15 11. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde R_3 es -arilo (C_6-C_{10}) o -(CH_2)-arilo (C_6-C_{10}).
12. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 11, en donde los sustituyentes opcionales en el grupo arilo de R_3 se seleccionan entre uno a cinco de halo, OH, alquilo (C_1-C_6) y alcoxi (C_1-C_6),
- 20 13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en donde los sustituyentes opcionales en el grupo arilo de R_3 se seleccionan entre uno a cinco de flúor, cloro, bromo y alquilo (C_1-C_3).
14. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que R es H, OH, flúor, cloro, bromo o alquilo (C_1-C_4).
- 25 15. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde X es $COOR''$, en donde R'' es H o alquilo (C_1-C_4).
- 30 16. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde el compuesto tiene la estructura siguiente





17. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el compuesto tiene la estructura siguiente



5

18. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para su uso en la inhibición del transductor de señal y el activador de la proteína de transcripción 5 (STAT5) en el tratamiento o la prevención de enfermedades tales como

10

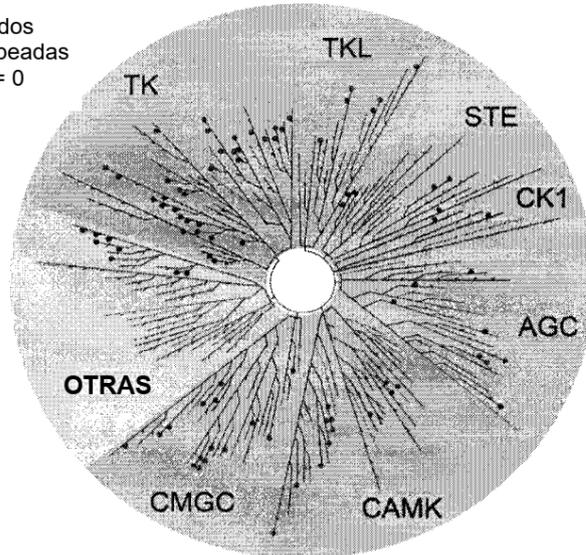
- a) neoplasias hematopoyéticas, tales como leucemia, tal como leucemia aguda, leucemia crónica, leucemia linfocítica o leucemia mielógena;
- b) afecciones cutáneas, tales como psoriasis o dermatitis;
- c) cáncer de piel no melanoma;
- d) cáncer de próstata o
- e) inflamación.

15

Figura 1

13a (5000nM)

120 ensayos probados
0 interacciones mapeadas
Puntuación S (35) = 0



Porcentaje de inhibición

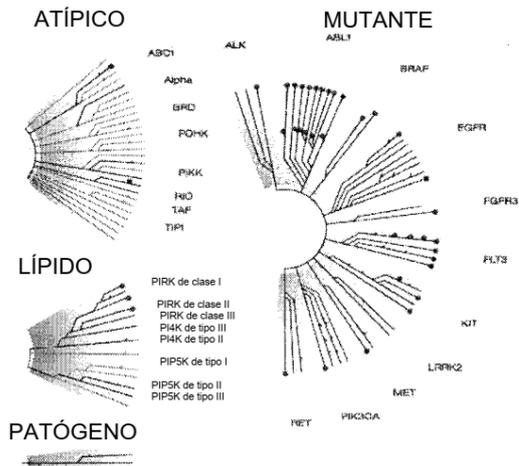
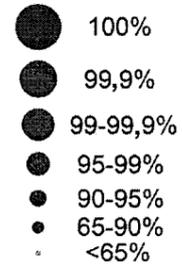


Figura 2

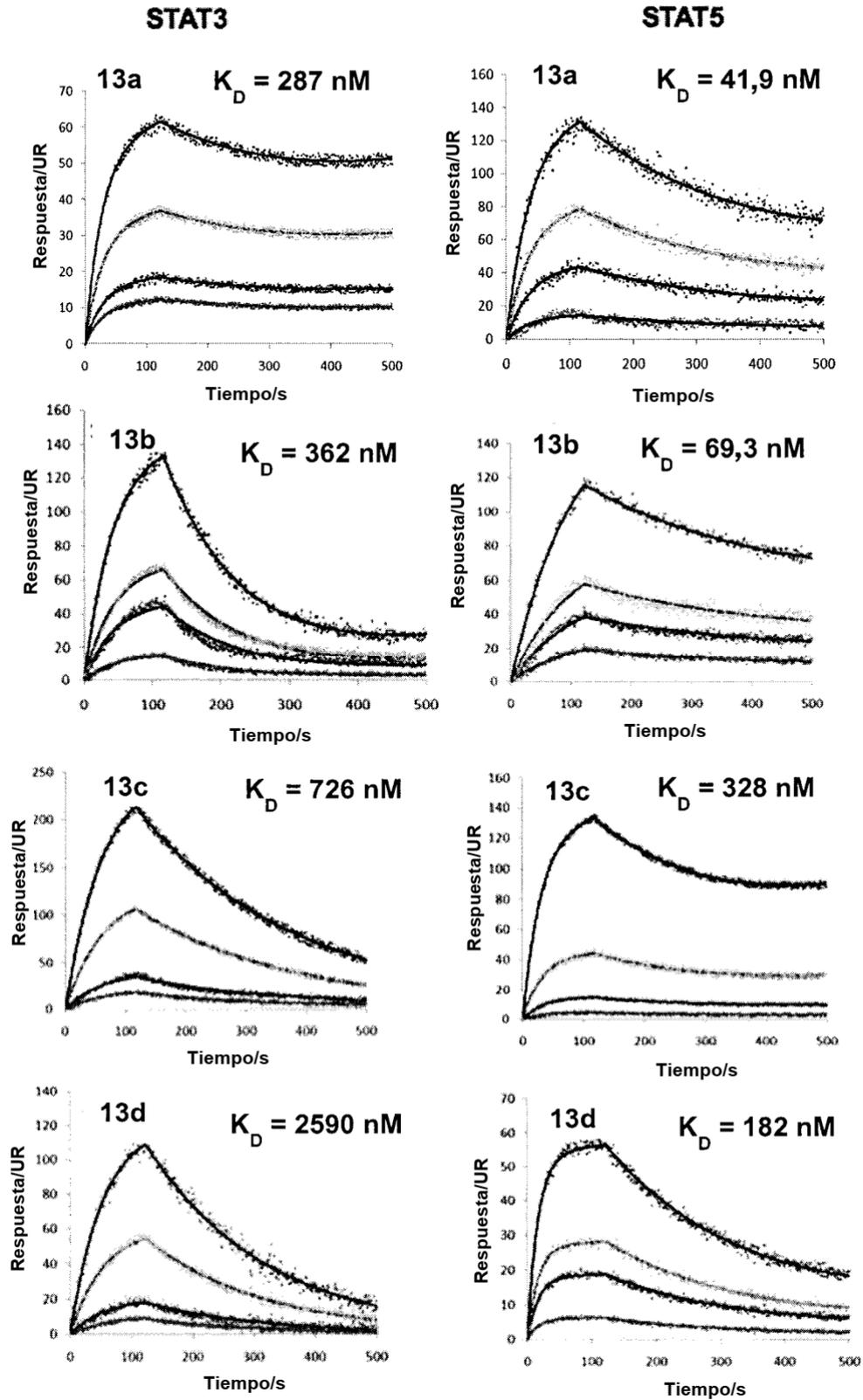


Figura 3

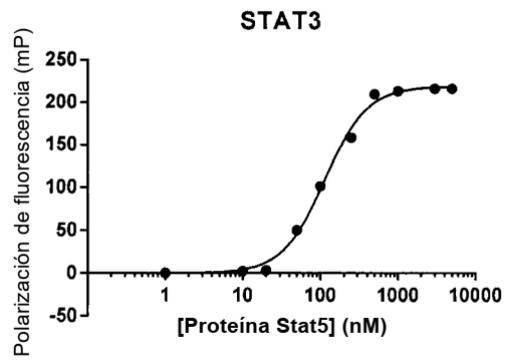
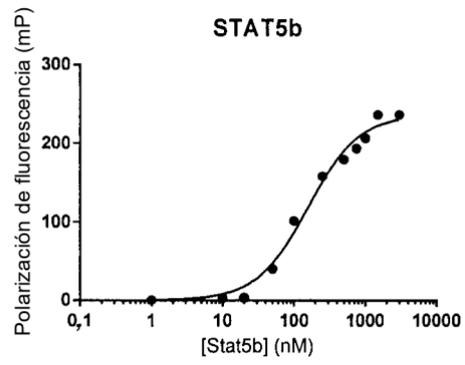


Figura 4

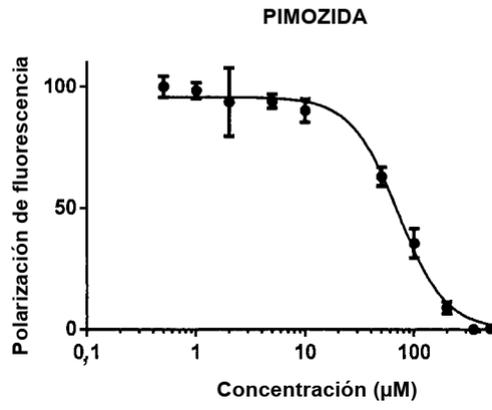
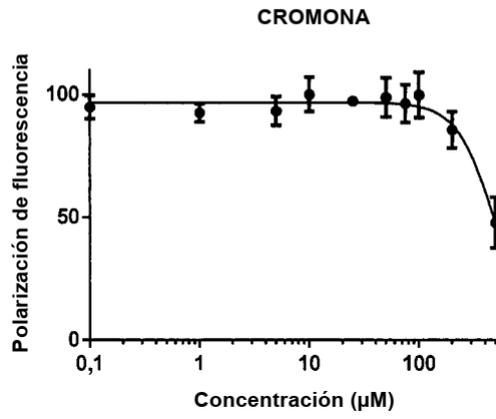


Figura 5

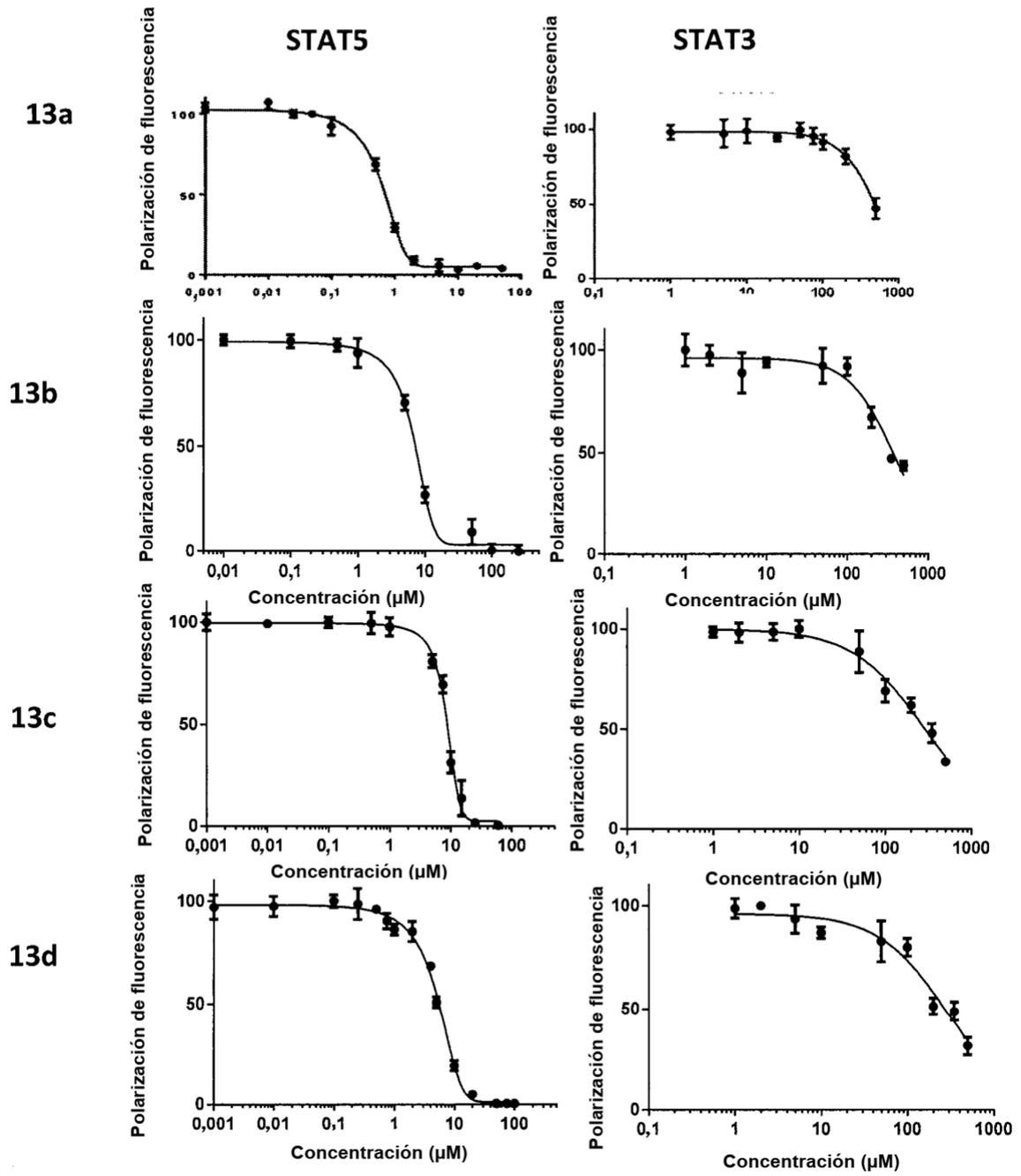


Figura 6

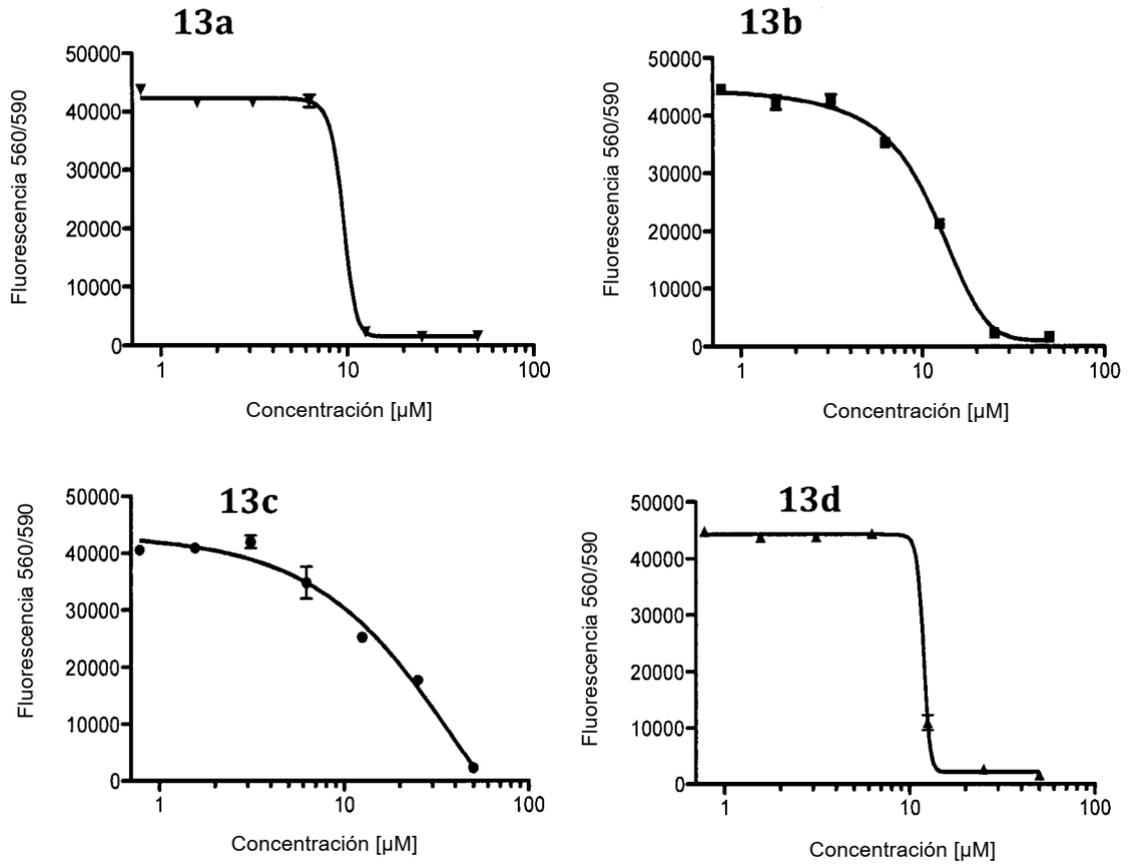


Figura 7

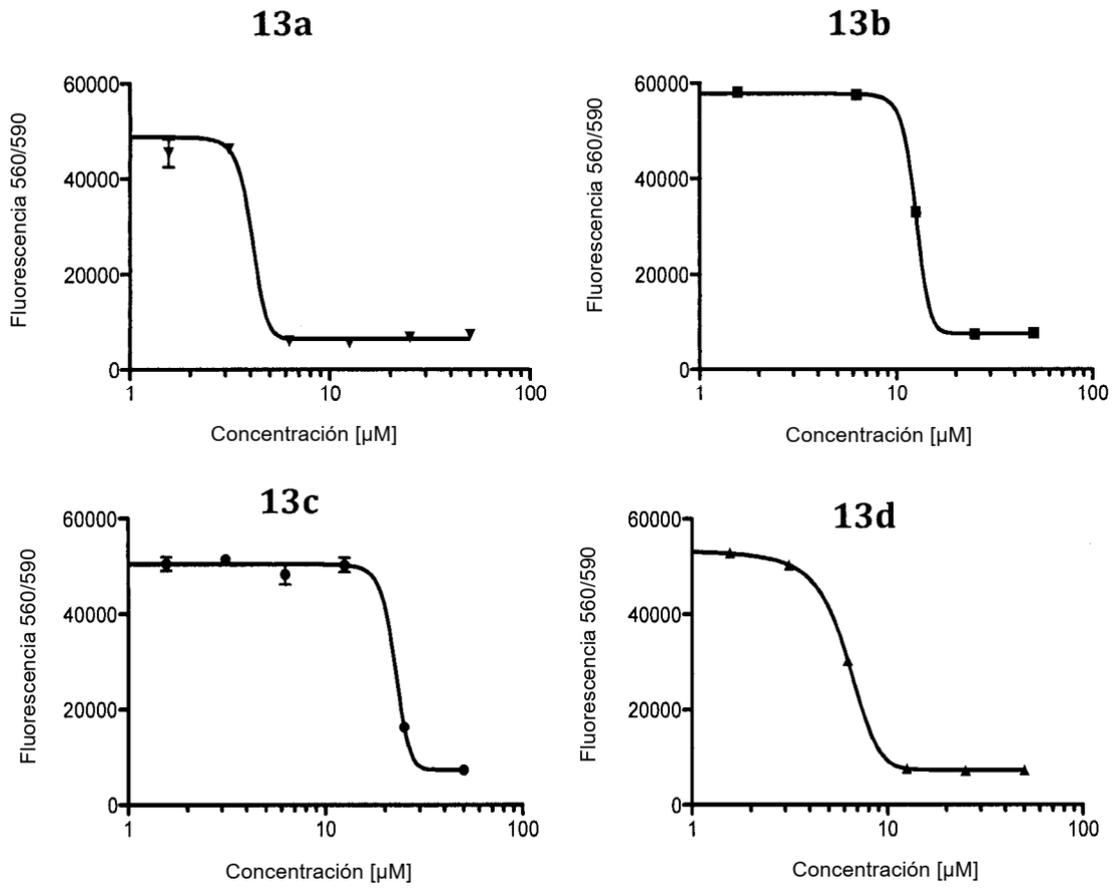


Figura 8

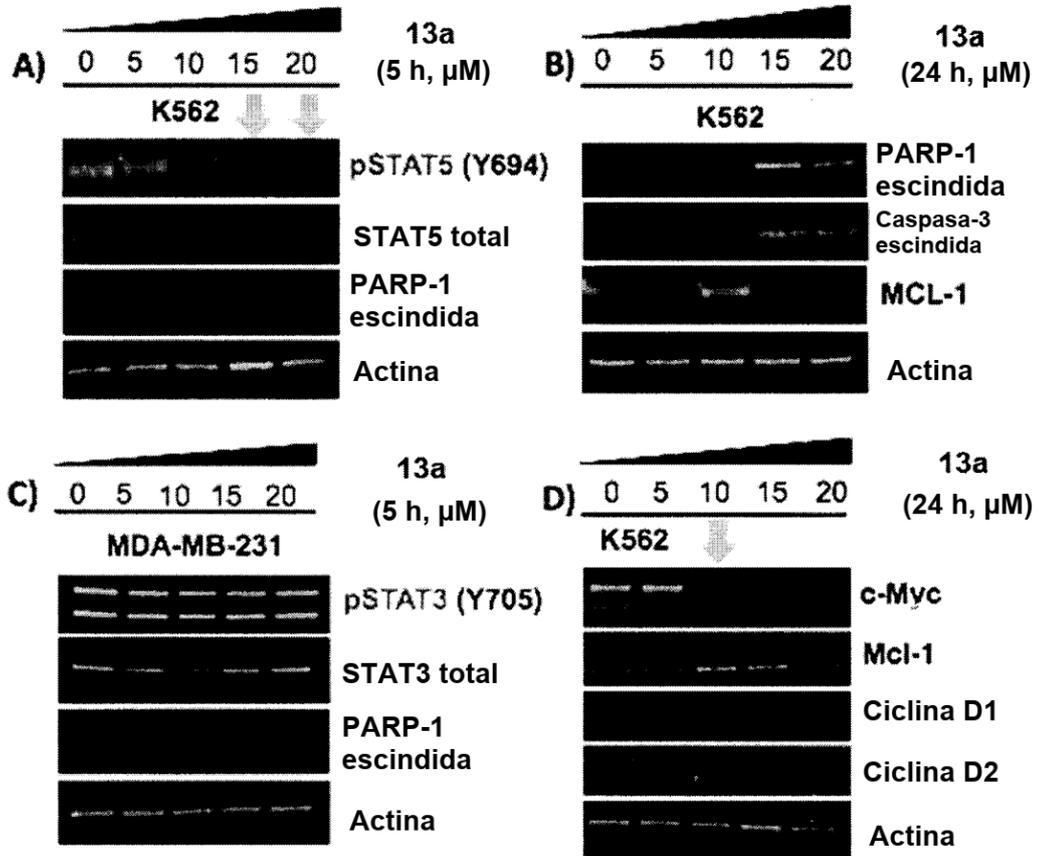
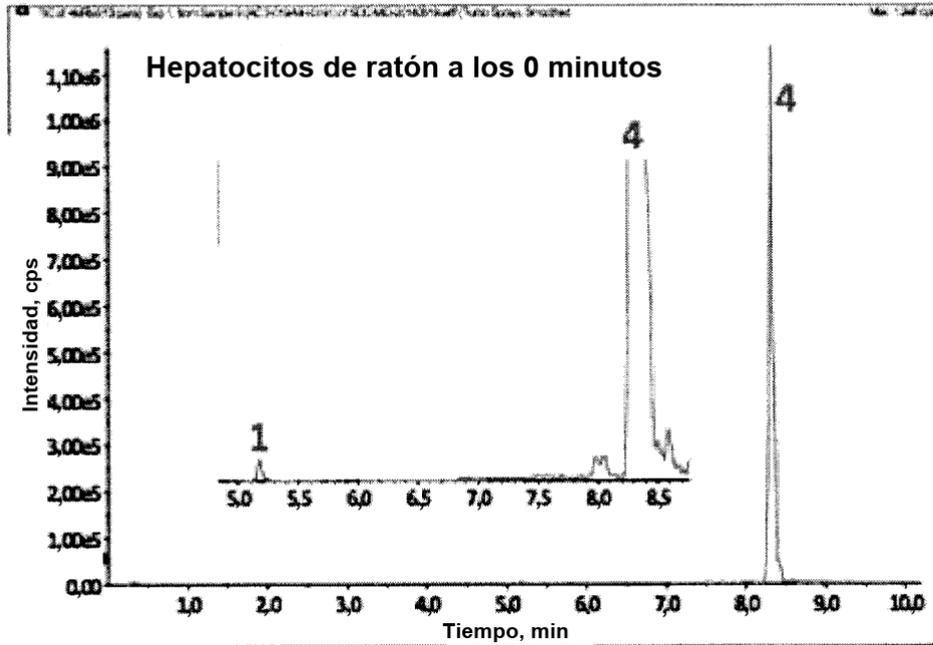


Figura 9

A)



B)

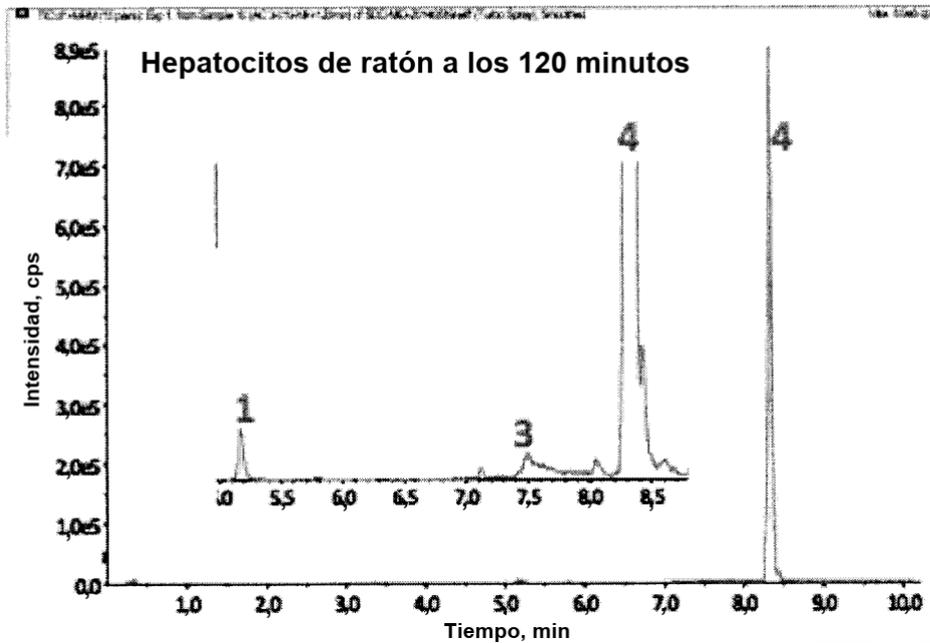


Figura 9 (continuación)

C)

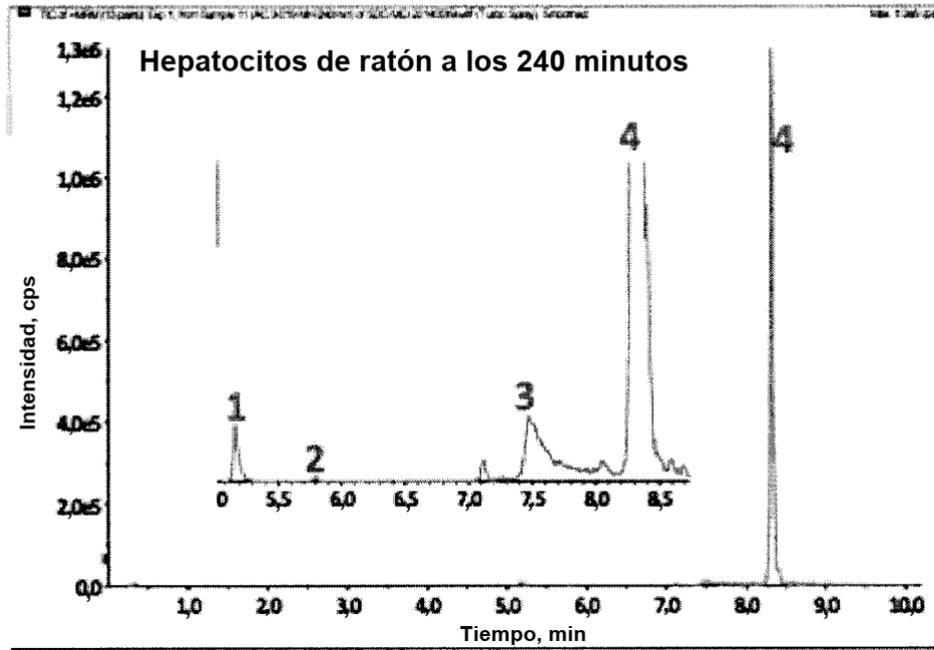


Figura 10

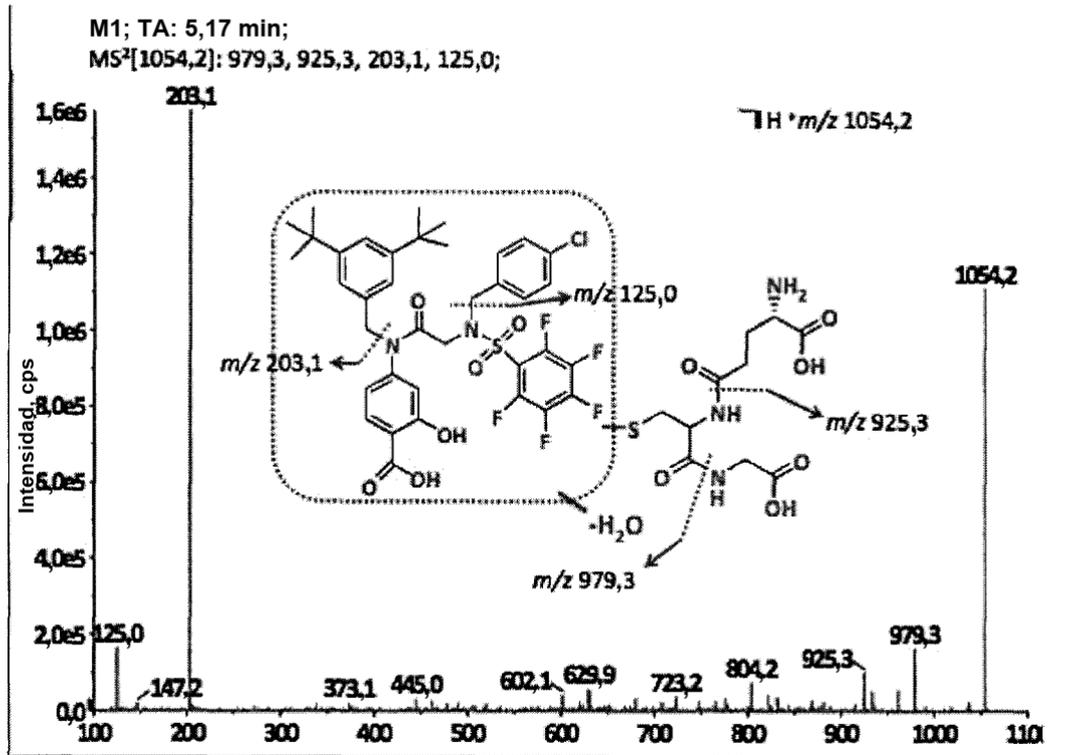


Figura 11

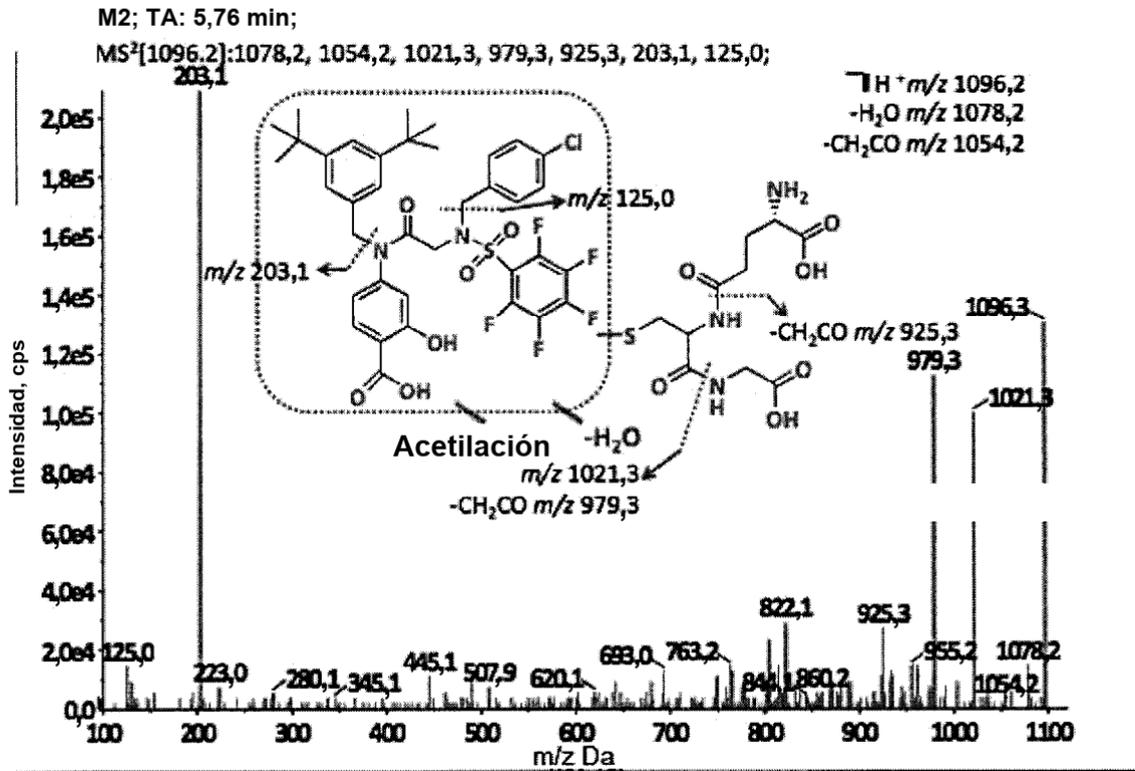


Figura 12

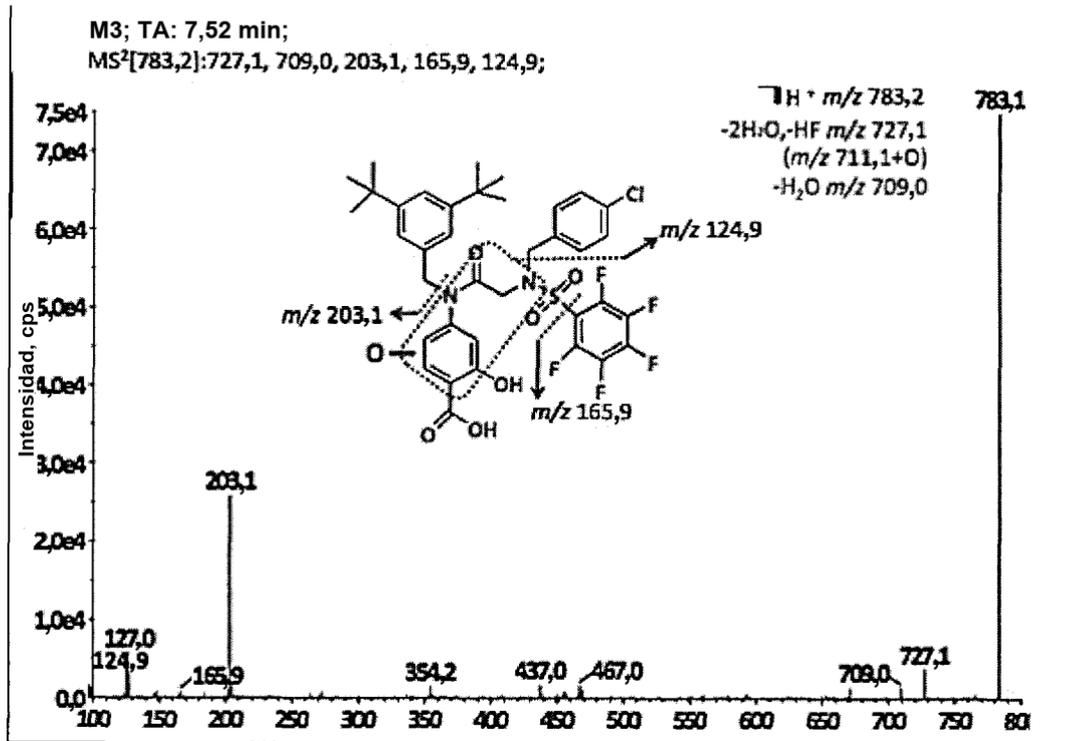


Figura 13

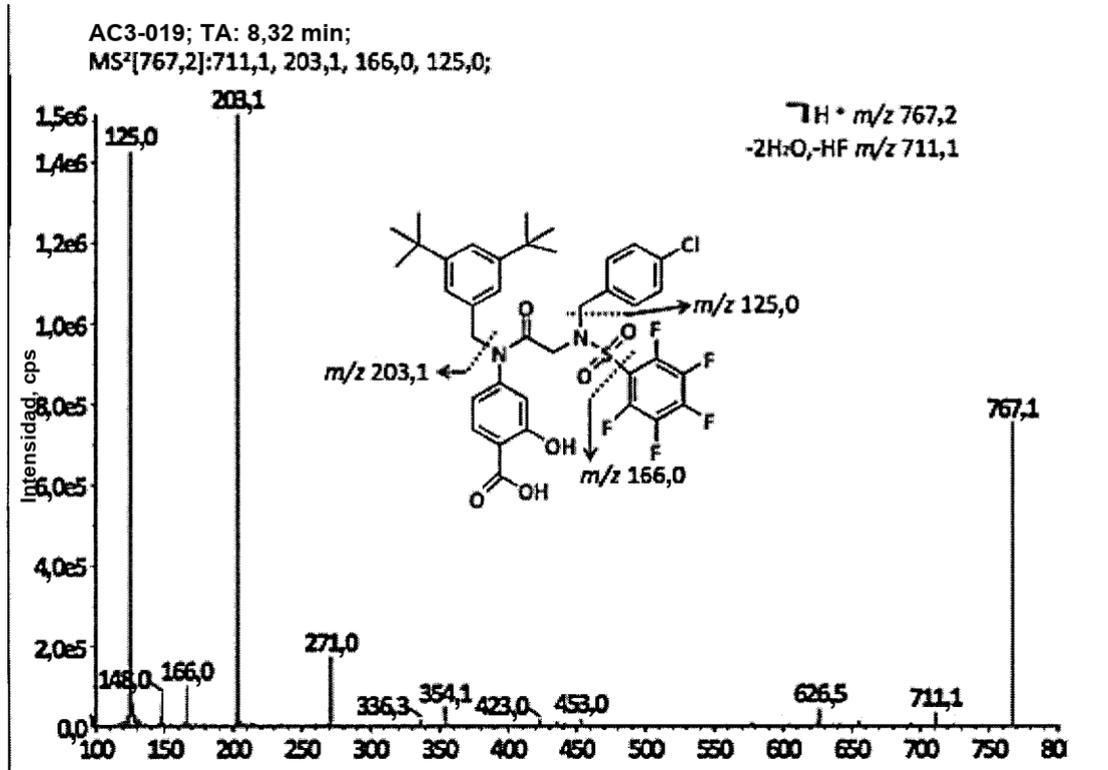


Figura 14

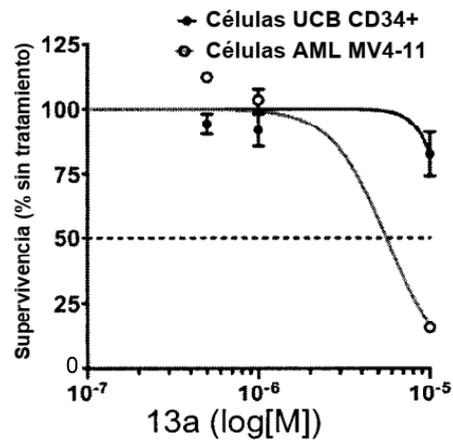


Figura 15

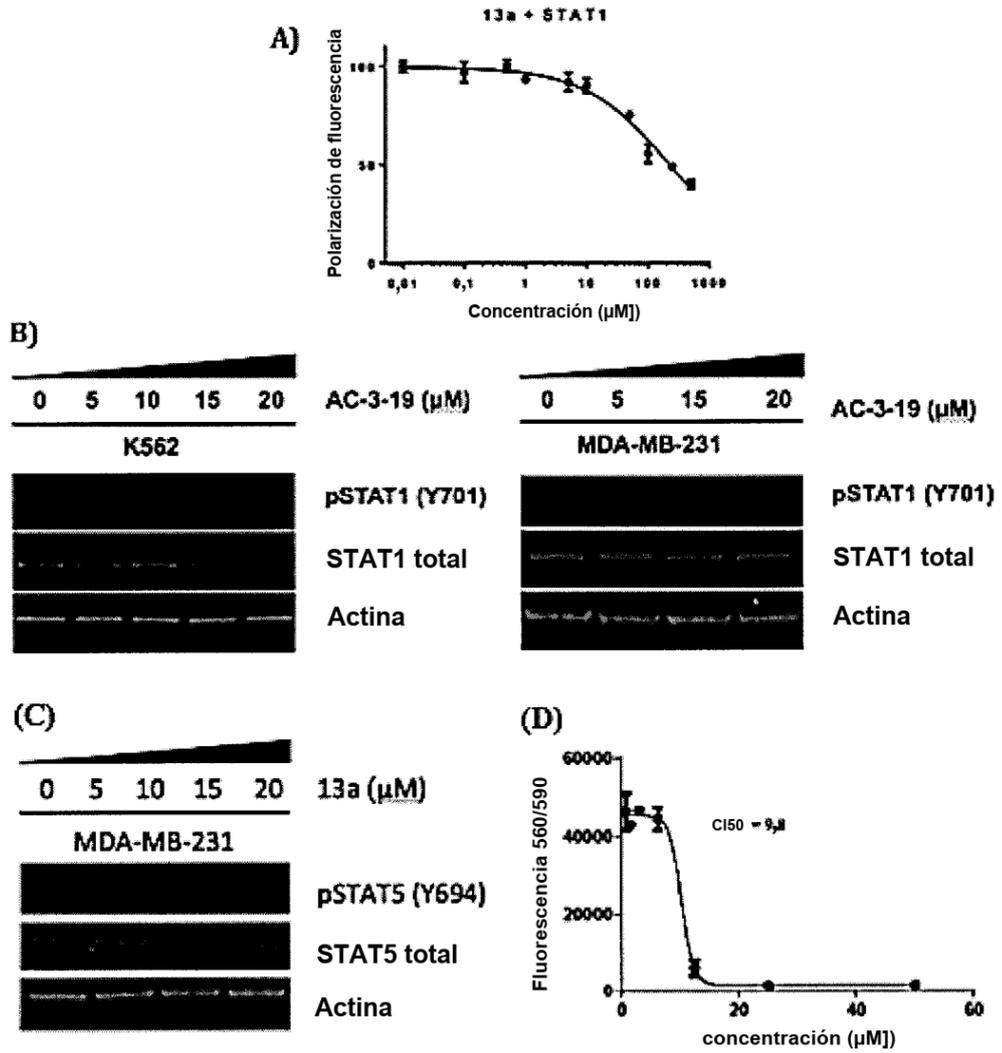


Figura 16

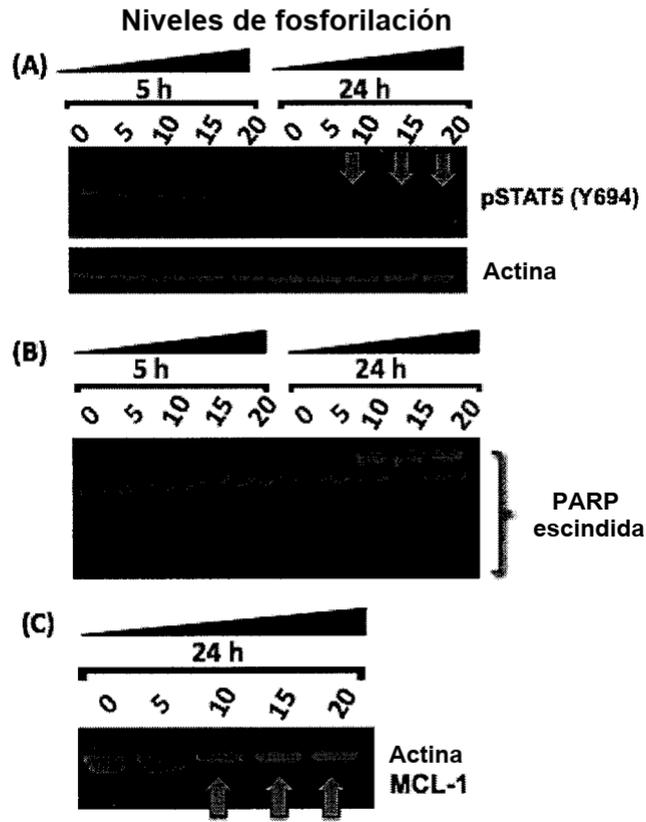


Figura 17

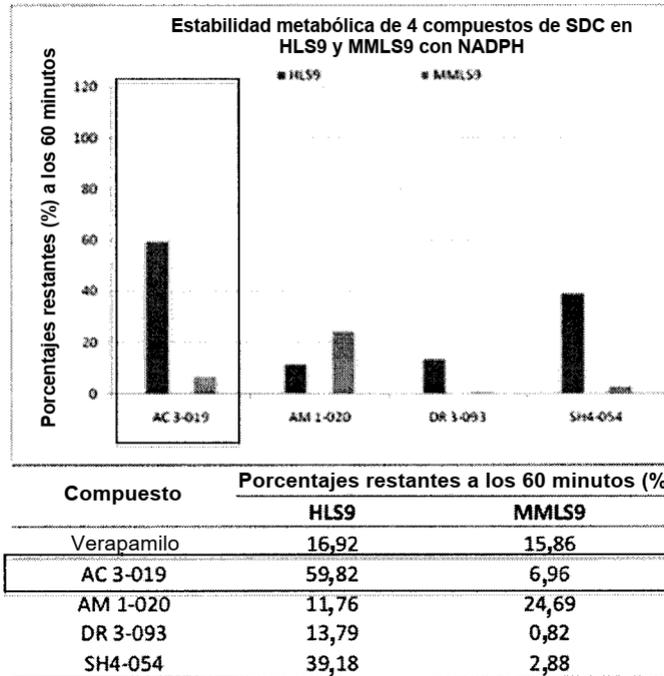
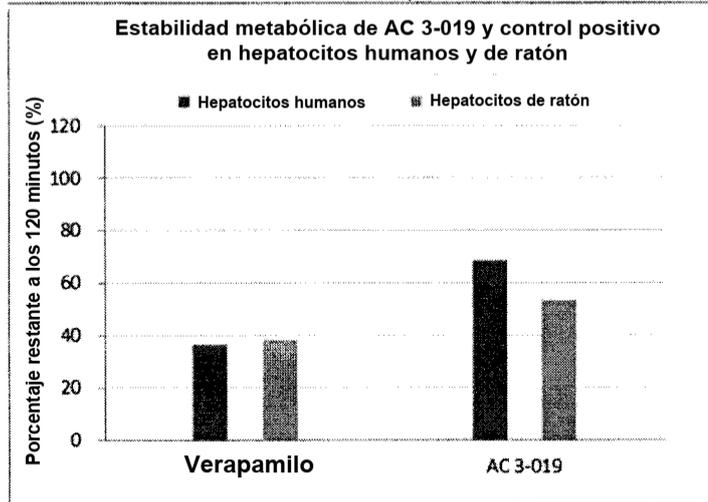


Figura 18

A)

ID del compuesto	Porcentaje restante a los 120 minutos (%)	
	Ser humano	Ratón
Verapamilo	36,58	38,35
AC 3-019	68,56	53,37



B)

ID del compuesto	Porcentaje restante a los 120 minutos (%)	
	Ser humano	Ratón
Verapamilo	92,52	93,19
AC 3-019	83,95	85,58

Figura 19

AC3-019 100 μ M
GSH 9,9 Mm, TCEP-HCl 9,9 mM, HEPES 49,5 mM, pH 7,45, DMSO 1 %
N = 2

