

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA I**



**IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS INHIBIDORES  
DE LA ENZIMA ISOPRENILCISTEÍNA  
CARBOXIMETILTRANSFERASA (ICMT)**

TESIS DOCTORAL DE:

**MOISÉS BALABASQUER PEÑA**

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

**SILVIA ORTEGA GUTIÉRREZ**  
**M<sup>º</sup> DEL MAR MARTÍN-FONTECHA CORRALES**

**Madrid, 2013**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Departamento de Química Orgánica I



**IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS INHIBIDORES  
DE LA ENZIMA ISOPRENILCISTEÍNA  
CARBOXIMETILTRANSFERASA (ICMT)**

**Memoria que para optar al  
TÍTULO DE DOCTOR  
presenta**

Moisés Balabasquer Peña

Directoras:

Dra. Silvia Ortega Gutiérrez

Dra. M<sup>a</sup> del Mar Martín-Fontecha Corrales

MADRID, 2013



*El presente trabajo ha sido realizado en el laboratorio de Química Médica dirigido por la **Catedrática Dra. M<sup>a</sup> Luz López Rodríguez** en el Departamento de Química Orgánica I de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, bajo la supervisión de la **Dra. Silvia Ortega Gutiérrez** y de la **Dra. M<sup>a</sup> del Mar Martín-Fontecha Corrales**, a quienes deseo expresar mi agradecimiento por su acogida en este grupo de investigación y por su inestimable ayuda durante todos estos años.*

*Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento:*

*Al Profesor Dr. Patrick J. Casey y al Dr. Ian Cushman (Universidad de Duke, EEUU) por la realización de los ensayos de inhibición enzimática.*

*A los Profesores Dr. Leonardo Pardo y Dra. Mercedes Campillo, y a Iván R. Torrecillas, del Laboratorio de Medicina Computacional de la Universidad Autónoma de Barcelona por llevar a cabo la elaboración del modelo de farmacóforo.*

*A los Profesores Dr. Guillermo Orellana Moraleda y Dr. Roberto Martínez Álvarez por su admisión en el Departamento de Química Orgánica I de la Universidad Complutense de Madrid. Asimismo, quiero agradecer a Soledad Martínez Real y Juan José Redondo Nistal, secretarios del Departamento, su inestimable ayuda a lo largo de estos años.*

*A mis compañeros de laboratorio Ainoa, Ana, Ángel, Ángeles, Bellinda, Carlos, Carolina, Dani, Debora, Dulce, Fátima, Gloria, Henar, Inés, Javi, Jorge, Jose, Laura, Leticia, Lidia, Marga, Marta, Nacho, Nono, Paco, Raquel, Rocío, Samanta, Tania y Violeta; así como a los demás compañeros del departamento.*

*Y por último, especialmente a mi familia y amigos.*



## TABLA DE CONTENIDOS

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1. Las proteínas CAAX	3
1.2. La superfamilia de proteínas Ras	5
1.3. Enzimas implicadas en las modificaciones post-traduccionales de las proteínas Ras como dianas terapéuticas para el tratamiento del cáncer	6
1.3.1. Inhibidores del proceso de prenilación	6
1.3.2. Enzimas Rce1 e ICMT	8
1.4. La enzima ICMT como diana terapéutica	14
<b>2. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS DEL TRABAJO</b>	<b>17</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>21</b>
3.1. Diseño de inhibidores basado en un modelo de farmacóforo	23
3.1.1. Elaboración de un modelo de farmacóforo	23
3.1.2. Validación del modelo de farmacóforo	26
3.1.3. Exploración del campo estructural y estudio SAR	29
3.1.4. Perfil farmacocinético <i>in vitro</i> del compuesto <b>36</b>	41
3.2. Diseño de nuevos inhibidores basados en la estructura del <i>cysmethynil</i>	43
3.2.1. Búsqueda de nuevos <i>hits</i>	43
3.2.2. Proceso <i>hit to lead</i>	45
3.2.3. Perfil farmacocinético <i>in vitro</i> de los compuestos seleccionados	58
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>61</b>
4.1. Elaboración del modelo de farmacóforo	63
4.2. Síntesis	63
4.2.1. Síntesis de los diésteres <b>1-27</b>	65
4.2.2. Síntesis de los ésteres y amidas <b>28-31</b>	79
4.2.3. Síntesis de las diamidas <b>33-36, 39 y 40</b>	82
4.2.4. Síntesis de las diamidas <b>44, 46-63</b>	88
4.2.5. Síntesis de los amidoésteres <b>65 y 66</b>	103

4.2.6. Síntesis de las diamidas <b>72-75</b>	108
4.2.7. Síntesis de los compuestos <b>80, 81 y 86</b>	113
4.2.8. Síntesis del benzoxazol <b>82</b>	117
4.3. <b>Ensayos de inhibición de la enzima ICMT</b>	122
4.4. <b>Ensayos de estabilidad</b>	122
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>125</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>129</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>143</b>
<b>INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA</b>	<b>S1-S9</b>

## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Se han utilizado las abreviaturas y acrónimos recomendados por la *American Chemical Society* para el área de Química Orgánica y Química Médica, revisados en las revistas *Journal of Organic Chemistry*<sup>i</sup> y *Journal of Medicinal Chemistry*<sup>ii</sup> en Diciembre de 2011. Se han empleado adicionalmente los indicados a continuación.

a	Ancho
ap	Aparente
AFC	<i>N</i> -Acetil- <i>S</i> -farnesil- <i>L</i> -cisteína
AGGC	<i>N</i> -Acetil- <i>S</i> -geranilgeranil- <i>L</i> -cisteína
AR	Anillo aromático
ATR	Reflectancia total atenuada
BFC	Biotinil- <i>S</i> -farnesilcisteína
CAI	Centro de Asistencia a la Investigación
CCF	Cromatografía en capa fina
CI <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria 50
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
EM	Espectrometría de masas
FTasa	Farnesiltransferasa
GAP	Proteína activadora de la actividad GTPasa
GEF	Factor de intercambio de nucleótidos de guanina
GGTasa I	Geranilgeraniltransferasa de tipo I
GI <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria de crecimiento 50
HetAr	Heteroaromático
HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
HYD	Región hidrofóbica
ICMT	Isoprenilcisteína carboximetiltransferasa
<i>Ma</i> -ICMT	<i>Methanosarcina acetivorans</i> ICMT
MW	Microondas
Pf	Punto de fusión
PM	Peso molecular
qt	Quintuplete

---

<sup>i</sup> [http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/joceanh/joceanh\\_abbreviations.pdf](http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/joceanh/joceanh_abbreviations.pdf)

<sup>ii</sup> [http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/jmcmr/jmcmr\\_abbreviations.pdf](http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/jmcmr/jmcmr_abbreviations.pdf)

Rce1	<i>Ras converting enzyme 1</i>
SAH	S-Adenosilhomocisteína
SAM	S-Adenosilmetionina
SIM	Detección del ión seleccionado
ta	Temperatura ambiente
TPCK	<i>N</i> <sub>α</sub> -Tosil-L-fenilalanil clorometil cetona
tPSA	Área topológica polar superficial
UCM	Universidad Complutense de Madrid

## 1. INTRODUCCIÓN

---



## 1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las enfermedades más extendidas y unas de las mayores causas de mortalidad en el mundo. Esta patología consiste en una proliferación descontrolada de células,<sup>1</sup> la cual puede ser debida a mutaciones en los genes que codifican proteínas implicadas en la regulación del ciclo celular, proliferación, diferenciación y motilidad. Estas mutaciones pueden dar lugar a la sobreactivación de oncoproteínas, o a la pérdida de actividad de proteínas denominadas supresoras de tumores.

### 1.1. Las proteínas CAAX

Entre las proteínas que se encuentran a menudo implicadas en el desarrollo del cáncer están los miembros de la familia de proteínas CAAX,<sup>2</sup> las cuales controlan la regulación de numerosos procesos del ciclo celular en células eucariotas como el crecimiento, proliferación, diferenciación y morfología. Estas proteínas se caracterizan por la presencia en su extremo carboxilo terminal del tetrapéptido CAAX, en el que C representa el aminoácido cisteína, A, aminoácidos alifáticos y X, cualquier aminoácido. La presencia de la secuencia CAAX es característica de un procesado post-traducciona que consta de tres etapas (Figura 1).<sup>3</sup>

(i) En primer lugar, un residuo de naturaleza isoprenoide (farnesilo o geranilgeranilo) se une mediante un enlace tioéter a la cisteína de la secuencia CAAX.<sup>4</sup> Esta reacción está catalizada por la enzima farnesiltransferasa (FTasa) o por la enzima geranilgeraniltransferasa de tipo I (GGTasa I). Generalmente cuando en la secuencia CAAX, X es el aminoácido metionina, serina, glutamina o alanina, la reacción es llevada a cabo por la FTasa, mientras que si X es leucina, es catalizada por la GGTasa I, si bien la predicción del tipo de prenilación basada en el aminoácido X de la secuencia CAAX, necesita ser confirmada experimentalmente.<sup>5-7</sup> En ocasiones algunas proteínas CAAX pueden ser procesadas por ambas enzimas indistintamente, como K-Ras, RhoB y RhoH.

(ii) En una segunda etapa, la proteína CAAX prenilada se transloca desde el citosol hasta el retículo endoplasmático donde se asocia a la membrana de éste insertando la cadena lipofílica isoprenoide en la bicapa de fosfolípidos. Aquí es reconocida por la endoproteasa *Ras converting enzyme 1* (Rce1), una proteína integral de la membrana del retículo endoplasmático con el centro activo orientado hacia el citosol<sup>8,9</sup> que produce la proteólisis de los últimos tres aminoácidos del extremo carboxilo terminal (-AAX) contiguos al residuo de cisteína.<sup>10</sup>

(iii) Finalmente, el extremo carboxilo terminal libre de dicha cisteína es metilado en una reacción de esterificación catalizada por la enzima isoprenilcisteína carboximetiltransferasa (ICMT), que al igual que la Rce1, es una proteína de membrana localizada en el retículo endoplasmático.<sup>11</sup> A diferencia de las dos anteriores reacciones de isoprenilación y proteólisis, la reacción de metilesterificación es potencialmente reversible, pero no se ha identificado aún una metilesterasa específica que catalice este proceso.<sup>12,13</sup>

La secuencia de modificaciones post-traduccionales produce un aumento en la hidrofobicidad de la proteína que propicia su traslocación a la membrana celular (Figura 1), dando lugar a numerosas interacciones proteína-proteína. Aunque esta secuencia de reacciones es la más conocida, aún quedan aspectos por esclarecer en cuanto a las modificaciones post-traduccionales de las proteínas CAAX, ya que no todas ellas son reconocidas por las enzimas implicadas en la primera etapa de prenilación, FTasa y GGTasa I,<sup>13</sup> lo que indica la existencia de otras enzimas implicadas en el procesamiento post-traduccionales de algunas proteínas de la familia CAAX.

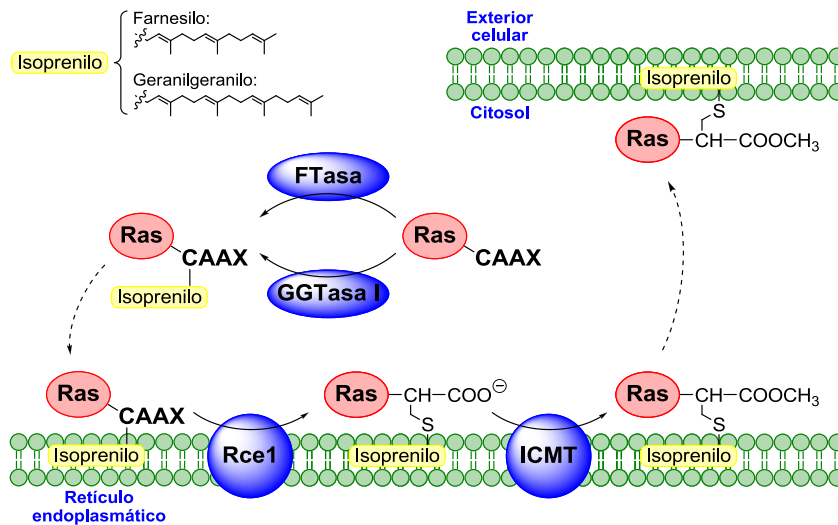


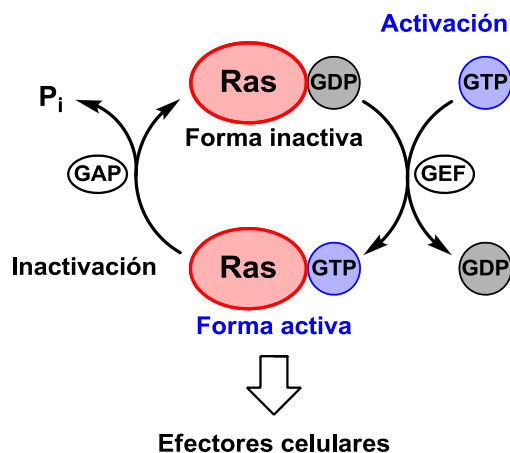
Figura 1. Procesamiento post-traduccionales de las proteínas Ras.

## 1.2. La superfamilia de proteínas Ras

Entre las proteínas CAAX implicadas en el desarrollo del cáncer en humanos mejor estudiadas y caracterizadas se encuentran los miembros de la superfamilia Ras.<sup>2,14</sup> Ésta se divide, basándose en similitudes de secuencia y función, en cinco subgrupos mayoritarios: Ras, Rho, Rab, Ran y Arf.<sup>15</sup>

Todas ellas son GTPasas de peso molecular relativamente bajo (20-35 kDa) que actúan como interruptores moleculares que alternan entre dos estados: un estado inactivo en el que la proteína Ras forma un complejo con guanosina 5'-difosfato (GDP) y un estado activo en el que forma un complejo con guanosina 5'-trifosfato (GTP).<sup>16</sup> El equilibrio entre estos dos estados es regulado por dos proteínas: el factor de intercambio de nucleótidos de guanina (*guanine nucleotide exchange factor*, GEF) que promueve la activación liberando GDP y favoreciendo la unión de GTP, y la proteína activadora de la actividad GTPasa (*GTPase activating protein*, GAP) que promueve la inactivación acelerando la actividad GTPasa intrínseca de las proteínas Ras (Figura 2).<sup>17</sup>

Cuando están unidas a GTP, las proteínas Ras activan un gran número de efectores celulares, regulando la proliferación, migración y apoptosis celular.<sup>13,18</sup> Una de las rutas de transducción de señales activadas por las proteínas Ras especialmente importante es la de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (*mitogen activated protein kinases*, MAPKs), las cuales a su vez activan en cascada a otras proteínas quinasas así como la transcripción de proteínas a través de una secuencia de fosforilaciones.<sup>19</sup>



**Figura 2.** Ciclo de activación-inactivación de la proteína Ras.

Las mutaciones en los genes que codifican las proteínas Ras frecuentemente implican una pérdida de la actividad intrínseca GTPasa y una insensibilidad a la acción de las proteínas GAPs sobre ella,<sup>20</sup> dando lugar a una activación descontrolada de todas estas vías de señalización celular que desembocan en procesos oncogénicos.<sup>14,21</sup>

### **1.3. Enzimas implicadas en las modificaciones post-traduccionales de las proteínas Ras como dianas terapéuticas para el tratamiento del cáncer**

Aproximadamente un 30% de los tumores presentan mutaciones en las proteínas Ras, siendo esta tasa especialmente elevada en los tumores de páncreas, de colon, de pulmón y hematológicos.<sup>18,20,22-23</sup> En estos tumores, la sobreactivación de Ras contribuye en gran medida a diversos aspectos del fenotipo oncológico, como la desregulación del ciclo de crecimiento celular, angiogénesis, apoptosis y metástasis.<sup>24</sup> Considerando el importante papel que tienen las proteínas Ras en el desarrollo de tumores, se han llevado a cabo muchos esfuerzos dirigidos a la inhibición de estas proteínas como estrategias contra el cáncer.<sup>25,26</sup> Sin embargo, la inactivación directa de la proteína Ras con el fin de bloquear su actividad ha demostrado ser un objetivo poco factible.<sup>27</sup> Así, en los últimos años, el interés se ha centrado en estrategias alternativas para inhibir la actividad de la proteína Ras, como el bloqueo de las enzimas implicadas en las modificaciones del tetrapéptido carboxilo terminal CAAX,<sup>13</sup> es decir, en el desarrollo de inhibidores de las enzimas responsables de las tres etapas del procesado post-traduccionales de Ras.

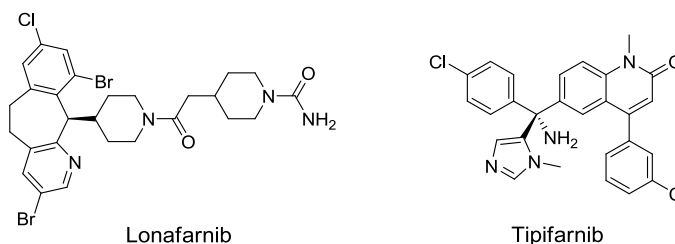
#### **1.3.1. Inhibidores del proceso de prenilación**

De las enzimas implicadas en el procesamiento post-traduccionales de las proteínas Ras, las enzimas encargadas de unir el resto de isoprenilo (farnesilo o geranylgeranilo) a la cisteína del tetrapéptido CAAX han sido las más estudiadas. Esto es debido a que ambas enzimas, FTasa y GGTasa I, son solubles, lo que ha facilitado su purificación y estudio. Ambas enzimas se aislaron y purificaron del citosol de células provenientes de tejido cerebral, bien de rata (FTasa)<sup>28</sup> o de bovino (GGTasa I).<sup>29</sup> Las dos enzimas son proteínas heterodiméricas con una subunidad  $\alpha$  común y una subunidad  $\beta$  específica de cada una de ellas.<sup>30</sup> Además, en ambos casos, se trata de metaloenzimas que requieren la presencia de zinc para su actividad. La enzima FTasa además, requiere la presencia de magnesio.<sup>4</sup>

### 1.3.1.1. Inhibidores de FTasa

La enzima FTasa ha sido la más estudiada de cara a su posible intervención farmacológica, debido a que la reacción de farnesilación que cataliza es un paso limitante en el procesamiento post-traducciona de las proteínas CAAX. Esta enzima actúa sobre un menor número de sustratos en comparación con las enzimas Rce1 e ICMT, lo que podría traducirse en una menor toxicidad o efectos colaterales derivados del uso de inhibidores de esta enzima.<sup>3</sup> Además, las tres principales proteínas Ras implicadas en oncogénesis, H-, K- y N-Ras, son sustratos de la FTasa.

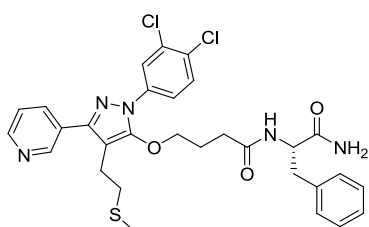
Durante las pasadas décadas se han desarrollado varios inhibidores de la enzima FTasa<sup>31</sup> y algunos de ellos han sido estudiados en ensayos clínicos, destacando los fármacos lonafarnib y tipifarnib.



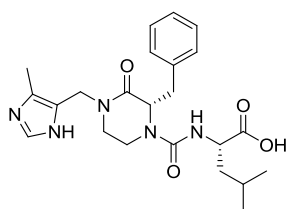
Sin embargo, los prometedores resultados obtenidos en estos estudios no han tenido una respuesta comparable en pacientes,<sup>32-34</sup> especialmente frente a tumores sólidos. Esto es debido posiblemente a que en ausencia de actividad de la enzima FTasa, las isoformas más comúnmente implicadas en procesos oncológicos humanos, N-Ras y K-Ras, son sustratos de la enzima GGTasa I, manteniendo las proteínas Ras geranilgeraniladas su actividad biológica.<sup>27,35</sup> No obstante, los inhibidores de FTasa han mostrado en ensayos clínicos cierto potencial contra ciertos tipos de cánceres hematológicos,<sup>36,37</sup> y hay evidencias de que pueden tener eficacia para el tratamiento de otras enfermedades.<sup>26,38-41</sup>

### 1.3.1.2. Inhibidores de GGTasa I

Los resultados negativos obtenidos en ensayos clínicos con inhibidores de FTasa y el hecho de que otras proteínas Ras geranilgeraniladas también son importantes en procesos oncogénicos,<sup>42</sup> estimuló el desarrollo de inhibidores de la enzima GGTasa I.<sup>43-46</sup> Entre ellos cabe destacar los compuestos GGTI-DU40 ( $K_i = 0.8 \text{ nM}$ )<sup>43</sup> y GGTI-2418 ( $CI_{50} = 9.5 \text{ nM}$ ),<sup>46</sup> identificados mediante técnicas de cribado de alto rendimiento (*high-throughput screening*, HTS).



GGTI-DU40



GGTI-2418

Los inhibidores de la enzima GGTasa I han mostrado eficacia en ensayos *in vitro* induciendo la apoptosis en cultivos de células tumorales, pero algunos estudios sugieren que también presentan toxicidad en modelos de ratón.<sup>47-49</sup> Sin embargo, otros resultados en modelos animales muestran que la inactivación del gen que codifica la subunidad  $\beta$  de la GGTasa I reduce el crecimiento tumoral y aumenta la supervivencia sin afectar a células no tumorales.<sup>50</sup> Estos resultados contradictorios y el hecho de que la mayoría de las proteínas Rho sean modificadas por la enzima FTasa y no por la GGTasa I,<sup>7</sup> sugieren que los inhibidores de la enzima GGTasa I podrían usarse en combinación con otros agentes antitumorales con el fin de maximizar sus efectos farmacológicos.

### 1.3.2. Enzimas Rce1 e ICMT

Debido a los limitados resultados obtenidos en estudios *in vivo* con inhibidores de la enzima FTasa y a la posible toxicidad debida a la inhibición de la enzima GGTasa I, las dos enzimas implicadas en los pasos siguientes de proteólisis (Rce1) y carboximetilación (ICMT) se han planteado recientemente como dos posibles dianas dotadas de gran potencial terapéutico en la lucha contra el cáncer.<sup>13</sup>

El hecho de que casi todas las proteínas CAAX preniladas sean procesadas por las enzimas Rce1 e ICMT, independientemente del tipo de prenilación que hayan sufrido, podría suponer en principio un punto de partida favorable en el desarrollo de inhibidores de estas dos enzimas, dado que actúan sobre un número de sustratos mayor que las enzimas FTasa y GGTasa I. Aunque la inactivación completa de los genes que codifican ambas enzimas, Rce1<sup>51</sup> e ICMT<sup>52</sup>, ha resultado letal en embriones de ratón, también se ha comprobado que las proteínas Ras que no han sufrido los dos últimos pasos del procesamiento post-traducciona (catalizados por Rce1 e ICMT), mantienen parcialmente su localización y función.<sup>53,54</sup> Este resultado, unido a las evidencias de que la disminución de la actividad de las proteínas CAAX podría suponer una aproximación terapéutica selectiva,<sup>55,56</sup> convierte a las enzimas Rce1 e ICMT en dos dianas terapéuticas potencialmente más eficaces que las enzimas FTasa y GGTasa I en la lucha contra el cáncer.

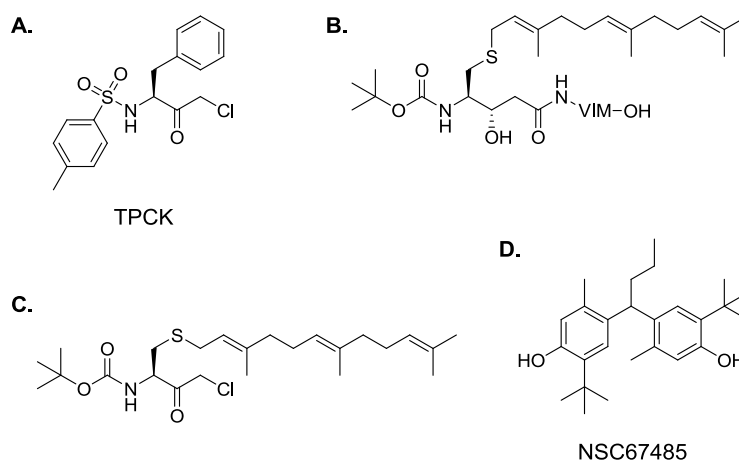
### 1.3.2.1. Inhibidores de Rce1

Los inhibidores de Rce1 descritos hasta el momento se pueden clasificar en tres grandes grupos: inhibidores generales de proteasas, análogos de sustrato y otras estructuras identificadas a partir de librerías de compuestos.

Dentro de los inhibidores generales de proteasas, son bien conocidas las clorometilcetonas,<sup>57</sup> entre las que destaca el compuesto TPCK (*N*<sub>α</sub>-tosil-*L*-fenilalanil clorometil cetona, Figura 3A,  $CI_{50} = 35 \mu M$ ), y ciertos compuestos organomercurícos.<sup>58</sup>

Respecto a los análogos de sustrato, éstos tienen en común la incorporación del grupo farnesilo bien en estructuras peptídicas (Figura 3B,  $CI_{50} = 58 nM$ ),<sup>59</sup> o bien en clorometilcetonas (Figura 3C) mostrando un alto porcentaje de inhibición a concentraciones micromolares.<sup>60</sup>

Por último, mediante HTS se han identificado compuestos de origen tanto natural<sup>61,62</sup> como sintético<sup>63</sup> con capacidad de inhibir la enzima Rce1. Dentro de los compuestos de origen sintético, el inhibidor más potente de Rce1 (NSC67485, Figura 3D,  $CI_{50} = 13 \mu M$ ) forma agregados coloidales, característica observada normalmente en inhibidores no selectivos,<sup>64</sup> lo que podría interferir en su actividad como inhibidor de Rce1.



**Figura 3. A-D.** Inhibidores representativos de la enzima Rce1.

### 1.3.2.2. Inhibidores de ICMT

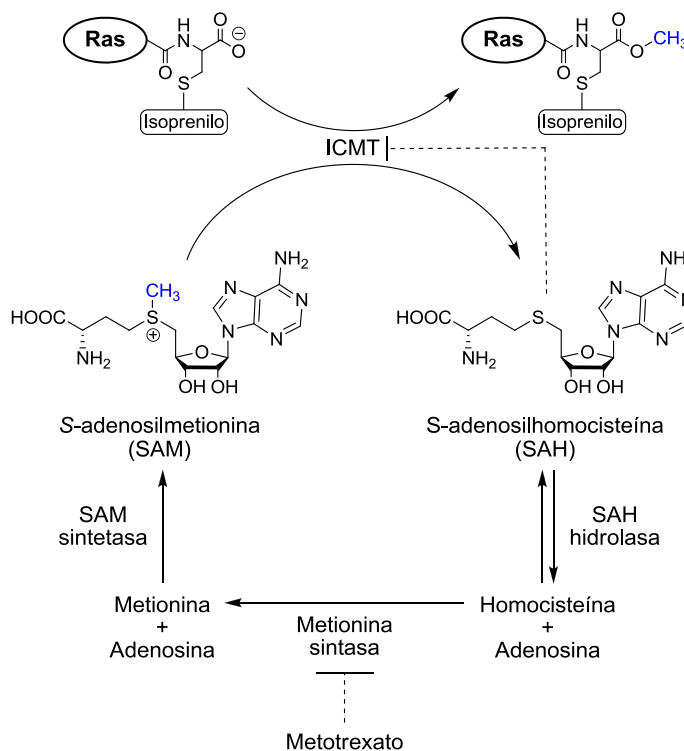
Hasta estos momentos, se han descrito diversos tipos de inhibidores de ICMT y se pueden clasificar en función de su estructura y mecanismo de acción.

#### (i) Análogos de producto

Los análogos de producto están tipificados por la *S*-adenosilhomocisteína (SAH) y compuestos que aumentan los niveles intracelulares de SAH.<sup>65,66</sup> La enzima ICMT cataliza la transferencia de un grupo metilo desde el cosustrato endógeno *S*-adenosilmetionina (SAM) a la proteína Ras. En ese proceso, la molécula SAM se convierte en SAH (Figura 4), la cual tiene actividad como inhibidor de ICMT al tratarse de uno de los productos de la reacción que cataliza.<sup>67</sup>

En este sentido, se ha descubierto que el metotrexato, un antifolato usado habitualmente en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer por su capacidad de inhibir la biosíntesis de nucleótidos, inhibe la enzima ICMT con una  $CI_{50}$  de 7.5  $\mu$ M.<sup>68</sup> Su acción es debida a que bloquea la biosíntesis del aminoácido metionina a partir de homocisteína, por lo que ésta se acumula y reacciona con la adenosina presente en las células produciendo un aumento en las concentraciones de SAH, el cual, a su vez, inhibe la enzima ICMT (Figura 4).

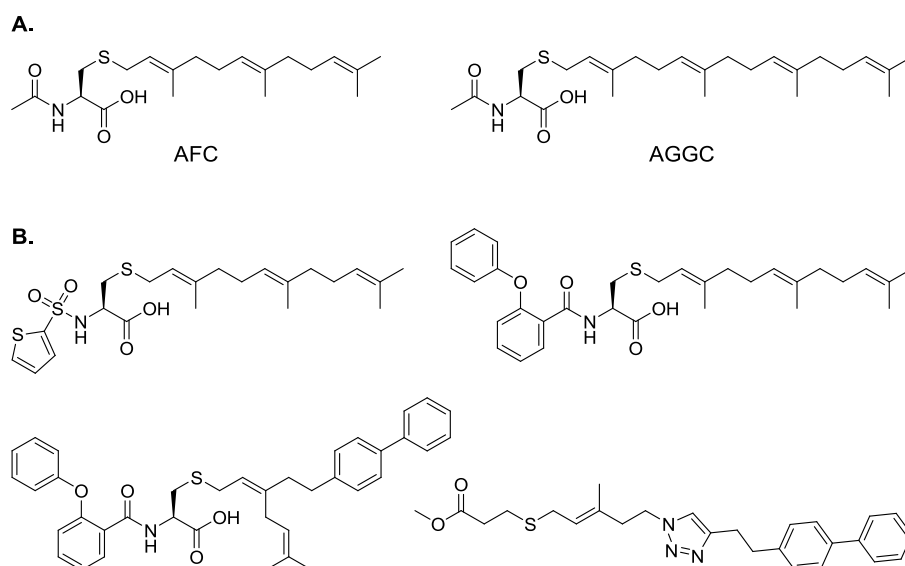
Dado que los derivados SAM y SAH son el cosustrato y producto común, respectivamente, de gran número de metiltransferasas, los análogos de producto no tienen en principio un elevado interés terapéutico como inhibidores de ICMT debido a su baja selectividad, ya que podrían interferir en general con todas las metiltransferasas celulares.<sup>23,69</sup>



**Figura 4.** Estructuras de S-adenosilmetionina (SAM), S-adenosilhomocisteína (SAH) y relación entre ambos metabolitos.

### (ii) Análogos de sustrato

El mínimo elemento estructural necesario para actuar como sustrato de la enzima ICMT es el aminoácido cisteína modificado con un grupo prenilo. Así, los compuestos *N*-acetil-*S*-farnesil-*L*-cisteína (AFC) o *N*-acetil-*S*-geranilgeranil-*L*-cisteína (AGGC) actúan como inhibidores competitivos de ICMT (Figura 5A).<sup>13</sup> En este sentido, se han sintetizado un gran número de derivados del compuesto AFC con valores de  $Cl_{50}$  comprendidos entre 0.8 y 8.8  $\mu$ M (Figura 5B).<sup>70-74</sup> Sin embargo, se ha comprobado que este tipo de moléculas inducen efectos pleiotrópicos, lo que limita enormemente su posible aplicación como fármacos.<sup>75</sup>

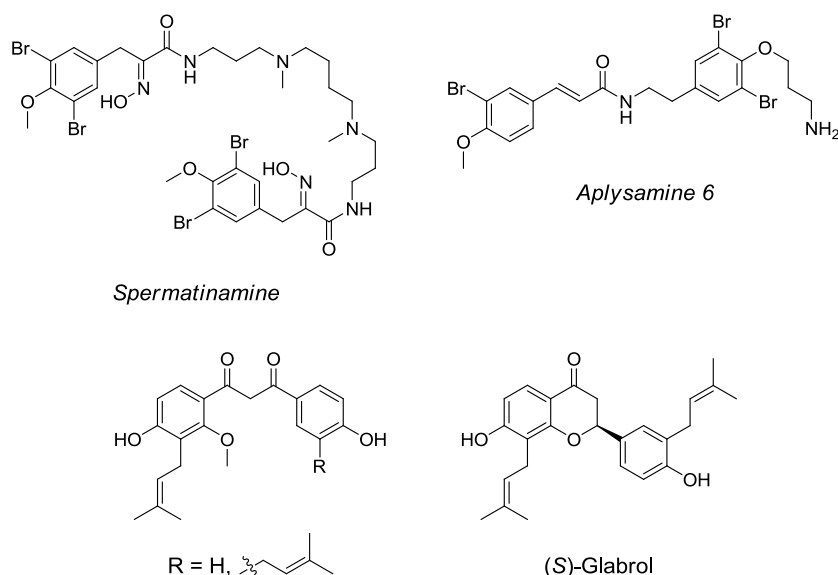


**Figura 5.** Análogos de sustrato de la enzima ICMT.

### (iii) Inhibidores de origen natural

Recientemente, empleando HTS, se han identificado los primeros inhibidores de la enzima ICMT de origen natural (Figura 6). Entre ellos destacan dos compuestos procedentes de una esponja marina del género *Pseudoceratina* sp., denominados *spermatinamine* ( $CI_{50} = 1.9 \mu\text{M}$ )<sup>76</sup> y *aplysamine 6* ( $CI_{50} = 14 \mu\text{M}$ ).<sup>77</sup> Asimismo, a partir de un extracto de la planta *Hovea parvicalyx* se han aislado dos nuevos derivados (mono- y diprenilado) de  $\beta$ -hidroxichalcona (con  $CI_{50}$  de 30 y 17  $\mu\text{M}$ , respectivamente) y la flavanona (*S*)-glabrol ( $CI_{50} = 25 \mu\text{M}$ ).<sup>78</sup>

Si bien estos compuestos aún no han sido evaluados en ensayos *in vivo*, sus estructuras podrían servir como punto de partida para el desarrollo de nuevos inhibidores de la enzima ICMT.



**Figura 6.** Inhibidores de la enzima ICMT de origen natural.

#### (iv) Inhibidores de origen sintético

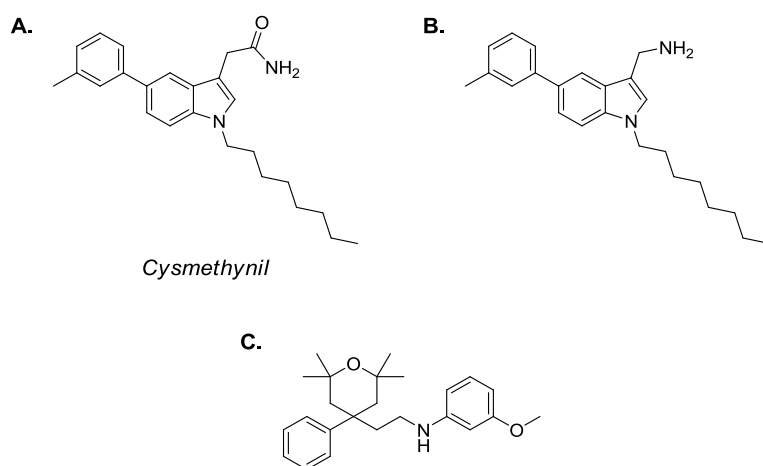
El primer inhibidor de origen sintético estructuralmente distinto a los inhibidores de ICMT descritos hasta el momento es el denominado *cysmethynil* (Figura 7A,  $CI_{50} = 2.4 \mu M$ ), identificado en 2005 mediante HTS a partir de una librería de más de 10.000 compuestos.<sup>79,80</sup> Este indol se ha caracterizado como un inhibidor competitivo respecto al sustrato y no competitivo respecto al cosustrato SAM.<sup>81</sup> Asimismo, se ha demostrado que su mecanismo de inhibición es dependiente del tiempo, implicando una rápida asociación inicial con la enzima seguida de una lenta isomerización que da lugar al complejo enzima-inhibidor.<sup>81</sup>

En células tumorales, el tratamiento con *cysmethynil* produce alteraciones en la localización subcelular de Ras, deficiencias en la señalización de los factores de crecimiento e inhibición de la proliferación celular.<sup>79</sup> Estudios posteriores han demostrado la actividad citotóxica del *cysmethynil* en células tumorales de próstata PC3, así como su capacidad para controlar el crecimiento tumoral en un modelo de cáncer de próstata.<sup>82</sup>

Estos interesantes resultados han impulsado el desarrollo de estudios de relación estructura-actividad (*structure-activity relationship*, SAR) en los cuales se ha estudiado la influencia de diversas modificaciones estructurales en la molécula de *cysmethynil* sobre su capacidad para inhibir la actividad ICMT.

Entre los análogos obtenidos, la sustitución del grupo carboxamida por un grupo amina ha permitido mejorar ligeramente la capacidad inhibitoria del *cysmethynil* (Figura 7B,  $CI_{50} = 0.7 \mu\text{M}$ ).<sup>83,84</sup>

Más recientemente, el empleo de métodos de HTS junto con procesos de optimización ha permitido identificar una serie de tetrahidropiranos con una elevada capacidad para inhibir la actividad ICMT *in vitro* (Figura 7C,  $CI_{50} = 1.3 \text{ nM}$ ) aunque con moderados efectos citotóxicos en un panel de diversas líneas tumorales, con valores de inhibición de crecimiento celular ( $GI_{50}$ ) comprendidos entre 0.3 y 100  $\mu\text{M}$ .<sup>85</sup>



**Figura 7. A-C.** Inhibidores representativos de la enzima ICMT de origen sintético.

### 1.4. La enzima ICMT como diana terapéutica

De todo lo expuesto anteriormente se deduce que de las cuatro enzimas implicadas en el procesado post-traducciona l de las proteínas CAAX: FTasa, GGTasa I, Rce1 e ICMT, son estas dos últimas las que en estos momentos están recibiendo una mayor atención en cuanto a su potencial como dianas terapéuticas para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, la aparición de cardiopatías en ratones *knockout* de la proteasa Rce1<sup>86,87</sup> junto con el hecho de que los inhibidores de la enzima ICMT parecen inducir mayores efectos antitumorales que los inhibidores de la proteasa Rce1,<sup>88,89</sup> hacen de la enzima ICMT una diana terapéutica más atractiva.

A pesar de este interés, el desarrollo de inhibidores de esta enzima se ha visto dificultado por la falta de homología de la enzima ICMT con otras metiltransferasas de mamíferos<sup>90</sup> así como por la ausencia de modelos estructurales. De hecho, sólo muy recientemente, se ha descrito la primera estructura tridimensional (3D) de la ICMT procariota, cristalizada en complejo con el cosustrato SAM.<sup>91</sup> Por tanto, el desarrollo de inhibidores potentes, selectivos y con buen perfil farmacocinético es un aspecto clave para la validación del potencial terapéutico de la enzima ICMT como diana en el desarrollo de nuevos agentes antitumorales, siendo éste el objetivo principal del presente trabajo de investigación.



## **2. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS DEL TRABAJO**

---



## 2. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

La enzima ICMT se ha propuesto recientemente como una posible diana terapéutica para el tratamiento de procesos oncológicos. Se trata de una de las enzimas implicadas en el procesamiento post-traducciona l de la proteína Ras, la cual se encuentra sobreexpresada en diversos tipos de cáncer. Sin embargo, su validación se ha visto limitada hasta el momento debido a la escasez de inhibidores y a la falta de estudios sistemáticos sobre los elementos estructurales necesarios para inhibir la actividad ICMT.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, este trabajo de investigación se dirige a la identificación de nuevos compuestos como inhibidores de la enzima ICMT. Este objetivo se abordará mediante las siguientes etapas llevadas a cabo de forma iterativa:

1. Diseño de inhibidores: elaboración de un modelo de farmacóforo para la enzima ICMT y diseño basado en la estructura del inhibidor sintético *cysmethynil*.
2. Síntesis de los compuestos diseñados y determinación de su capacidad para inhibir la actividad de la enzima ICMT.
3. Proceso *hit to lead*.



### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---



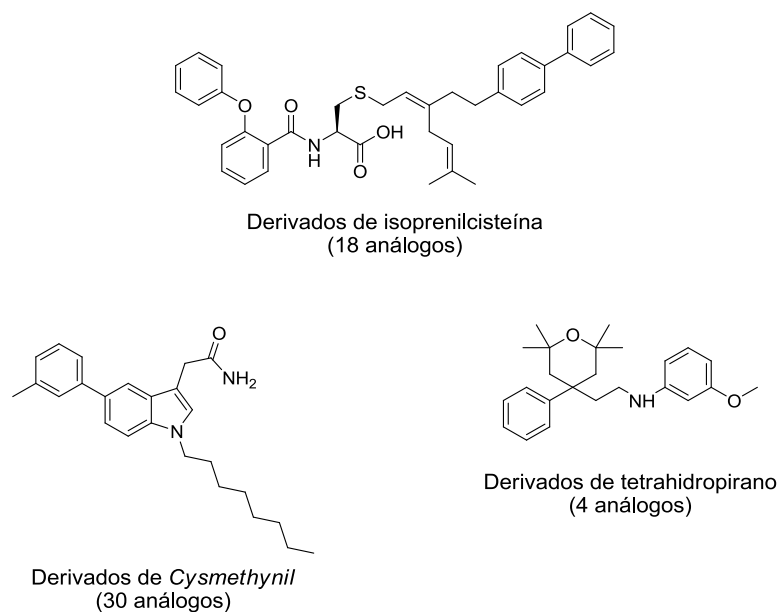
### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Al inicio de este proyecto, la información sobre la enzima ICMT era escasa: apenas se tenían datos acerca de su estructura tridimensional y se habían descrito muy pocos inhibidores potentes y selectivos, en su mayoría basados en la estructura del sustrato endógeno (S-farnesilcisteína) o bien provenientes de HTS. Por tanto, tampoco se habían llevado a cabo estudios SAR sistemáticos. En este contexto, decidimos abordar el diseño de nuevas estructuras mediante dos aproximaciones: (i) construcción de un modelo de farmacóforo y (ii) diseño basado en la estructura del inhibidor más representativo y estudiado hasta la fecha, *cysmethynil*.

#### **3.1. Diseño de inhibidores basado en un modelo de farmacóforo**

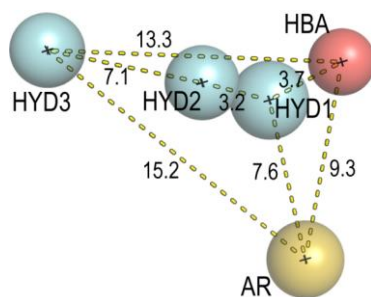
##### **3.1.1. Elaboración de un modelo de farmacóforo**

Con el fin de esclarecer los requisitos estructurales mínimos necesarios para la inhibición de la enzima ICMT, se ha construido un modelo de farmacóforo 3D empleando el *software* Accelrys Discovery Studio 2.5.<sup>92</sup> Para ello, en primer lugar se seleccionaron de la bibliografía 52 inhibidores de la enzima ICMT pertenecientes a las tres principales clases estructurales identificadas hasta el momento y con un amplio intervalo de actividades (Tabla S1, páginas S3-S9). Los inhibidores más potentes representativos de dichas clases estructurales se muestran en la Figura 8.

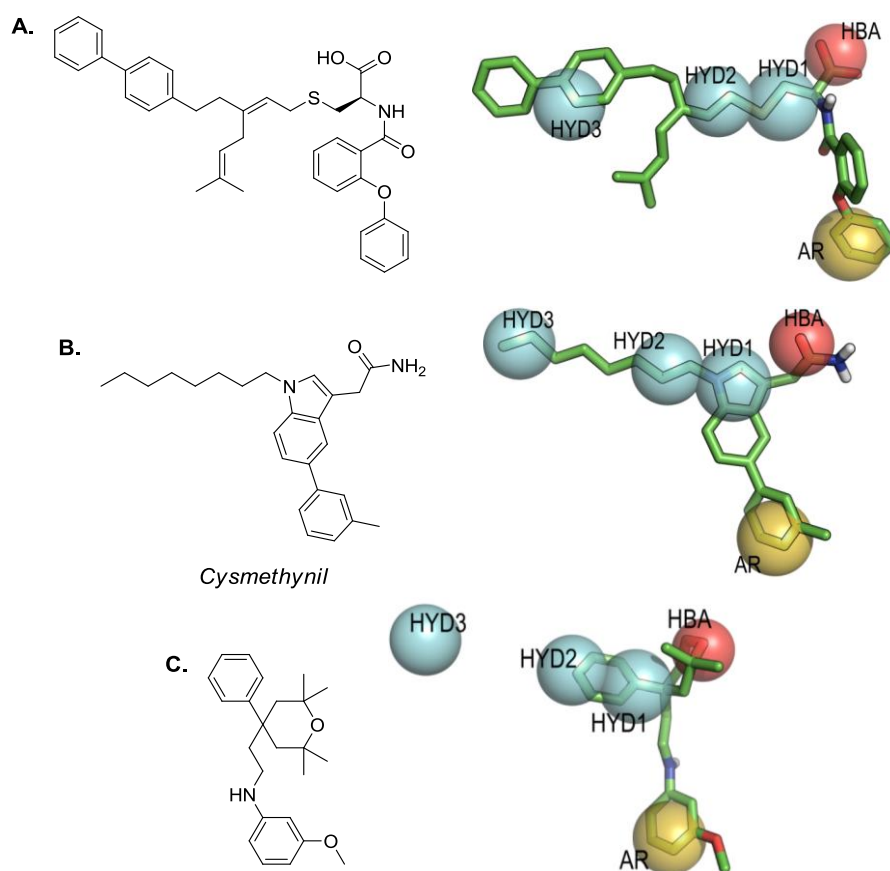


**Figura 8.** Inhibidores de la enzima ICMT representativos de las distintas clases estructurales.

La mejor hipótesis (Figura 9) consta de tres regiones hidrofóbicas (*hydrophobic region*, HYD), un anillo aromático (*aromatic ring*, AR) y un grupo aceptor de enlace de hidrógeno (*H-bonding acceptor*, HBA), y presenta buenos parámetros estadísticos con costes fijo, nulo y total de 125.9, 272.4 y 163.5 *bits*, respectivamente, siendo el coste de configuración de 17.2, los cuales indican una probabilidad mayor del 90% de representar una hipótesis predictiva. La bondad del modelo obtenido se evaluó empleando el método Fisher. Para ello, se han permutado aleatoriamente los valores de inhibición, generando así nuevas hipótesis. Ninguna de estas hipótesis presenta un coste total inferior a la hipótesis seleccionada como modelo de farmacóforo, lo que corrobora que existe un 95% de probabilidad de representar una correlación real con los datos obtenidos. En la Figura 10 se muestra la superposición de algunos inhibidores representativos en el modelo de farmacóforo postulado.



**Figura 9.** Modelo 3D de farmacóforo para inhibidores de la enzima ICMT. Los elementos estructurales son tres regiones hidrofóbicas (HYD, en azul), un anillo aromático (AR, en amarillo) y un grupo aceptor de enlace de hidrógeno (HBA, en rojo) situados a las distancias interatómicas (en Å) mostradas.

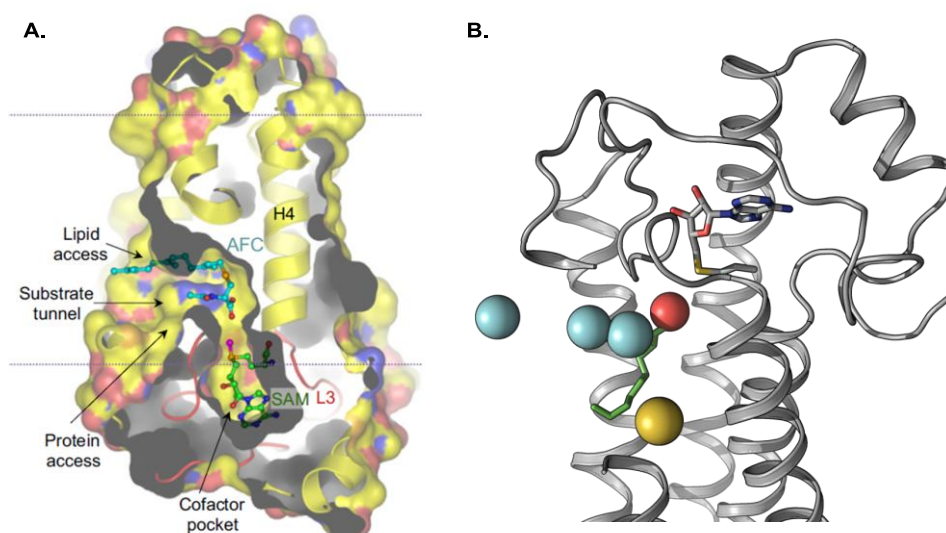


**Figura 10. A-C.** Inhibidores representativos superpuestos en el modelo de farmacóforo propuesto.

### 3.1.2. Validación del modelo de farmacóforo

Los requisitos farmacofóricos se introdujeron en la base de datos NCI2000<sup>93</sup> con el fin de identificar moléculas que cumplieran con la hipótesis de farmacóforo propuesta. El análisis de las moléculas resultantes de dicha búsqueda puso de manifiesto la existencia de similitudes estructurales, incluyendo la presencia de un HBA, un anillo aromático, un espaciador alifático y un grupo hidrofóbico, siendo este último en ocasiones un segundo anillo aromático.

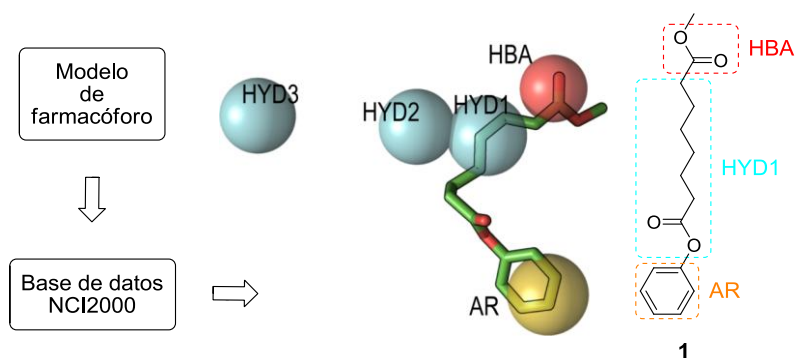
Por otro lado, la superposición de los elementos farmacofóricos en el modelo 3D de la enzima (Figura 11B), construido a partir de la estructura cristalográfica descrita para el ortólogo procarionta de la enzima ICMT (*Methanosarcina acetivorans* ICMT, *Ma*-ICMT, Figura 11A),<sup>91</sup> pone de manifiesto que la tercera zona hidrofóbica (HYD3) queda fuera de la estructura de la proteína formando un túnel hidrofóbico que se extiende a través de la membrana y da acceso al centro activo.



**Figura 11.** A. Estructura cristalográfica del complejo formado por la enzima *Ma*-ICMT y los sustratos *N*-acetil-*S*-farnesil-*L*-cisteína (AFC) y *S*-adenosilmetionina (SAM).<sup>91</sup> B. Superposición del modelo de farmacóforo y el modelo 3D de la enzima ICMT humana.

Esta consideración, junto con el hecho de que las zonas HYD2 e HYD3 no se encuentran ocupadas en algunos de los inhibidores descritos (véase, por ejemplo, Figura 10C) nos llevó, en el diseño inicial, a prescindir de dichas zonas. Adicionalmente, en el caso de que la ocupación de las regiones HYD2/3 no sea realmente un requisito imprescindible, supondría una menor lipofilia del compuesto, representada por el peso molecular (PM) y el logaritmo de coeficiente de partición octanol/agua (LogP), siendo deseables en general valores de LogP inferiores a 5, lo que implica una adecuada solubilidad en medios acuosos, repercutiendo en una buena biodisponibilidad.<sup>94</sup> Además, el parámetro LogP permite estimar posibles efectos hepato- y cardiotoxicos debidos a interacciones con el citocromo P450 y el canal de potasio hERG (*human ether-a-go-go-related gene*), respectivamente. Por tanto, en general valores altos de LogP correlacionan con efectos secundarios indeseables.<sup>95</sup>

Teniendo en cuenta estas consideraciones, junto con la novedad estructural y la asequibilidad sintética, se diseñó el compuesto **1** como posible inhibidor de la enzima ICMT (Figura 12).



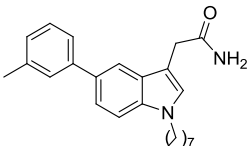
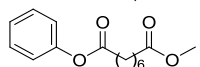
**Figura 12.** Superposición del compuesto diseñado **1** en el modelo de farmacóforo.

La superposición del compuesto diseñado **1** en el modelo de farmacóforo muestra que éste se orienta de forma que el anillo bencénico ocupa la región AR; el grupo carboxi terminal la zona HBA, y el espaciador hidrofóbico, la región HYD1, no llegando a ocupar las regiones hidrofóbicas HYD2 e HYD3 (Figura 12).

Con el fin de obtener una estimación *in silico* de las propiedades ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción), se han determinado los valores de LogP calculado (cLogP) y del área topológica polar superficial (tPSA), la cual se puede definir como la suma de las contribuciones superficiales de los átomos polares de la molécula (usualmente átomos de oxígeno, nitrógeno y los hidrógenos unidos a ellos) y cuyos valores correlacionan bien con las propiedades de transporte relacionadas con la absorción intestinal y la penetración en la barrera hematoencefálica. En general, se consideran óptimos valores de 50-100 Å<sup>2</sup> para obtener una buena absorción intestinal, posibilitando así la administración oral del compuesto.<sup>96</sup>

En la Tabla 1 se recogen los valores obtenidos para el inhibidor de referencia *cysmethynil* y el compuesto diseñado **1**, mostrando éste una disminución significativa en el carácter lipofílico.

**Tabla 1.** Parámetros físico-químicos calculados.<sup>a</sup>

Comp.	Estructura	PM (g/mol)	cLogP	tPSA (Å <sup>2</sup> )
<i>Cysmethynil</i>		376.5	7.00	46.3
<b>1</b>		264.3	3.09	52.6

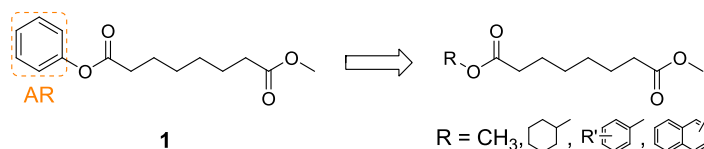
<sup>a</sup> Valores obtenidos con el programa ChemBioDraw 11.0.

El compuesto **1** fue sintetizado (Esquema 1, página 30) y se determinó su capacidad para inhibir la enzima ICMT, resultando un porcentaje de inhibición del 30% a una concentración de compuesto de 50 µM (Tabla 2, página 31). El resultado obtenido indica que, en efecto, el compuesto **1** es capaz de inhibir la actividad ICMT aunque con moderada potencia, lo que nos llevó a plantear una ampliación del campo estructural con el fin de realizar un estudio SAR sistemático enfocado a la mejora de la capacidad inhibitoria.

### 3.1.3. Exploración del campo estructural y estudio SAR

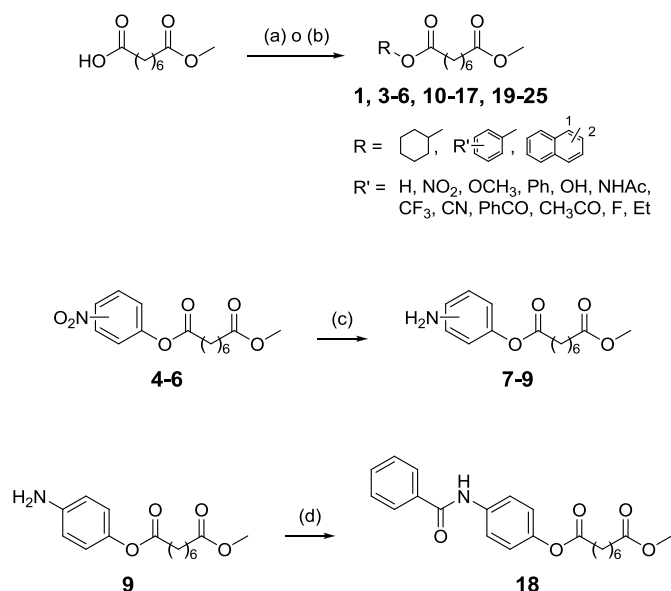
En el desarrollo del estudio SAR se plantearon modificaciones en los elementos farmacofóricos presentes en el compuesto **1**. Así, se llevó a cabo la ampliación del campo estructural en la región aromática (AR), el espaciador lipofílico (HYD1) y la zona aceptora de enlace de hidrógeno (HBA) (Figura 12, página 27).

#### (i) Modificaciones en la región aromática (AR).



En primer lugar se determinó la necesidad del sistema aromático mediante la sustitución del grupo fenilo presente en el compuesto **1** por un grupo metilo o ciclohexilo. A continuación, se analizó el efecto de las sustituciones en el anillo de benceno mediante la introducción de diversos grupos (nitro, amino, metoxi y fenilo) en las posiciones *orto*, *meta* y *para*. Puesto que los mejores resultados se obtuvieron para los derivados sustituidos en posición *para*, se estudió la influencia de los efectos electrónicos mediante la introducción de distintos sustituyentes en dicha posición. Por último, también se analizó el efecto de la sustitución del anillo bencénico por un grupo naftilo.

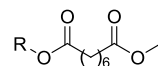
Los compuestos **1** y **3-25** (Tabla 2, página 31) se sintetizaron siguiendo la ruta mostrada en el Esquema 1, siendo el compuesto **2** (R = CH<sub>3</sub>) comercial. Mediante reacción de condensación entre el monoéster metílico del ácido subérico (octanodioico) con los alcoholes correspondientes empleando *N,N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) se obtuvieron los diésteres **1**, **4-6**, **10-17** y **19-25**. En el caso del derivado de ciclohexilo **3**, no fue posible aislar el producto del crudo de reacción y por ello la esterificación del monoéster metílico del ácido subérico con ciclohexanol se llevó a cabo empleando cloruro de benzoílo, trietilamina y DMAP. La posterior reducción de los nitroderivados **4-6** mediante hidrogenación catalítica, usando Pd/C al 10% en un reactor de flujo continuo, dio lugar a las anilinas **7-9** con rendimientos cuantitativos. Por último, la síntesis del benzoilamino derivado **18**, se llevó a cabo mediante condensación entre la anilina **9** y ácido benzoico en presencia de los agentes de acoplamiento 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y 1-hidroxibenzotriazol (HOBt).


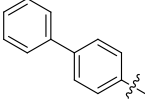
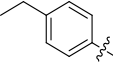

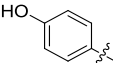

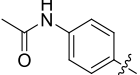
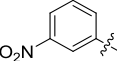
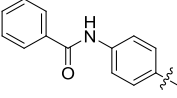
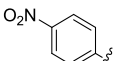
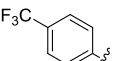

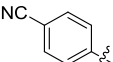
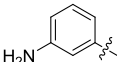
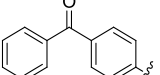
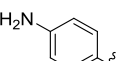
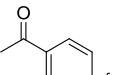
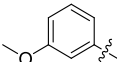
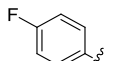
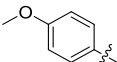

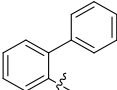
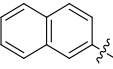
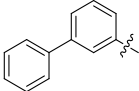


Reactivos y condiciones: (a) ROH, DCC, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 24-96%; (b) ROH, PhCOCl, Et<sub>3</sub>N, DMAP, THF, ta, 65%; (c) H<sub>2</sub>, Pd/C 10%, CH<sub>3</sub>OH, 40 °C, cuantitativo; (d) PhCOOH, EDC, HOBT, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 56%.

**Esquema 1**

La determinación de la capacidad de los compuestos **1-25** para inhibir la actividad ICMT se realizó empleando como fuente de enzima membranas procedentes de células *Sf9* que sobreexpresan ICMT, y como sustratos biotinil-S-farnesilcisteína (BFC) y S-adenosilmetionina marcada con tritio ([<sup>3</sup>H]SAM). La incubación de la enzima con los sustratos en presencia del compuesto objeto de estudio, permite cuantificar el porcentaje de inhibición de la reacción de metilesterificación, en la cual el grupo metilo tritiado de SAM es transferido al sustrato BFC, midiéndose la radioactividad incorporada mediante espectrometría de centelleo líquido. El análisis de los datos obtenidos permite cuantificar la capacidad inhibitoria de los compuestos (Tabla 2).

**Tabla 2.** Capacidad de los compuestos 1-25 para inhibir la enzima ICMT.

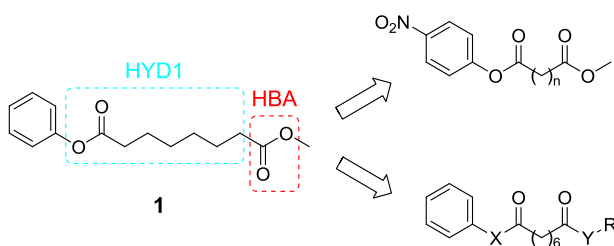
Comp.	R	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>	Comp.	R	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>
1		30	14		48
2	CH <sub>3</sub>	0	15		6
3		0	16		32
4		45	17		2
5		27	18		14
6		50	19		18
7		4	20		14
8		0	21		8
9		45	22		19
10		6	23		5
11		18	24		0
12		12	25		20
13		0	<i>Cysmethynil</i>		90

<sup>a</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>b</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50 μM.

Los datos obtenidos ponen de manifiesto la necesidad del sistema aromático, como indican los valores de inhibición mostrados por los compuestos **2** y **3**, los cuales resultaron ser completamente inactivos. Con respecto a la introducción de sustituyentes en distintas posiciones del anillo bencénico (compuestos **4-14**), la posición *para* es claramente la que permitió obtener los mejores valores de inhibición, como se observa al comparar los compuestos **4**, **5** y **6** (45, 27 y 50% de inhibición, respectivamente); **7**, **8** y **9** (4, 0 y 45%, respectivamente); **10** y **11** (6 y 18%, respectivamente); y **12**, **13** y **14** (12, 0 y 48%, respectivamente).

Por tanto, se seleccionó dicha posición para seguir estudiando la influencia de una mayor variedad de sustituyentes (compuestos **15-23**) en la capacidad inhibitoria de los nuevos derivados. Los resultados obtenidos indican que no existe una correlación clara entre la actividad y el carácter electroattractor o electrodonador de los sustituyentes, sin mejorar, ninguna de las modificaciones, el 50% de inhibición del compuesto **6**. También se ha estudiado la sustitución del anillo aromático de fenilo por un grupo naftilo (compuestos **24** y **25**), mostrando una disminución significativa en la capacidad inhibitoria. Por tanto, los compuestos con mejores propiedades inhibitorias de esta primera serie son los derivados **4**, **6**, **9** y **14**, con porcentajes de inhibición en torno al 50% a una concentración de 50  $\mu$ M.

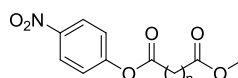
(ii) Modificaciones en el espaciador (HYD1) y en la zona aceptora de enlaces de hidrógeno (HBA).



A continuación, se llevaron a cabo modificaciones en la longitud del espaciador así como en la zona HBA. Para evaluar si el acortamiento ( $n = 4$ ) o alargamiento ( $n = 8$ ) del espaciador darían lugar a una mejora en la capacidad inhibitoria, se sintetizaron los compuestos **26** y **27** manteniendo como sustituyente en el anillo bencénico el grupo nitro en posición *para* presente en el derivado **6**, con un porcentaje de inhibición del 50%, siendo el mejor compuesto obtenido hasta el momento.

Dichos compuestos se prepararon a partir de *p*-nitrofenol y el monoéster metílico del ácido adípico (hexanodioico) o sebácico (decanodioico), respectivamente, mediante un procedimiento análogo al descrito anteriormente. El acortamiento del espaciador produce una clara disminución en la capacidad inhibitoria (el compuesto **26** inhibe el 35% de la actividad). Sin embargo, un aumento en la longitud del espaciador, no produjo mejoras significativas en la actividad, mostrando el compuesto **27** una inhibición del 52%, muy similar a la mostrada por el compuesto **6** (Tabla 3).

**Tabla 3.** Influencia de la longitud del espaciador en la capacidad para inhibir la enzima ICMT.



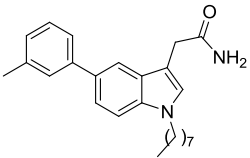
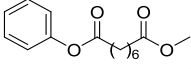
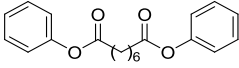
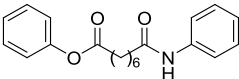
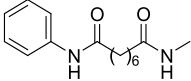
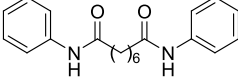
Comp.	n	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>
<b>6</b>	6	50
<b>26</b>	4	35
<b>27</b>	8	52

<sup>a</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>b</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50  $\mu$ M.

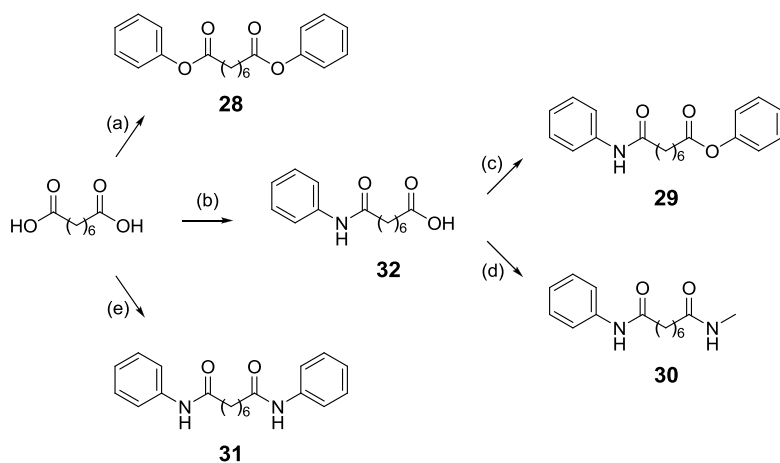
Respecto a las modificaciones en la zona HBA, se ha estudiado el efecto de la sustitución del grupo metilo del compuesto **1** por un anillo bencénico (compuesto **28**), la sustitución de un enlace éster por el grupo amida (compuesto **29**), o de ambos enlaces éster por amidas (compuestos **30** y **31**). Estas modificaciones estructurales han sido planteadas pensando no sólo en explorar la región HBA, sino en hacerlo manteniendo unas buenas propiedades ADME como indican los parámetros cLogP y tPSA (Tabla 4).

La síntesis de estos compuestos se llevó a cabo bien por esterificación de Fischer, en el caso del diéster **28**, o bien mediante condensaciones sucesivas empleando condiciones optimizadas para los derivados **29** y **30**. Por último, la diamida **31** se obtuvo mediante calefacción a reflujo del ácido subérico y anilina en presencia de fosfito de trifenílo<sup>97</sup> (Esquema 2).

Tabla 4. Parámetros físico-químicos calculados.<sup>a</sup>

Comp.	Estructura	PM (g/mol)	cLogP	tPSA (Å <sup>2</sup> )
<i>Cysmethynil</i>		376.5	7.00	46.3
1		264.3	3.09	52.6
28		326.4	4.40	52.6
29		325.4	4.07	55.4
30		262.3	1.50	58.2
31		324.4	3.74	58.2

<sup>a</sup> Valores obtenidos con el programa ChemBioDraw 11.0.

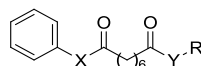


Reactivos y condiciones: (a) PhOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, tolueno, reflujo, 42%; (b) i) (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, reflujo; ii) PhNH<sub>2</sub>, THF, ta, 86%; (c) PhOH, DCC, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 75%; (d) CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, EDC, HOBT, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 57%; (e) PhNH<sub>2</sub>, P(OPh)<sub>3</sub>, piridina, reflujo, 38%.

### Esquema 2

Desafortunadamente, ninguno de estos cambios produjo un aumento significativo en la capacidad inhibitoria de los compuestos, mostrando solamente el derivado **31** un porcentaje de inhibición del 31%, similar al del compuesto **1** (Tabla 5).

**Tabla 5.** Capacidad de los compuestos **28-31** para inhibir la enzima ICMT.

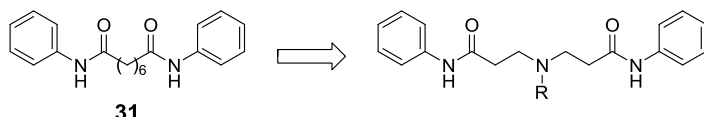


Comp.	X	Y	R	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>
<b>1</b>	O	O	CH <sub>3</sub>	30
<b>28</b>	O	O		22
<b>29</b>	O	NH		22
<b>30</b>	NH	NH	CH <sub>3</sub>	26
<b>31</b>	NH	NH		31

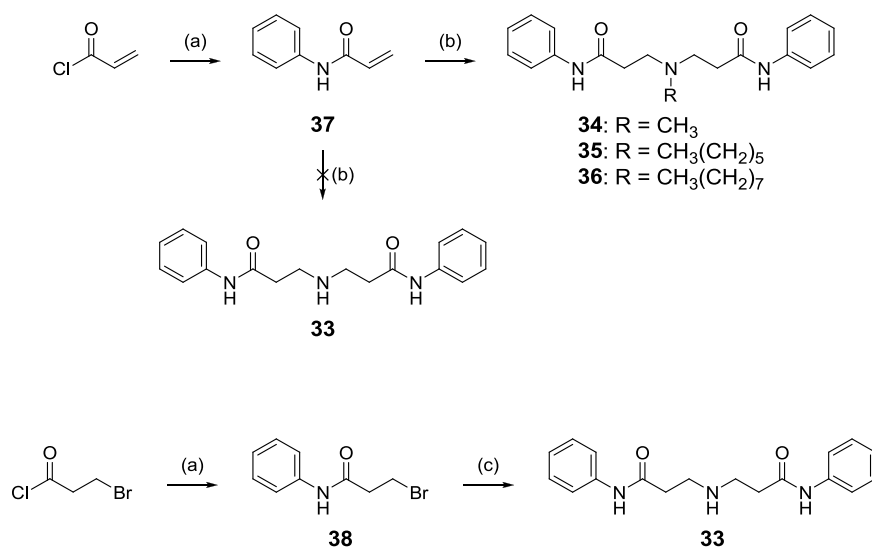
<sup>a</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>b</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50 μM.

En conjunto, todos los datos obtenidos hasta el momento en esta serie de derivados, ponen de manifiesto la imposibilidad de lograr valores de inhibición superiores al 50% con las modificaciones estructurales realizadas. Este hecho indica que posiblemente la ocupación de la zona farmacofórica HYD2/3, la cual no fue considerada en un principio (Figura 12, página 27) es necesaria para la afinidad por la enzima ICMT. Con el fin de ocupar este túnel hidrofóbico cercano al centro activo, se diseñó una nueva serie de compuestos basándonos en la estructura del compuesto **31**.

Dicho derivado se seleccionó teniendo en cuenta no sólo la capacidad inhibitoria (comparable al compuesto **1**) sino también las propiedades de lipofilia y estabilidad. Así, la introducción de un grupo hidrofóbico implica un aumento en el valor de cLogP y de los resultados recogidos en la Tabla 4 se deduce cómo la sustitución del grupo éster por amida conlleva, a igualdad del resto de factores, una disminución del valor de cLogP. Además, los ésteres en general y sobre todo los fenólicos presentan una mayor tendencia a la hidrólisis que las amidas correspondientes. Todo ello, en conjunto, nos llevó a considerar una nueva serie de amidas en las cuales se modificó el espaciador presente en el compuesto **31** mediante la introducción de un átomo de nitrógeno susceptible de alquilación por cadenas que pudieran ocupar el túnel hidrofóbico presente en la enzima.



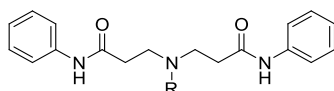
La síntesis de las diamidas simétricas diseñadas **33-36** se planteó partiendo de cloruro de acilo, que mediante reacción con anilina en presencia de piridina como base, da lugar a *N*-fenilacrilamida (**37**). La posterior adición aza-Michael de la amina correspondiente sobre el intermedio **37** en presencia de 1,8-diazabicycloundec-7-eno (DBU), permite acceder a las diamidas simétricas diseñadas **34-36** con muy buenos rendimientos. Sin embargo, la adición de amoníaco sobre la acrilamida **37** condujo a una mezcla compleja en la que no se observó la formación de **33**, por lo que su síntesis se llevó a cabo mediante sustitución nucleófila de 3-bromo-*N*-fenilpropanamida (**38**) con amoníaco. El bromoderivado **38** se sintetizó a partir de cloruro de 3-bromopropanoilo y anilina de forma análoga al procedimiento seguido para la amida **37** (Esquema 3).



Reactivos y condiciones: (a) PhNH<sub>2</sub>, piridina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C a ta, 92%; (b) RNH<sub>2</sub>, DBU, acetonitrilo, 60 °C, 76-95%; (c) NH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 15%.

### Esquema 3

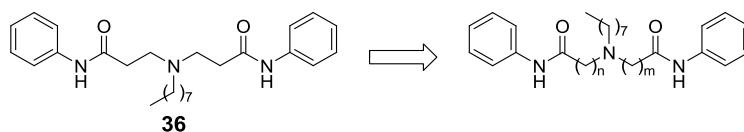
Tras determinar la capacidad de las diamidas **33-36** para inhibir la actividad ICMT (Tabla 6), los resultados obtenidos ponen de manifiesto la necesidad de la presencia de una cadena hidrofóbica larga unida al átomo de nitrógeno, como se demuestra en los valores de inhibición de los derivados **33-36**, los cuales oscilan entre la completa inactividad (0% de inhibición para el compuesto **34**) y el excelente 93% de inhibición a una concentración de 50 μM del compuesto **36**. Sin embargo, el aumento de la longitud de la cadena produce también un importante aumento en la lipofilia de los compuestos como se observa en los valores de cLogP para estos compuestos (Tabla 6).

**Tabla 6.** Influencia de la cadena hidrofóbica en los parámetros físico-químicos y la inhibición de la enzima ICMT.

Comp.	R	PM (g/mol)	cLogP <sup>a</sup>	tPSA (Å <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	Inhibición de ICMT (%) <sup>b,c</sup>
33	H	311.4	2.32	70.2	30
34	CH <sub>3</sub>	325.4	2.97	61.4	0
35		395.5	5.61	61.4	9
36		423.6	6.67	61.4	93

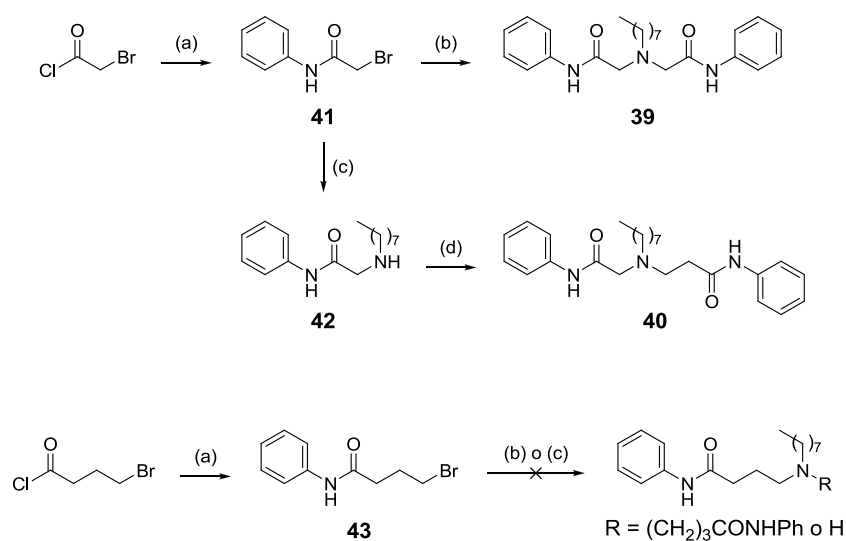
<sup>a</sup> Valores obtenidos con el programa ChemBioDraw 11.0. <sup>b</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>c</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50  $\mu$ M.

A continuación, una vez optimizada en el compuesto **36** la cadena alquímica introducida en el espaciador, se varió la longitud de éste modificando el número de unidades metilénicas que separan el nitrógeno terciario de los grupos carbonilo.



La síntesis de la diamida simétrica **39** ( $m = n = 1$ ) se llevó a cabo a partir de cloruro de bromoacetilo mediante condensación con anilina, seguido de la sustitución nucleófila de la amida obtenida **41** con octilamina en presencia de *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) como base y calefacción a 60 °C. De forma análoga, cuando la *N*-alquilación se llevó a cabo con exceso de octilamina, a temperatura ambiente y en ausencia de base, se obtuvo el producto de monoalquilación **42**, que mediante reacción con el bromoderivado **38**, permitió acceder a la diamida no simétrica **40** ( $m = 1, n = 2$ ) (Esquema 4).

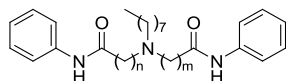
Siguiendo este mismo procedimiento, se intentaron sintetizar las diamidas con una separación de tres unidades metilénicas entre el nitrógeno presente en el espaciador y los carbonos carbonílicos de los enlaces amida ( $m, n = 3$ ). Así, partiendo de cloruro de 4-bromobutanoilo y anilina se obtuvo el bromoderivado **43** (Esquema 4). Sin embargo, la reacción de **43** con octilamina en las condiciones anteriormente comentadas, no permitió obtener los productos deseados de mono- o dialquilación debido a que dichos productos resultaron ser inestables y mostraron una elevada tendencia a descomponer con desprendimiento de anilina. Este resultado, junto con la consideración de que aumentar la longitud del espaciador conlleva valores de  $c\text{LogP}$  aún mayores nos llevó a descartar la síntesis de los derivados con  $m, n = 3$ .



Reactivos y condiciones: (a)  $\text{PhNH}_2$ , piridina,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$  a ta, 91-97%; (b)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{NH}_2$ , DIPEA, acetonitrilo,  $60^\circ\text{C}$ , 93%; (c)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, 40%; (d) **38**, DIPEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , reflujo, 25%.

#### Esquema 4

El análisis de los datos de inhibición obtenidos para los compuestos **39** y **40** (Tabla 7), con valores de inhibición del 62 y 68%, respectivamente, muestra claramente que el acortamiento del espaciador conlleva una disminución significativa en la actividad de los compuestos.

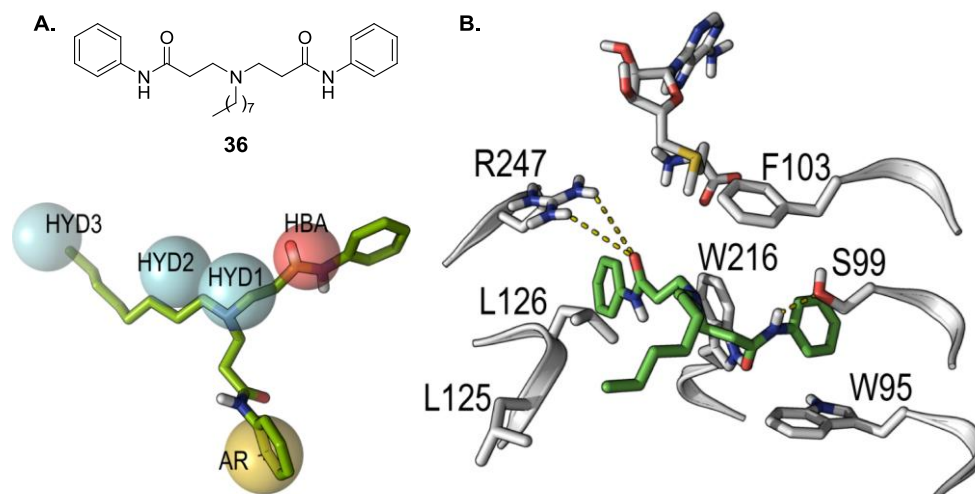
**Tabla 7.** Capacidad de los compuestos **39** y **40** para inhibir la enzima ICMT.

Comp.	n	m	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>
<b>36</b>	2	2	93
<b>39</b>	1	1	62
<b>40</b>	1	2	68

<sup>a</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>b</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50  $\mu$ M.

Por tanto, en conjunto, de entre todos los compuestos sintetizados hasta el momento destaca especialmente el derivado **36**, un inhibidor estructuralmente nuevo de la enzima ICMT capaz de bloquear casi completamente su actividad a una concentración de 50  $\mu$ M (93% de inhibición).

La Figura 13 muestra la superposición del inhibidor **36** en el modelo de farmacóforo construido (Figura 13A) así como el modelo de interacción entre éste y la enzima ICMT (Figura 13B), observándose que uno de los grupos carbonilo del ligando (HBA) interacciona mediante enlaces de hidrógeno con la arginina 247 (R247), mientras que la cadena alquílica de ocho eslabones que ocupa las regiones HYD2/3, lo hace mediante interacciones hidrofóbicas con las cadenas laterales de las leucinas 125 y 126 (L125 y L126). El otro grupo carboxamida de la molécula, interacciona como aceptor y dador de enlace de hidrógeno con el grupo indol del triptófano 216 (W216) y con la serina 99 (S99), respectivamente. Por último, uno de los anillos aromáticos del ligando (AR) forma interacciones aromáticas con los triptófanos W95 y W216.



**Figura 13. A.** Superposición del compuesto **36** en el modelo de farmacóforo. **B.** Modelo computacional del complejo formado entre el compuesto **36** y la enzima ICMT.

#### 3.1.4. Perfil farmacocinético *in vitro* del compuesto 36

Finalmente, para caracterizar experimentalmente el perfil farmacocinético del compuesto **36**, se estudió su estabilidad *in vitro* tanto en suero como frente al metabolismo hepático empleando microsomas como modelo de éste. En ambos casos, los ensayos se realizaron con muestras humanas y de ratón.

Así, para determinar la estabilidad en suero, tras incubar el compuesto a estudiar en el suero seleccionado a diferentes tiempos, las proteínas se separaron por centrifugación y se analizó el sobrenadante obtenido mediante cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (*high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry*, HPLC-MS) obteniéndose así el tiempo de vida medio ( $t_{1/2}$ ). Análogamente, la determinación del  $t_{1/2}$  en microsomas se realizó mediante incubación a diferentes tiempos del compuesto a estudiar en presencia de la fracción microsomal seleccionada y del cosustrato fosfato del dinucleótido de nicotinamida y adenina (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*, NADPH). El posterior tratamiento de las muestras, de forma análoga a la descrita para el caso del suero, y su análisis mediante HPLC-MS permitió obtener el  $t_{1/2}$  (Tabla 8).

**Tabla 8.** Estabilidad en suero y en microsomas del compuesto **36**.

Estabilidad en suero ( $t_{1/2}$ , min) <sup>a</sup>		Estabilidad en microsomas ( $t_{1/2}$ , min) <sup>a</sup>	
Humano	Ratón	Humano	Ratón
8 ± 3	27 ± 8	4.9 ± 0.6	6 ± 3

<sup>a</sup> Los valores corresponden a la media ± SEM de dos experimentos independientes realizados por duplicado.

Los datos obtenidos indican que el compuesto **36** presenta una baja estabilidad en suero, siendo más acusado este hecho en el caso del suero humano. Sin embargo, en el caso de la estabilidad frente a microsomas, se obtienen unos  $t_{1/2}$  que pueden considerarse moderados (encontrándose en el mismo rango que los presentados, en condiciones similares a las ensayadas, por compuestos empleados en estudios *in vivo*) y semejantes en ambas especies.

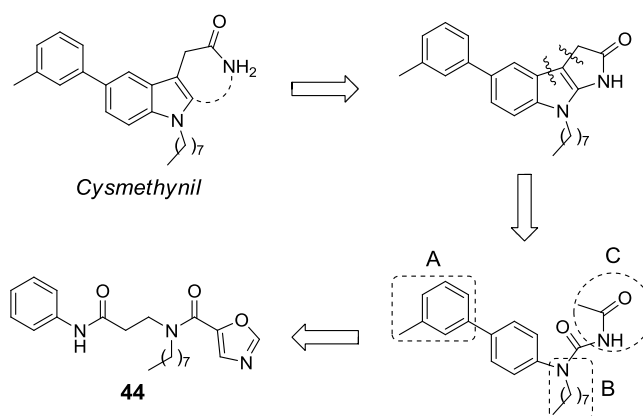
En conjunto, la capacidad inhibitoria y sus propiedades farmacocinéticas hacen de este compuesto un prometedor *lead* de cara a una futura optimización en el proceso del desarrollo de nuevos inhibidores para la enzima ICMT.<sup>98,99</sup>

### 3.2. Diseño de nuevos inhibidores basados en la estructura del *cysmethynil*

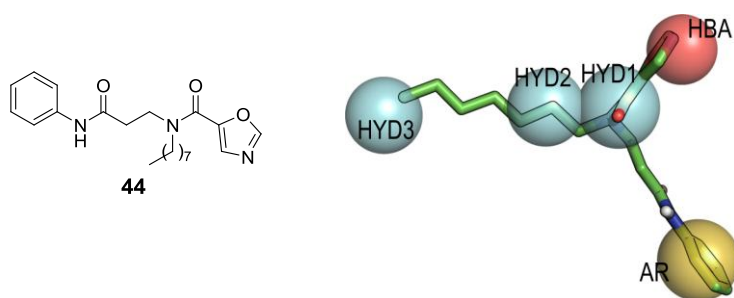
#### 3.2.1. Búsqueda de nuevos *hits*

Paralelamente a la elaboración del modelo de farmacóforo, se ha abordado el diseño de nuevos inhibidores de la enzima ICMT tomando como punto de partida la estructura del *cysmethynil*, el inhibidor sintético más potente y mejor caracterizado hasta el momento. Para ello se plantearon las desconexiones indicadas en la Figura 14, las cuales llevaron a la identificación de tres elementos estructurales (A-C). Así, inicialmente se mantuvieron el anillo de benceno y la cadena alquílica de ocho eslabones (A y B), conectándose mediante un espaciador de tipo amida, teniendo en cuenta la asequibilidad sintética. El grupo acetamida (C) se mimetizó mediante un anillo heterocíclico de oxazol. Estas modificaciones condujeron al diseño del nuevo compuesto **44** (Figura 14), el cual verifica el modelo de farmacóforo propuesto (Figura 15).

Asimismo, se determinaron *in silico* los parámetros físico-químicos cLogP y tPSA. Los valores obtenidos (cLogP = 3.98 y tPSA = 71.0 Å<sup>2</sup>) son compatibles con una buena biodisponibilidad de cara a posibles aplicaciones *in vivo*. De hecho, el compuesto **44** mejora de forma significativa los parámetros mostrados por el *cysmethynil*, inhibidor en el que se ha basado el diseño (cLogP = 7.00 y tPSA = 46.3 Å<sup>2</sup>).

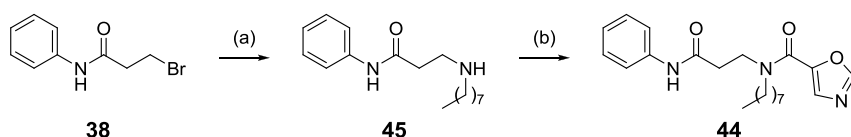


**Figura 14.** Diseño de inhibidores basados en la estructura del *cysmethynil*.



**Figura 15.** Superposición del compuesto diseñado **44** en el modelo de farmacóforo.

La síntesis del compuesto **44** se llevó a cabo mediante monoalquilación de octilamina con el bromoderivado **38**, previamente sintetizado, seguido del posterior acoplamiento de la amina secundaria obtenida **45**, con ácido 1,3-oxazol-5-carboxílico en presencia de EDC y HOBt (Esquema 5).



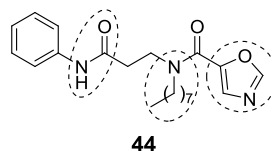
Reactivos y condiciones: (a)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, 65%; (b) Ácido 1,3-oxazol-5-carboxílico, EDC, HOBt,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, 94%.

### Esquema 5

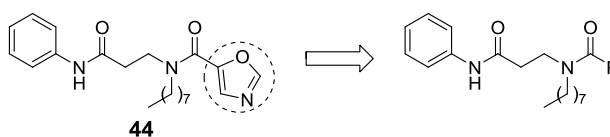
La determinación de la capacidad para inhibir la actividad ICMT del compuesto **44** permitió obtener un valor de 56% de inhibición a una concentración de 50  $\mu\text{M}$ . Este dato, junto con los buenos valores de los parámetros físico-químicos convierten al derivado **44** en un nuevo *hit* susceptible de desarrollo dentro del proceso denominado *hit to lead*.

### 3.2.2. Proceso *hit to lead*

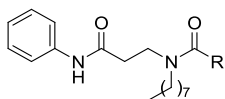
Así, el siguiente paso ha consistido en plantear una ampliación del campo estructural del compuesto **44**. Partiendo de éste se han modificado, secuencialmente, (i) la subunidad heterocíclica de oxazol, (ii) el grupo amida del espaciador, (iii) la cadena alquílica de ocho eslabones y (iv) los grupos carbonilo.















#### (i) Modificaciones en la subunidad heterocíclica.



En primer lugar se sustituyó el anillo de oxazol por otros heterociclos con el fin de optimizar esta zona de la molécula. Previamente a la síntesis de estos compuestos se calcularon los parámetros PM, cLogP y tPSA para asegurar que las modificaciones propuestas mantienen los buenos valores de los parámetros físico-químicos del compuesto **44** (Tabla 9).

Tabla 9. Parámetros físico-químicos calculados.<sup>a</sup>

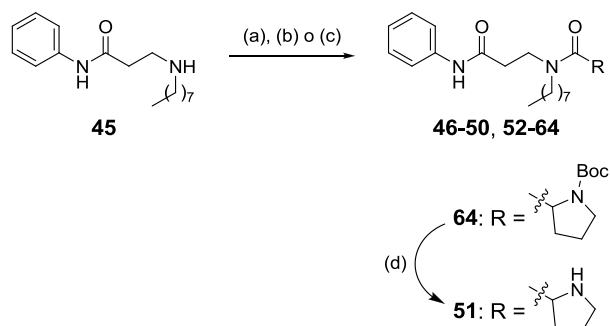
R	PM (g/mol)	cLogP	tPSA (Å <sup>2</sup> )
<i>Cysmethynil</i>	376.5	7.00	46.3
 <b>44</b>	371.5	3.98	71.0
	371.5	3.91	86.2
	370.5	4.16	73.8
	369.5	4.92	61.4
	383.5	5.16	52.6
	373.5	5.23	61.4
	370.5	5.08	58.6
	374.5	4.93	58.6
	386.6	5.68	49.4
	381.5	4.80	61.8
	419.6	6.30	61.4
	420.5	6.46	58.6

<sup>a</sup> Valores obtenidos con el programa ChemBioDraw 11.0.

La síntesis de los derivados heterocíclicos **46-60** se llevó a cabo mediante el acoplamiento de la amina **45** con los ácidos carboxílicos adecuados empleando las condiciones optimizadas en función de cada sustrato (Esquema 6).

En general, la utilización del par EDC/HOBt condujo a los productos de interés con rendimientos de moderados a buenos. Sin embargo, en el caso de los ácidos 1*H*-pirrol-2- ó 3-carboxílico, el empleo de estas condiciones dio lugar a una mezcla compleja en la que no se observó la presencia de las amidas deseadas **48** y **49**, las cuales se obtuvieron modificando los agentes de acoplamiento (DCC y DMAP). Es de destacar que en el caso de los heterociclos aromáticos que presentan un grupo NH libre en su estructura no se llevó a cabo la activación previa de los ácidos carboxílicos con los agentes de acoplamiento correspondientes, sino que se adicionó la amina **45** al mismo tiempo con el fin de minimizar las reacciones colaterales de autocondensación. Sin embargo, en el caso de la prolina estas condiciones de reacción no funcionaron, por lo que se protegió previamente el grupo amino libre de ésta (Esquema 6).

Para confirmar la necesidad de la presencia de la subunidad heterocíclica, se sintetizaron los compuestos **61-63** (Tabla 10, página 49) en los que se substituyó ésta por un anillo aromático no heterocíclico (derivado **61**), por un carbociclo no aromático (**62**) y por un grupo metilo (**63**). Estas amidas se prepararon mediante un procedimiento análogo empleando EDC y HOBt excepto en el caso del compuesto **63**, en el que la acetilación de la amina **45** se realizó mediante reacción con cloruro de acetilo en presencia de trietilamina como base (Esquema 6).

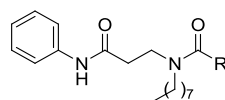


Reactivos y condiciones: (a) RCOOH, EDC, HOBt, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 36-92%; (b) RCOOH, DCC, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 54-76%; (c) CH<sub>3</sub>COCl, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 68%; (d) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 70%.

**Esquema 6**

A continuación se determinó la capacidad de los compuestos **46-63** para inhibir la enzima ICMT (Tabla 10). Los mejores resultados se obtienen en el caso de los compuestos **48**, **49** y **53** (79, 81 y 86% de inhibición, respectivamente), que presentan sistemas de 1*H*-pirrol y 3-furilo. Por otra parte, la introducción de un anillo bencénico condensado en los compuestos **59** y **60**, análogos a los derivados **48** y **53**, disminuye claramente la actividad (15 y 47% de inhibición, frente a 79 y 86%, respectivamente).

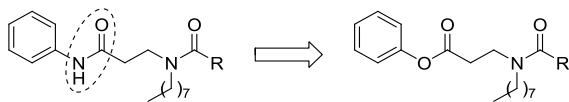
Por último, la sustitución de la subunidad heterocíclica por un carbociclo (derivados **61** y **62**) o un grupo metilo (compuesto **63**) conlleva una pérdida significativa de la actividad biológica, lo que confirma la necesidad de una subunidad heteroaromática que mimetice el grupo amida del *cysmethynil* en esta parte de la molécula identificándose el 3-furano (derivado **53**) y el pirrol (compuestos **48** y **49**) como anillos óptimos.

**Tabla 10.** Influencia de la subunidad heterocíclica (R) en la inhibición de la enzima ICMT.

Comp.	R	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>	Comp.	R	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>
44		56	55		49
46		0	56		63
47		34	57		38
48		79	58		30
49		81	59		15
50		75	60		47
51		62	61		57
52		49	62		66
53		86	63	CH <sub>3</sub>	12
54		41		<i>Cysmethynil</i>	90

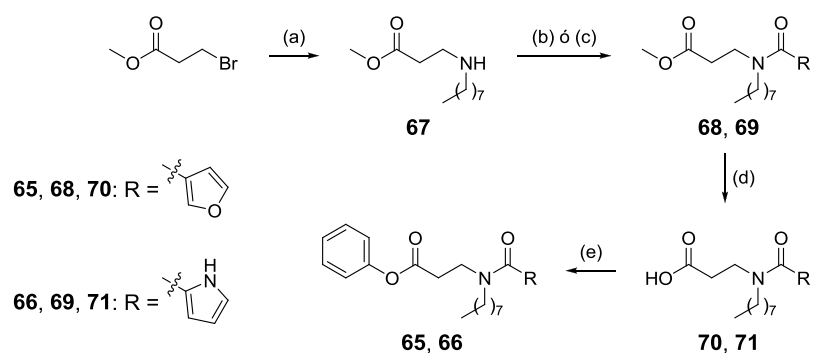
<sup>a</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>b</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50  $\mu$ M.

## (ii) Sustitución del grupo amida del espaciador.



Con el fin de comprobar la influencia en la actividad biológica del grupo amida presente en el espaciador, se llevó a cabo su sustitución por un éster. El efecto de esta modificación se estudió en dos de los compuestos con mejores valores de inhibición de la actividad ICMT, los derivados **48** y **53** (79 y 86% de inhibición a una concentración de 50  $\mu$ M, respectivamente), los cuales contienen en su estructura los grupos heteroaromáticos 1*H*-pirrol-2-ilo y 3-furilo, respectivamente.

Puesto que esta modificación implica la presencia de un éster fenólico en los compuestos diseñados, su síntesis no se llevó a cabo a partir de 3-bromopropanoato de fenilo como en el caso de las amidas correspondientes, sino que se planteó una estrategia alternativa para evitar la posible inestabilidad de dicho grupo éster en las condiciones de reacción utilizadas. Así, los compuestos **65** y **66** se sintetizaron a partir de 3-bromopropanoato de metilo (Esquema 7), el cual, por reacción con octilamina en exceso dio lugar a la amina secundaria **67**, que por acoplamiento con los ácidos carboxílicos heteroaromáticos correspondientes permitió acceder a los amidoésteres intermedios **68** y **69**. Por último, la hidrólisis de los ésteres metílicos con hidróxido de litio en una mezcla de agua y tetrahidrofurano (THF), y el posterior acoplamiento con fenol en presencia de EDC y HOBt permitió acceder a los compuestos **65** y **66**.

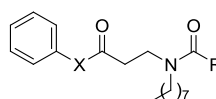


Reactivos y condiciones: (a)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, 59%; (b) Ácido 3-furoico, EDC, HOBT,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, cuantitativo; (c) Ácido 1H-pirrol-2-carboxílico, DCC, DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, 76%; (d) LiOH, agua/THF, ta, cuantitativo; (e) PhOH, EDC, HOBT,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, 53-56%.

### Esquema 7

Tras evaluar la actividad biológica de los derivados **65** y **66**, se observa que la sustitución del grupo amida por un enlace éster produce una pérdida muy acusada en la capacidad inhibitoria (Tabla 11). Puesto que el derivado **53**, con un anillo de 3-furano como subunidad heterocíclica, sigue siendo el compuesto más potente obtenido hasta el momento, se seleccionó para continuar el estudio SAR.

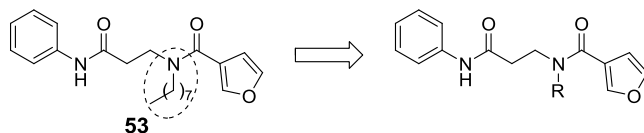
**Tabla 11.** Influencia del grupo amida del espaciador en la inhibición de la enzima ICMT.



Comp.	R	X	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>
<b>53</b>		NH	86
<b>65</b>		O	60
<b>48</b>		NH	79
<b>66</b>		O	13

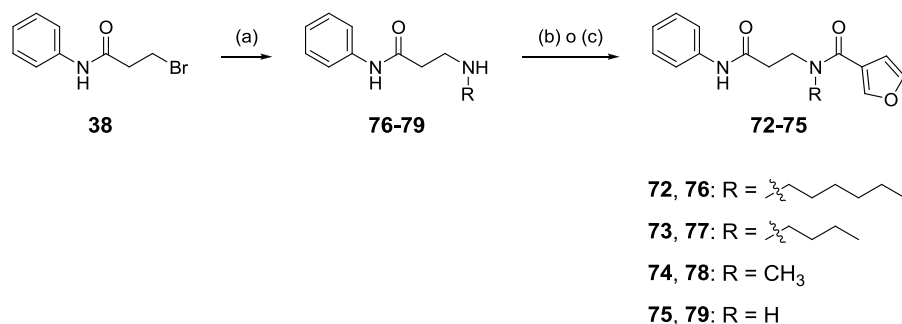
<sup>a</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>b</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50  $\mu\text{M}$ .

## (iii) Influencia de la cadena alquílica.



A continuación se evaluó la importancia de la longitud de la cadena alquílica, sobre todo con el fin de comprobar si es posible disminuir la lipofilia de los compuestos mediante el acortamiento de la misma.

La síntesis de los derivados **72-75** se llevó a cabo empleando un proceso análogo al descrito anteriormente para la síntesis del compuesto **53**. Así, la sustitución nucleófila del bromoderivado **38** con la amina apropiada, dio lugar a los derivados monoalquilados **76-79**, que por acoplamiento con ácido 3-furoico en presencia de EDC y HOBt permitieron obtener los compuestos deseados **72** y **73**. En el caso de los derivados **74** y **75**, el acoplamiento sólo se pudo llevar a cabo haciendo reaccionar el cloruro del ácido 3-furoico, formado previamente, con las aminas **78** y **79**, respectivamente (Esquema 8).

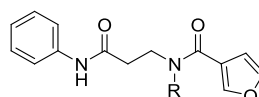


Reactivos y condiciones: (a) RNH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 28-60%; (b) Ácido 3-furoico, EDC, HOBt, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 65-90%; (c) Cloruro de 3-furoilo, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, 63-71%.

Esquema 8

Comparando la capacidad para inhibir la actividad ICMT de los nuevos derivados **72-75** con la del compuesto **53** (Tabla 12), resulta evidente que una disminución en la longitud de la cadena alquílica, pese a la mejora significativa que produce en los valores de cLogP, repercute directamente en la capacidad inhibitoria de los compuestos, disminuyendo ésta con la longitud de la cadena, de forma análoga a lo observado en los compuestos **33-36** diseñados a partir del modelo de farmacóforo (Tabla 6, página 38).

**Tabla 12.** Influencia de la cadena alquílica en los parámetros físico-químicos y la inhibición de la enzima ICMT.

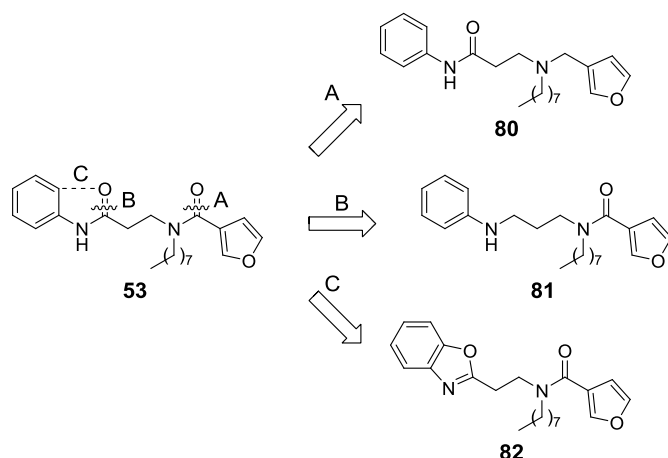


Comp.	R	PM (g/mol)	cLogP <sup>a</sup>	tPSA (Å <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	Inhibición de ICMT (%) <sup>b,c</sup>
<b>53</b>		370.5	5.08	58.6	86
<b>72</b>		342.4	4.02	58.6	45
<b>73</b>		314.4	2.96	58.6	27
<b>74</b>	CH <sub>3</sub>	272.3	1.38	58.6	0
<b>75</b>	H	258.3	1.37	67.4	2

<sup>a</sup> Valores obtenidos con el programa ChemBioDraw 11.0. <sup>b</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>c</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50 µM.

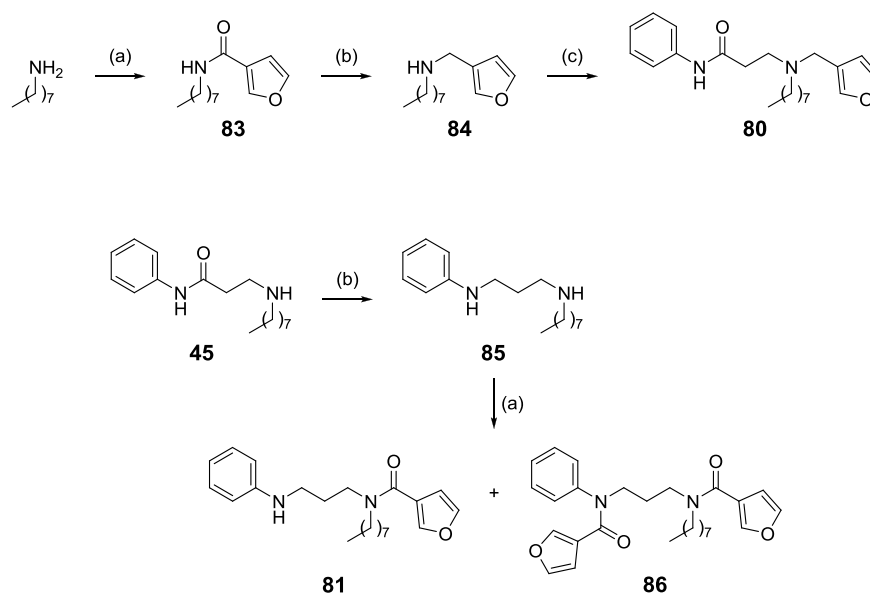
**(iv) Modificación de los grupos carbonilo.**

Por último, se estudió la influencia de los grupos amida seleccionando el compuesto **53** como estructura base sobre la que realizar estas modificaciones. Para ello, se diseñaron los compuestos **80** y **81** en los que se reemplazó cada uno de los grupos carbonilo por un grupo metileno (A y B). Por otra parte se mimetizó la anilida presente en la estructura de **53** por un grupo benzoxazol (C) como isómero, en el derivado **82**. (Figura 16).



**Figura 16.** Diseño de los derivados **80-82**.

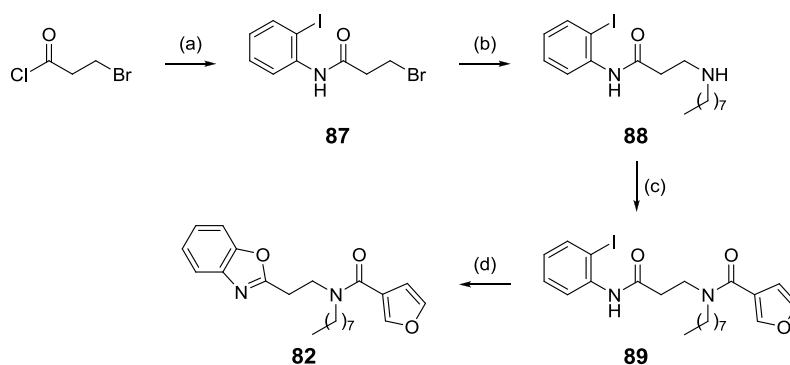
La síntesis del derivado **80** se realizó mediante el acoplamiento de octilamina con ácido 3-furoico para formar la amida **83**, seguido de la reducción con  $\text{LiAlH}_4$  a la amina correspondiente y la posterior alquilación de ésta con el bromoderivado **38** usando DIPEA como base. El compuesto **81** se preparó mediante reducción de la anilida **45** con  $\text{LiAlH}_4$ , seguido del acoplamiento de la diamina obtenida **85** con ácido 3-furoico en presencia de EDC y HOBt. En esta última reacción de amidación, a pesar de que se utilizó un equivalente de ácido 3-furoico respecto a la diamina **85**, se obtuvo, junto con el compuesto deseado **81** (35%), la diamida **86** con un rendimiento del 25%. Ambos compuestos se separaron mediante cromatografía en columna (Esquema 9).



Reactivos y condiciones: (a) Ácido 3-furoico, EDC, HOBT, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ta, cuantitativo (**83**), 35 y 25% (**81** y **86**, respectivamente); (b) LiAlH<sub>4</sub>, THF, reflujo, 46-57%; (c) PhNHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br (**38**), DIPEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, reflujo, 20%.

### Esquema 9

Por último, la síntesis del compuesto **82** se llevó a cabo a partir del cloruro de 3-bromopropanoilo según se recoge en el Esquema 10. La condensación de éste con 2-iodoanilina dio lugar al bromoderivado **87**, que mediante sustitución nucleófila con octilamina seguida de reacción con ácido 3-furoico dio lugar a la 2-iodoanilida **89**. La ciclación de ésta, en un reactor de microondas (MW) empleando CuI y 1,10-fenantrolina como catalizadores, y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> como base permitió acceder al benzoxazol de interés **82**.



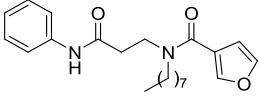
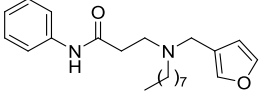
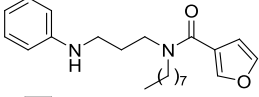
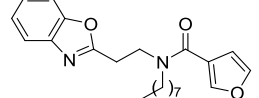
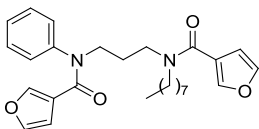
Reactivos y condiciones: (a) 2-Iodoanilina, piridina,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0 °C a ta, 90%; (b)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, 73%; (c) Ácido 3-furoico, EDC, HOBT,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ta, 91%; (d)  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , CuI, 1,10-fenantrolina, acetonitrilo, MW, 100 °C, 33%.

### Esquema 10

Los datos de inhibición de la enzima ICMT obtenidos para los compuestos **80-82** y **86** (Tabla 13) ponen de manifiesto la importancia de uno de los dos grupos carbonilo de la molécula, como indican los compuestos **80** y **81**. Así, mientras que la eliminación del grupo carbonilo de la zona heteroaromática (compuesto **80**) apenas afecta a la actividad (los compuestos **53** y **80** inhiben de forma comparable la actividad enzimática), la sustitución del otro grupo carbonilo de la molécula por una unidad metilénica (derivado **81**) conlleva una disminución considerable en la capacidad inhibitoria respecto al compuesto **53** (51% frente al 86%). La importancia del grupo amida se pone de manifiesto por la recuperación completa de actividad inhibitoria derivada de la introducción de un grupo 3-furoilo en dicho nitrógeno, como muestra el derivado **86**, el cual inhibe prácticamente por completo la actividad ICMT a una concentración de 50  $\mu\text{M}$  (92% de inhibición).

Por otra parte, la sustitución del grupo anilida del compuesto **53** por un benzoxazol (derivado **82**) no sólo es favorable para la actividad (89% de inhibición), sino que también mejora el valor de cLogP respecto al compuesto **53** [cLogP (**82**) = 4.63 y cLogP (**53**) = 5.08].

**Tabla 13.** Influencia de la modificación en los enlaces amida sobre la inhibición de la enzima ICMT.

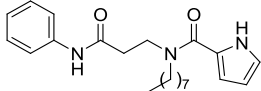
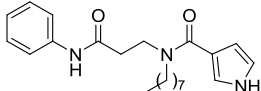
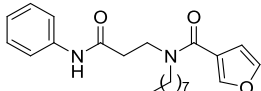
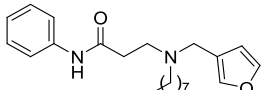
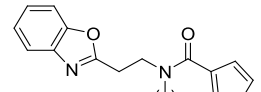
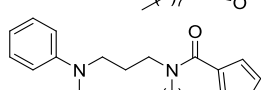
Comp.	Estructura	Inhibición de ICMT (%) <sup>a,b</sup>
53		86
80		85
81		51
82		89
86		92

<sup>a</sup> Los valores corresponden al valor medio de dos experimentos independientes realizados por triplicado con un error asociado menor del 10% en todos los casos. <sup>b</sup> Los valores de inhibición de ICMT se determinaron a una concentración de los compuestos ensayados de 50  $\mu$ M.

### 3.2.3. Perfil farmacocinético *in vitro* de los compuestos seleccionados

Por último, para completar el perfil farmacocinético de los mejores compuestos obtenidos en esta serie (derivados **48**, **49**, **53**, **80**, **82** y **86**), se estudió su estabilidad *in vitro* tanto en suero como frente al metabolismo hepático (microsomos), realizando en ambos casos los ensayos con muestras humanas y de ratón. Los  $t_{1/2}$  obtenidos en cada caso se muestran en la Tabla 14.

**Tabla 14.** Estabilidad en suero y microsomas de los compuestos seleccionados.

Comp.	Estructura	Estabilidad en suero ( $t_{1/2}$ , min) <sup>a</sup>		Estabilidad en microsomas ( $t_{1/2}$ , min) <sup>a</sup>	
		Humano	Ratón	Humano	Ratón
48		> 90	54 ± 19	5.4 ± 0.5	32 ± 4
49		> 90	21 ± 9	6 ± 3	4.0 ± 0.2
53		> 90	6 ± 3	1.3 ± 0.1	6.2 ± 0.3
80		> 90	6 ± 2	2.9 ± 0.6	8.4 ± 0.7
82		> 90	> 90	1.7 ± 0.1	2.9 ± 0.2
86		> 90	> 90	11 ± 3	8.7 ± 0.6

<sup>a</sup> Los valores corresponden a la media ± SEM de dos experimentos independientes realizados por duplicado.

Del análisis de los datos obtenidos se deduce que esta nueva serie de compuestos presenta en general unos excelentes valores de estabilidad en suero con  $t_{1/2}$  mayores en suero humano que de ratón. Entre los compuestos analizados destacan especialmente los derivados **82** y **86** con  $t_{1/2}$  superiores a 90 minutos.

En el caso de la estabilidad frente a microsomas, no se observan en general diferencias significativas en los valores obtenidos con microsomas humanos y de ratón, obteniéndose  $t_{1/2}$  del mismo orden, excepto en el caso del compuesto **48**, que presenta un excelente valor de 32 minutos frente a microsomas de ratón. Análogamente a los datos obtenidos en suero de ratón, la transformación de la amida secundaria del compuesto **53** en una amida terciaria produce un aumento en el  $t_{1/2}$ , haciendo del derivado **86** el compuesto más potente, capaz de bloquear más del 90% de la actividad ICMT a una concentración de 50  $\mu\text{M}$ , y además el más estable, con un  $t_{1/2}$  superior a 90 minutos en suero y de aproximadamente 10 minutos en el caso de microsomas.<sup>98,100</sup>

En resumen, el empleo de dos aproximaciones paralelas de diseño indirecto de nuevos inhibidores de la enzima ICMT (elaboración de un modelo de farmacóforo y diseño basado en la estructura del inhibidor *cysmethynil*) ha posibilitado la identificación de dos *hits* iniciales (**1** y **44**) cuyas modificaciones estructurales han permitido caracterizar un total de siete inhibidores de la enzima ICMT estructuralmente novedosos (**36**, **48**, **49**, **53**, **80**, **82** y **86**) con elevada potencia (79-93% de inhibición a una concentración de 50  $\mu\text{M}$ ) y además con buenos perfiles farmacocinéticos, lo que les convierte en *leads* que podrán ser utilizados en modelos de eficacia celular y/o animal, así como ser objeto del proceso de optimización, actualmente en curso en nuestro grupo de investigación.



#### **4. PARTE EXPERIMENTAL**

---



## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Elaboración del modelo de farmacóforo

Las estructuras de los compuestos seleccionados se han construido *de novo* utilizando el programa Catalyst implementado en el *software* Accelrys Discovery Studio 2.5 (Accelrys, San Diego, CA).<sup>92</sup> Para la generación de hipótesis con el módulo HypoGen, se han utilizado los descriptores químicos de la propia librería del programa (fijados de 0 a 5): grupos ionizables, grupos aceptores y dadores de enlace de hidrógeno, regiones hidrofóbicas y anillos aromáticos, así como los siguientes valores: extensión inactiva (*inactive spread*) 1.60, incertidumbre en la actividad (*activity uncertainty*) 1.43, tamaño de volumen de exclusión (*excluded volume size*) 60 y el resto de parámetros por defecto.<sup>99</sup>

### 4.2. Síntesis

Los puntos de fusión (Pf) se han determinado en un aparato electrotérmico Stuart-Scientific en capilares abiertos y no se han corregido. Aquellos compuestos cuyos Pf no se indican se obtuvieron como aceites. Los espectros de infrarrojo (IR) se han registrado en un espectrofotómetro Bruker Tensor 27 equipado con un accesorio ATR Specac con un rango de transmisión de 5200-650  $\text{cm}^{-1}$  para la medida de la reflectancia total atenuada (ATR) y las frecuencias ( $\nu$ ) se expresan en  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de  $^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -RMN se han obtenido en el Centro de Asistencia a la Investigación (CAI) de RMN de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) y se han registrado a temperatura ambiente en el espectrómetro Bruker Avance 300-AM ( $^1\text{H}$ , 300 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 75 MHz). Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) utilizando tetrametilsilano como referencia interna, y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se expresan en hertzios (Hz). En la descripción de las señales de RMN se han empleado las siguientes abreviaturas: s (singlete), d (doblete), t (triplete), q (cuadruplete), qt (quintuplete), sx (sextuplete), m (multiplete), ap (aparente) y a (ancho).

Para la asignación de protones y carbonos de las nuevas estructuras se han llevado a cabo experimentos de RMN bidimensional (HMQC y HMBC) en compuestos representativos. La espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) se ha llevado a cabo en un espectrómetro FTMS Bruker APEX Q IV utilizando la técnica de ionización por electrospray (ESI) en el CAI de Espectrometría de Masas de la UCM. Las señales correspondientes al ión molecular más 1 unidad o más 23 unidades se indican como  $[(M+H)^+]$  o  $[(M+Na)^+]$ , respectivamente. Para todos los compuestos finales la pureza se determinó bien mediante análisis elemental (Tabla 15, página 120) o HPLC-MS (Tabla 16, página 121). Los análisis elementales cuantitativos (Anal. C, H, N) se han obtenido en un instrumento LECO CHNS-932 en el CAI de Microanálisis Elemental de la UCM y se encuentran en un intervalo de  $\pm 0.5\%$  de los valores teóricos, confirmando una pureza de al menos el 95% para todos los compuestos analizados. En el caso de HPLC-MS, todos los cromatogramas obtenidos mostraron una pureza mayor del 95%. El análisis de HPLC-MS se ha llevado a cabo en un espectrómetro Agilent 1200LC-MSD VL. La separación se ha realizado con una columna Eclipse XDB-C18 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm x 150 mm) junto con una precolumna (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm x 12.5 mm). La fase móvil empleada consiste en un gradiente de disoluciones A (agua:metanol 95:5) y B (agua:metanol 5:95) con un 0.1% de hidróxido amónico y 0.1% de ácido fórmico como aditivos. En todos los casos se ha usado un flujo constante de 0.5 mL/min, un tiempo total de 30 minutos y el siguiente gradiente: 0-5 min, 100% A; 15 min, 90% B; 22 min, 100% B; 22-26 min, 100% B; 26-30 min, 100% A. La espectrometría de masas (EM) se ha llevado a cabo utilizando la técnica de ionización ESI en modo de ionización positivo de 100 a 1000 m/z. El voltaje del capilar fue de 3.0 kV y el voltaje del fragmentador de 70 eV. La temperatura del gas secante fue de 350 °C, el flujo de 10 L/min y la presión del nebulizador de 20 psi. Los cromatogramas se han registrado a cuatro longitudes de onda diferentes (210, 230, 254 y 280 nm). La cromatografía en capa fina (CCF) se ha llevado a cabo en cromatofolios de gel de sílice de Merck (Kieselgel 60F-254) y detección con luz UV, disolución etanólica al 5% de ninhidrina o disolución etanólica al 10% de ácido fosfomolibdico. Para la cromatografía en columna se utilizó un equipo de cromatografía flash Varian 971-FP con cartuchos de gel de sílice (Varian, tamaño de partícula 50  $\mu\text{m}$ ). Como fase móvil se ha empleado un gradiente que comienza con el disolvente más apolar y termina con la mezcla de disolventes que se especifica en cada caso. Las reacciones de hidrogenación se han realizado empleando un reactor de flujo continuo con catalizadores soportados comerciales (Thales Nanotechnology, Inc.). Todos los compuestos de partida, reactivos y disolventes se han adquirido con alto grado de pureza en Sigma-Aldrich, ABCR, Acros, Scharlab y Panreac. El diclorometano y el THF anhidros se utilizaron recién destilados sobre NaH y Na, respectivamente. El octanodioato de dimetilo (**2**) se adquirió con una pureza >99% de Sigma Aldrich.

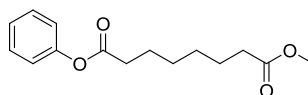
#### 4.2.1. Síntesis de los diésteres 1-27

- **Diésteres 1, 4-6, 10-17, 19-27. Procedimiento general.**

A una disolución del monometiléster del ácido subérico, adípico o sebácico (1 equiv.) en diclorometano anhidro (10 mL/mmol), se añaden, bajo atmósfera de argón y a temperatura ambiente, DCC (1.2 equiv.) y DMAP (0.2 equiv.). La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos. A continuación, se añade una disolución del alcohol correspondiente (1.2 equiv.) en diclorometano anhidro (5 mL/mmol) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción se filtra y se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose los diésteres correspondientes.

##### **Octanodioato de fenilo y metilo (1).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y fenol (1.0 mmol) con un rendimiento del 72%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7.5:2.5.

Rf: 0.50 (hexano/acetato de etilo, 6:4).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1758, 1738 (C=O), 1594, 1493, 1435 (Ar).

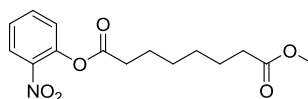
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.39-1.43 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.59-1.84 (m, 4H,  $2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.33 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.56 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.05-7.09 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.22-7.26 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.34-7.42 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 121.6 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 125.7 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 150.7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 172.2, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Na}$   $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ : 287.1254. Encontrada: 287.1250.

##### **Octanodioato de metilo y 2-nitrofenilo (4).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y 2-nitrofenol (1.0 mmol) con un rendimiento del 76%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 8:2.

Rf: 0.52 (hexano/acetato de etilo, 8:2).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1771, 1736 (C=O), 1601, 1531 (Ar), 1352 ( $\text{NO}_2$ ).

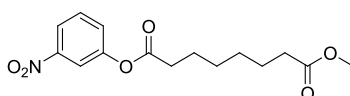
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.33-1.51 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.67 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.78 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.33 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.64 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.22 (dd,  $J = 8.1, 1.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.39 (td,  $J = 8.0, 1.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.65 (td,  $J = 7.8, 1.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.08 (dd,  $J = 8.2, 1.5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.3, 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 33.9, 34.0 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 125.3, 125.8, 126.5, 134.7 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 141.9, 144.2 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.3, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_6\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 332.1105. Encontrada: 332.1090.

#### Octanodioato de metilo y 3-nitrofenilo (5).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (1.3 mmol) y 3-nitrofenol (1.6 mmol) con un rendimiento del 79%.



Cromatografía: diclorometano.

Rf: 0.36 (diclorometano).

Pf: 99-102 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1765, 1736 (C=O), 1531, 1441 (Ar), 1352 ( $\text{NO}_2$ ).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.34-1.51 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.67 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.77 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.33 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.60 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.44 (dd,  $J = 8.2, 2.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.56 (t,  $J = 8.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.98 (t,  $J = 2.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.10 (dd,  $J = 8.1, 2.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

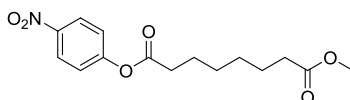
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.5, 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 33.9, 34.1 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 117.4, 120.7, 128.1, 130.0 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 148.8, 151.1 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.4, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

EM (ESI): 332.1 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ ) C, H, N.

#### Octanodioato de metilo y 4-nitrofenilo (6).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (1.3 mmol) y 4-nitrofenol (1.6 mmol) con un rendimiento del 96%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 8:2.

Rf: 0.62 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 73-75 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1756, 1737 (C=O), 1518, 1488, 1471 (Ar), 1350 ( $\text{NO}_2$ ).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.38-1.48 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.68 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.78 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.34 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.62 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.26-7.31 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.29 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

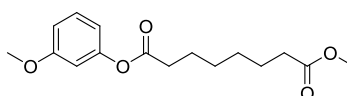
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.5, 24.7, 28.6, 28.7 ( $4\text{CH}_2$ ), 33.9, 34.2 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 122.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 125.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 145.3, 155.5 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.1, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

EM (ESI): 332.1  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ .

Anal.: ( $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ ) C, H, N.

#### Octanodioato de metilo y 3-metoxifenilo (10).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y 3-metoxifenol (1.0 mmol) con un rendimiento del 57%.



Cromatografía: hexano/diclorometano, 3:7.

Rf: 0.27 (hexano/diclorometano, 3:7).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1738 (C=O), 1507, 1442 (Ar).

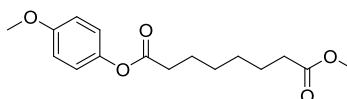
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.34-1.49 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.66 (qt,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.75 (qt,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.53 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.80 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ), 6.85-6.90 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 6.96-7.01 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7, 28.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.2 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{COOCH}_3$ ), 55.6 ( $\text{ArOCH}_3$ ), 114.5, 118.7, 122.3, 126.5 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 148.5, 161.4 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 169.7, 175.3 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{Na}$   $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ : 317.1359. Encontrada: 317.1345.

#### Octanodioato de metilo y 4-metoxifenilo (11).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (1.3 mmol) y 4-metoxifenol (1.6 mmol) con un rendimiento del 69%.



Cromatografía: hexano/diclorometano, 4:6.

Rf: 0.10 (hexano/diclorometano, 2:8).

## Parte experimental

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1738 (C=O), 1506, 1464 (Ar).

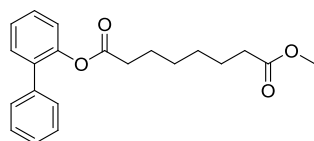
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.39-1.42 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.59-1.83 (m, 4H,  $2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.33 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.54 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.80 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ), 6.86-7.01 (m, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.2 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{COOCH}_3$ ), 55.6 ( $\text{ArOCH}_3$ ), 114.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 122.3 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 144.2, 157.2 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 172.5, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 317.1359. Encontrada: 317.1321.

### Octanodioato de 1,1'-bifenil-2-ilo y metilo (12).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (1.5 mmol) y 2-fenilfenol (1.8 mmol) con un rendimiento del 78%.



Cromatografía: hexano/diclorometano, 7:3.

Rf: 0.45 (hexano/diclorometano, 1:1).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1738 (C=O), 1504, 1476 (Ar).

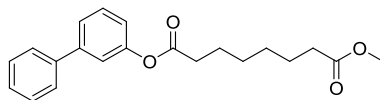
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.13-1.31 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.51 (qt,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.57 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.28 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.34 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.12 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.27-7.41 (m, 8H,  $8\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.5, 24.7, 28.5, 28.7 ( $4\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.1 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 122.8, 126.3, 127.4 ( $3\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.5 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 130.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 135.1, 137.7, 147.9 ( $3\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 172.0, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 363.1567. Encontrada: 363.1547.

### Octanodioato de 1,1'-bifenil-3-ilo y metilo (13).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.56 mmol) y 3-fenilfenol (0.67 mmol) con un rendimiento del 70%.



Cromatografía: hexano/ diclorometano, 3:7.

Rf: 0.25 (hexano/diclorometano, 2:8).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1740 (C=O), 1599, 1474 (Ar).

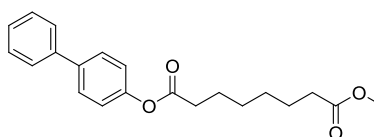
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.36-1.53 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.69 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.80 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.35 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.60 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.68 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.07 (dt,  $J = 6.3, 2.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.31-7.40 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.42-7.47 (m, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.57-7.62 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 120.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.6 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 127.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 127.7 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.7 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 140.2, 142.9, 151.1 ( $3\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 172.2, 174.2 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$   $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ : 363.1567. Encontrada: 363.1570.

#### Octanodioato de 1,1'-bifenil-4-ilo y metilo (14).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.56 mmol) y 4-fenilfenol (0.67 mmol) con un rendimiento del 63%.



Cromatografía: hexano/diclorometano, 1:9.

Rf: 0.30 (hexano/diclorometano, 2:8).

Pf: 54-57 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1741 (C=O), 1602, 1515, 1486 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.35-1.52 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.68 (qt, 2H,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.79 (qt, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.35 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.59 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.16 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.36 (tt,  $J = 7.3, 1.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.45 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.55-7.62 (m, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

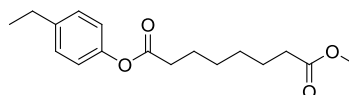
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 121.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 127.1 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 127.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.9, 140.4, 150.1 ( $3\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 172.3, 174.2 ( $2\text{CO}$ ).

EM (ESI): 363.0  $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ .

Anal.: ( $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4$ ) C, H, N.

#### Octanodioato de 4-etilfenilo y metilo (15).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y 4-etilfenol (1.0 mmol) con un rendimiento del 71%.



Cromatografía: hexano/diclorometano, 1:9.

Rf: 0.32 (hexano/diclorometano, 1:9).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1740 (C=O), 1509, 1440 (Ar).

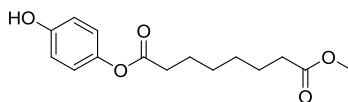
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.23 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 1.33-1.49 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.66 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.75 (qt,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.53 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.63 (q,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.66 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.97 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.18 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 15.6 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 24.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.3, 28.7, 28.8 ( $3\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{OCH}_3$ ), 121.3 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.7 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 141.6, 148.7 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 172.3, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 315.1567. Encontrada: 315.1555.

### Octanodioato de 4-hidroxifenilo y metilo (16).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) e hidroquinona (1.0 mmol) con un rendimiento del 42%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.29 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3410 (OH), 1735 (C=O), 1602, 1508, 1444 (Ar).

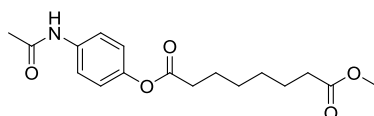
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.31-1.48 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.65 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.74 (qt,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.33 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.53 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.75 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 6.89 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.07 (s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 25.1 ( $2\text{CH}_2$ ), 29.1 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.4, 34.6 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 52.0 ( $\text{CH}_3$ ), 116.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 122.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 144.4, 154.0 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 173.4, 174.9 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 303.1203. Encontrada: 303.1194.

### Octanodioato de 4-(acetilamino)fenilo y metilo (17).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y 4-acetilaminofenol (1.0 mmol) con un rendimiento del 78%.



**Cromatografía:** hexano/acetato de etilo, 2:8.

**Rf:** 0.41 (hexano/acetato de etilo, 2:8).

**Pf:** 91-93 °C.

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3292 (NH), 1733, 1658 (C=O), 1613, 1555, 1507 (Ar).

**$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.32-1.48 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.65 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.74 (qt,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.12 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.53 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.66 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.99 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.46 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.59 (s, 1H, NH).

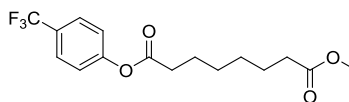
**$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 24.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.2 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{OCH}_3$ ), 120.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 121.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 135.7, 146.8 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 168.4, 172.4, 174.2 (3CO).

**EM (ESI):** 322.1 [(M+H) $^+$ ].

**Anal.:** ( $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ ) C, H, N.

#### **Octanodioato de metilo y 4-(trifluorometil)fenilo (19).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (1.3 mmol) y 4-(trifluorometil)fenol (1.6 mmol) con un rendimiento del 68%.



**Cromatografía:** hexano/acetato de etilo, 7:3.

**Rf:** 0.59 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 1739 (C=O), 1611, 1512 (Ar), 1326 (CF).

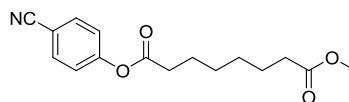
**$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.33-1.49 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.66 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.76 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.57 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.66 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.20 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.64 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 24.6, 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.2 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 122.1 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.8 (q,  $J = 270$  Hz,  $\text{CF}_3$ ), 126.7 (q,  $J = 4$  Hz,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}\text{CCF}_3$ ), 128.0 (q,  $J = 33$  Hz,  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CF}_3$ ), 153.2 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.6, 174.1 (2CO).

**HRMS (ESI):** Calculada para  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{O}_4\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 355.1128. Encontrada: 355.1118.

#### **Octanodioato de 4-cianofenilo y metilo (20).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y 4-cianofenol (1.0 mmol) con un rendimiento del 72%.



Cromatografía: diclorometano.

Rf: 0.66 (diclorometano).

Pf: 63-65 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2230 (CN), 1763, 1735 (C=O), 1602, 1504, 1464 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.35-1.49 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.65 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.75 (qt,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.57 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.66 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.22 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.68 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

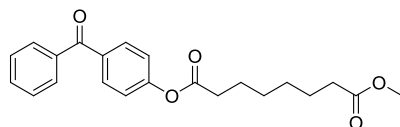
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.5, 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 33.9, 34.2 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 109.7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 118.3 (CN), 122.7 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 133.7 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 154.0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.2, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

EM (ESI): 290.1 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ ) C, H, N.

#### **Octanodioato de 4-benzoilfenilo y metilo (21).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y 4-benzoilfenol (1.0 mmol) con un rendimiento del 94%.



Cromatografía: diclorometano/etanol, 95:5.

Rf: 0.74 (diclorometano/etanol, 95:5).

Pf: 56-59 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1760, 1737, 1659 (C=O), 1598 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.31-1.52 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.68 (qt,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.79 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.34 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.60 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.68 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.21 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.49 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.60 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.78-7.82 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.86 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

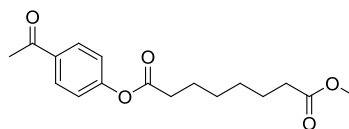
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.6, 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 121.5 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.3 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 130.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 131.7 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 132.5 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 135.0, 137.6, 154.0 ( $3\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.6, 174.1, 195.5 ( $3\text{CO}$ ).

EM (ESI): 369.1 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_5$ ) C, H, N.

#### **Octanodioato de 4-acetilfenilo y metilo (22).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y 4-acetilfenol (1.0 mmol) con un rendimiento del 79%.



**Cromatografía:** hexano/acetato de etilo, 7:3.

**Rf:** 0.45 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

**Pf:** 126-128 °C.

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 1759, 1737, 1685 (C=O), 1597 (Ar).

**$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.33-1.50 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.66 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.76 (qt,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.55-2.60 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7.18 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.99 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

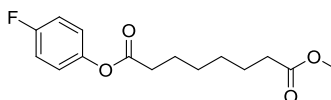
**$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 24.6, 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 26.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{OCH}_3$ ), 121.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 134.7, 154.5 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.6, 174.1, 196.8 ( $3\text{CO}$ ).

**EM (ESI):** 307.1 [(M+H) $^+$ ].

**Anal.:** ( $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_5$ ) C, H, N.

#### **Octanodioato de 4-fluorofenilo y metilo (23).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (1.3 mmol) y 4-fluorofenol (1.6 mmol) con un rendimiento del 24%.



**Cromatografía:** hexano/diclorometano, 1:1.

**Rf:** 0.13 (hexano/diclorometano, 1:1).

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 1759, 1737 (C=O), 1504, 1437 (Ar).

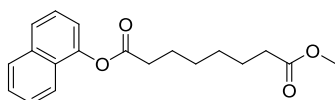
**$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.39-1.45 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.67 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.76 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.34 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.56 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.68 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.01-7.10 (m, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 24.7, 24.8, 28.7, 28.8 ( $4\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.2 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.6 ( $\text{CH}_3$ ), 116.1 (d,  $J = 23.3$  Hz,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.0 (d,  $J = 8.4$  Hz,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 146.0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 160.2 (d,  $J = 245.3$  Hz,  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{F}$ ), 172.2, 174.2 ( $2\text{CO}$ ).

**HRMS (ESI):** Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{FO}_4\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 305.1159. Encontrada: 305.1150.

#### **Octanodioato de metilo y 1-naftilo (24).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (0.84 mmol) y 1-naftol (1.0 mmol) con un rendimiento del 72%.



**Cromatografía:** hexano/acetato de etilo, 7:3.

**Rf:** 0.54 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 1736 (C=O), 1589, 1440 (Ar).

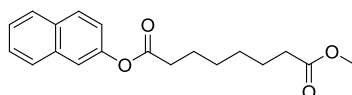
**$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.38-1.57 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.70 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.88 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.35 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.74 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.24 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.45 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.48-7.54 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.74 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.84-7.89 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 24.8, 24.9, 28.8, 28.9 ( $4\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 118.1, 121.1, 125.4, 125.9 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 126.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 126.9 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 134.7, 146.7 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 172.1, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

**HRMS (ESI):** Calculada para  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Na}$   $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ : 337.1518. Encontrada: 337.1395.

### Octanodioato de metilo y 2-naftilo (25).

Obtenido a partir del monometiléster del ácido subérico (1.3 mmol) y 2-naftol (1.6 mmol) con un rendimiento del 59%.



**Cromatografía:** hexano/diclorometano, 2:8.

**Rf:** 0.14 (hexano/diclorometano, 2:8).

**Pf:** 48-50 °C.

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 1756, 1737 (C=O), 1600, 1511, 1464 (Ar).

**$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.38-1.54 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.70 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.82 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.36 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.63 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.23 (dd,  $J = 8.9, 2.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.44-7.53 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.56 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.80-7.88 (m, 3H,  $3\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

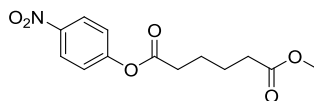
**$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 24.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.4 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 118.5, 121.2, 125.6, 126.5, 127.6, 127.8, 129.4 ( $7\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 130.8, 133.1, 148.5 ( $3\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 169.7, 175.3 ( $2\text{CO}$ ).

**EM (ESI):** 337.2  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ .

**Anal.:** ( $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_4$ ) C, H, N.

**Hexanodioato de metilo y 4-nitrofenilo (26).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido adípico (1.3 mmol) y 4-nitrofenol (1.6 mmol) con un rendimiento del 83%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 8:2.

Rf: 0.58 (hexano/acetato de etilo, 6:4).

Pf: 74-76 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1761, 1740 (C=O), 1516, 1491, 1470 (Ar), 1331 (NO<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 1.75-1.82 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.40 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 2.64 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.28 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 8.27 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>).

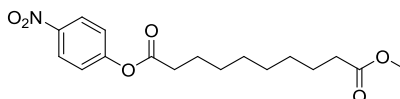
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 24.1, 24.2 (2CH<sub>2</sub>), 33.5, 33.9 (2CH<sub>2</sub>CO), 51.6 (CH<sub>3</sub>), 122.4 (2CH<sub>Ar</sub>), 125.2 (2CH<sub>Ar</sub>), 145.3, 155.4 (2C<sub>Ar</sub>), 170.8, 173.6 (CO).

EM (ESI): 304.1 [(M+Na)<sup>+</sup>].

Anal.: (C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub>) C, H, N.

**Decanodioato de metilo y 4-nitrofenilo (27).**

Obtenido a partir del monometiléster del ácido sebácico (1.4 mmol) y 4-nitrofenol (1.7 mmol) con un rendimiento del 90%.



Cromatografía: hexano/diclorometano, 7:3.

Rf: 0.36 (hexano/diclorometano, 1:9).

Pf: 84-85 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1760, 1736 (C=O), 1593, 1520, 1466 (Ar), 1352 (NO<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 1.26-1.44 (m, 8H, 2(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO), 1.63 (qt,  $J = 7.4$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 1.76 (qt,  $J = 7.3$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.31 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 2.59 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.27 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 8.26 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 24.7, 24.9 (2CH<sub>2</sub>), 29.0 (4CH<sub>2</sub>), 34.1, 34.3 (2CH<sub>2</sub>CO), 51.5 (CH<sub>3</sub>), 122.4 (2CH<sub>Ar</sub>), 125.2 (2CH<sub>Ar</sub>), 145.3, 155.5 (2C<sub>Ar</sub>), 171.3, 174.3 (2CO).

EM (ESI): 338.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

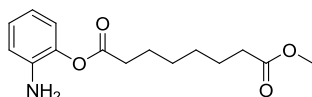
Anal.: (C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub>) C, H, N.

• **Diésteres 7-9. Procedimiento general.**

Una disolución del correspondiente nitroderivado (**4**, **5** ó **6**) en metanol (0.3 mg/mL) se hidrogena en un reactor de flujo continuo H-Cube con caudal de 1.0 mL/minuto, a presión total de hidrógeno, temperatura de 40 °C y usando un cartucho de Pd/C al 10% CatCart™. El disolvente se elimina a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose los compuestos correspondientes.

**Octanodioato de 2-aminofenilo y metilo (7).**

Obtenido a partir del compuesto **4** (0.16 mmol) con un rendimiento cuantitativo.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.28 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 62-63 °C

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3295 (NH), 1733 (C=O), 1600, 1531, 1453 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.25-1.40 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO), 1.60 (qt, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 1.70 (qt, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.30 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 2.40 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.66 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.83 (td, *J* = 8.0, 1.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 6.97 (dd, *J* = 8.1, 1.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.08 (td, *J* = 7.4, 1.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.14 (dd, *J* = 8.0, 1.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 8.12 (s a, 1H, NH), 8.96 (s a, 1H, NH).

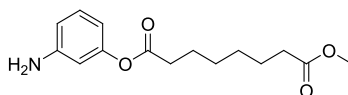
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 24.6, 25.5 (2CH<sub>2</sub>), 28.6 (2CH<sub>2</sub>), 33.9, 36.6 (2CH<sub>2</sub>CO), 51.6 (CH<sub>3</sub>), 119.3, 120.4, 122.2 (3CH<sub>Ar</sub>), 125.9 (C<sub>Ar</sub>), 126.8 (CH<sub>Ar</sub>), 148.4 (C<sub>Ar</sub>), 173.6, 174.6 (2CO).

EM (ESI): 380.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

Anal.: (C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>) C, H, N.

**Octanodioato de 3-aminofenilo y metilo (8).**

Obtenido a partir del compuesto **5** (0.16 mmol) con un rendimiento cuantitativo.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.21 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3468, 3377 (NH), 1735 (C=O), 1614, 1492, 1460 (Ar).

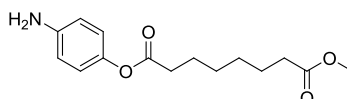
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.31-1.47 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.65 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.73 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.51 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.66 (m, 5H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{NH}_2$ ), 6.38 (t,  $J = 2.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 6.44 (dd,  $J = 8.0, 2.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 6.51 (dd,  $J = 8.0, 2.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.11 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.6, 25.5 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.6 ( $2\text{CH}_2$ ), 33.9, 36.7 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.6 ( $\text{CH}_3$ ), 119.3, 120.4, 122.2 ( $3\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 125.9 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 126.8 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 148.4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 173.6, 174.6 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NO}_4$   $[(\text{M}+\text{H})^+]$ : 280.1543. Encontrada: 280.1540.

### Octanodioato de 4-aminofenilo y metilo (9).

Obtenido a partir del compuesto **6** (0.20 mmol) con un rendimiento cuantitativo.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.34 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3442, 3373 (NH), 1736 (C=O), 1628, 1510, 1440 (Ar).

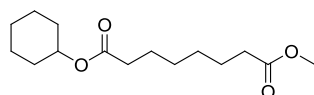
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.31-1.47 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.65 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.73 (qt,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.50 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.49 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 3.66 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.64 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 6.84 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.7, 28.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.2 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 115.6 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 122.1 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 142.9, 144.1 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 172.8, 174.2 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NO}_4$   $[(\text{M}+\text{H})^+]$ : 280.1543. Encontrada: 280.1536.

- **Octanodioato de ciclohexilo y metilo (3).**

A una disolución del monometiléster del ácido subérico (83 mg, 0.44 mmol), cloruro de benzoílo (51  $\mu\text{L}$ , 0.44 mmol) y ciclohexanol (46  $\mu\text{L}$ , 0.44 mmol) en THF anhidro (4.5 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón y a temperatura ambiente, trietilamina (122  $\mu\text{L}$ , 0.88 mmol) y DMAP (12 mg, 0.11 mmol). La mezcla de reacción se agita durante toda la noche. A continuación, se añade una disolución acuosa de HCl al 10% (15 mL) y el crudo de reacción se extrae con acetato de etilo y se lava con disolución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 9:1), obteniéndose el compuesto **3** con un rendimiento del 65%.



Rf: 0.52 (hexano/acetato de etilo, 9:1).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1735 (C=O).

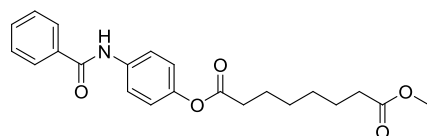
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.19-1.46 (m, 10H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ,  $3\text{CH}_2$  ciclo), 1.51-1.86 (m, 8H,  $2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ,  $2\text{CH}_2$  ciclo), 2.27 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.30 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.66 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.73 (qt,  $J = 4.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{ciclo}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 23.8 ( $2\text{CH}_2$  ciclo), 24.8, 24.9, 25.4 ( $2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2$  ciclo), 28.7, 28.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 31.7 ( $2\text{CH}_2$  ciclo), 34.0, 34.7 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 72.4 (CH), 173.2, 174.2 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 293.1723. Encontrada: 293.1727.

- **Octanodioato de 4-(benzoilamino)fenilo y metilo (18).**

A una disolución de ácido benzoico (37 mg, 0.30 mmol) en diclorometano anhidro (1.2 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón y a temperatura ambiente, EDC (58 mg, 0.30 mmol) y HOBt (41 mg, 0.30 mmol). La mezcla de reacción se agita durante una hora. A continuación, se añade una disolución de la anilina **9** (42 mg, 0.15 mmol) en diclorometano anhidro (0.3 mL) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 8:2), obteniéndose el compuesto **18** con un rendimiento del 56%.



Rf: 0.31 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 66-67 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3324 (NH), 1748, 1651 (C=O), 1521 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.33-1.49 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.66-1.80 (m, 4H,  $2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.32 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.54 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.06 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.45-7.57 (m, 3H,  $3\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.64 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.86 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.95 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24.7, 24.8, 28.7, 28.8 ( $4\text{CH}_2$ ), 34.0, 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ), 121.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 122.1 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 127.1 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 131.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 134.9, 135.6, 147.1 ( $3\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 165.7, 172.3, 174.2 ( $3\text{CO}$ ).

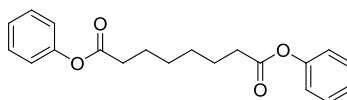
EM (ESI): 384.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

Anal.: (C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>) C, H, N.

#### 4.2.2. Síntesis de los ésteres y amidas 28-31

- **Octanodioato de difenilo (28).**

A una disolución de ácido subérico (300 mg, 1.7 mmol) en tolueno (20 mL), se añaden fenol (405 mg, 4.3 mmol) y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado en cantidades catalíticas. La mezcla de reacción se calienta a reflujo con destilación azeotrópica mediante un aparato Dean-Stark durante 24 horas. A continuación, se elimina parte del tolueno por destilación a presión atmosférica y la disolución resultante se enfría a temperatura ambiente y se vierte lentamente sobre una disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La fase acuosa se extrae con éter dietílico y los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se elimina a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/diclorometano, 1:1), obteniéndose el diéster **28** con un rendimiento del 42%.



Rf: 0.37 (hexano/diclorometano, 1:1).

Pf: 71-74 °C.

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 1757 (C=O), 1593, 1490, 1481 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.50 (qt, *J* = 3.4 Hz, 4H, 2CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO), 1.80 (qt, *J* = 7.5 Hz, 4H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.51 (t, *J* = 7.5 Hz, 4H, 2CH<sub>2</sub>CO), 7.06-7.10 (m, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>), 7.19-7.25 (m, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.34-7.41 (m, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 24.7 (2CH<sub>2</sub>), 28.7 (2CH<sub>2</sub>), 34.3 (2CH<sub>2</sub>CO), 121.6 (4CH<sub>Ar</sub>), 125.8 (2CH<sub>Ar</sub>), 129.4 (4CH<sub>Ar</sub>), 150.8 (2C<sub>Ar</sub>), 172.1 (2CO).

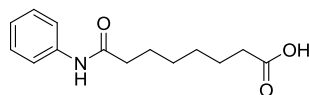
EM (ESI): 327.1 [(M+H)<sup>+</sup>].

Anal.: (C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N.

- **Ácido 8-anilino-8-oxooctanoico (32).**

Una disolución de ácido subérico (5.00 g, 28 mmol) en anhídrido acético (10 mL) se calienta a reflujo durante una hora. Una vez alcanzada la temperatura ambiente, el disolvente se elimina a presión reducida, y el residuo se redisuelve, bajo atmósfera de argón, en THF anhidro (45 mL). A continuación, se añade anilina (2.6 mL, 28 mmol) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añade agua (450 mL), se filtra el crudo de reacción y el sólido obtenido se recristaliza de agua, obteniéndose el compuesto **32** con un rendimiento del 86%.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>101</sup>



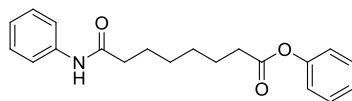
Rf: 0.18 (acetato de etilo).

Pf: 119-120 °C (Lit.<sup>101</sup> 114-116 °C).

<sup>1</sup>H-RMN (CD<sub>3</sub>OD, δ): 1.39 (qt, *J* = 3.6 Hz, 4H, 2CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO), 1.62 (qt, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 1.70 (qt, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.29 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 2.36 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 7.07 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.29 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.54 (dd, *J* = 8.7, 1.1 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>).

• **8-Anilino-8-oxooctanoato de fenilo (29).**

A una disolución del ácido **32** (300 mg, 1.8 mmol) en diclorometano anhidro (18 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón y a temperatura ambiente, DCC (453 mg, 2.2 mmol) y DMAP (40 mg, 0.36 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos. A continuación, se añade una disolución de fenol (210 mg, 2.2 mmol) en diclorometano anhidro (11 mL) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción se filtra y se lava con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 8:2), obteniéndose el compuesto **29** con un rendimiento del 75%.



Rf: 0.42 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

Pf: 118-120 °C.

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3342 (NH), 1757, 1739 (C=O), 1665, 1599, 1501, 1468 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.47-1.49 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO), 1.79 (qt, *J* = 7.3 Hz, 4H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.38 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 2.58 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 7.06-7.14 (m, 3H, 3CH<sub>Ar</sub>), 7.16 (s a, 1H, NH), 7.21-7.26 (m, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.28-7.42 (m, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>), 7.52 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>).

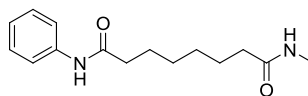
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 24.7, 25.3, 28.7, 28.8 (4CH<sub>2</sub>), 34.2, 37.6 (2CH<sub>2</sub>CO), 119.7 (2CH<sub>Ar</sub>), 121.6 (2CH<sub>Ar</sub>), 124.2, 125.8 (2CH<sub>Ar</sub>), 129.0 (2CH<sub>Ar</sub>), 129.4 (2CH<sub>Ar</sub>), 138.0, 150.7 (2C<sub>Ar</sub>), 171.2, 172.3 (2CO).

EM (ESI): 348.1 [(M+Na)<sup>+</sup>].

Anal.: (C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>) C, H, N.

- ***N*-Fenil-*N*-metiloctanodiamida (30).**

A una disolución del ácido **32** (300 mg, 1.1 mmol) en diclorometano anhidro (5 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón y a temperatura ambiente, EDC (440 mg, 2.3 mmol) y HOBt (310 mg, 2.3 mmol). La mezcla de reacción se agita durante una hora. A continuación, se añade una disolución de metilamina 2 M en THF (3.5 mL, 7.0 mmol) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. Se añade agua (25 mL), se filtra el crudo de reacción y el sólido obtenido se recristaliza de acetonitrilo, obteniéndose el compuesto **30** con un rendimiento del 57%.



Rf: 0.30 (acetato de etilo/metanol, 95:5).

Pf: 154-155 °C.

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3351, 3295 (NH), 1649 (C=O), 1603, 1553 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ ): 1.32-1.46 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.62 (qt,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.70 (qt,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.17 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.36 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.07 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.29 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.53 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ ): 26.7 ( $\text{CH}_3$ ), 27.1, 27.2 ( $2\text{CH}_2$ ), 30.4 ( $2\text{CH}_2$ ), 37.3, 38.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 121.6 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 125.5 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 130.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 140.3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 175.0, 177.2 ( $2\text{CO}$ ).

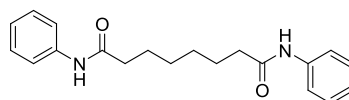
EM (ESI): 263.2 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ ) C, H, N.

- ***N,N*-Difeniloctanodiamida (31).**

Este compuesto se ha sintetizado siguiendo el procedimiento previamente descrito por Rajput *et al.*<sup>97</sup>

A una disolución de ácido subérico (200 mg, 1.1 mmol) en piridina anhidra (20 mL), se añade anilina (210  $\mu\text{L}$ , 2.3 mmol), bajo atmósfera de argón y a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita durante 15 minutos. A continuación, se añade fosfito de trifenílo (0.6 mL, 2.3 mmol) y se calienta a reflujo durante 5 horas. Se elimina parte de la piridina por destilación a presión reducida y la disolución resultante se enfría a temperatura ambiente. Se filtra el crudo de reacción y el sólido obtenido se lava con acetato de etilo, obteniéndose el compuesto **31** con un rendimiento del 38%.



Rf: 0.45 (acetato de etilo/metanol, 8:2).

Pf: 189-192 °C (Lit.<sup>97</sup> 180-184 °C).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3433, 3310 (NH), 1658 (C=O), 1599, 1533, 1498, 1473 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 1.30-1.35 (m, 4H,  $2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ ), 1.57-1.61 (m, 4H,  $2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.29 (t,  $J = 7.3$  Hz, 4H,  $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 7.00 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.27 (t,  $J = 7.6$  Hz, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.57 (d,  $J = 7.7$  Hz, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 9.84 (s a, 2H, 2NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 25.0 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.5 ( $2\text{CH}_2$ ), 36.4 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 119.0 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 122.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.6 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 139.3 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.2 ( $2\text{CO}$ ).

EM (ESI): 325.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

Anal.: ( $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ ) C, H, N.

#### 4.2.3. Síntesis de las diamidas 33-36, 39 y 40

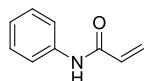
- **Anilidas 37, 38, 41 y 43. Procedimiento general.**

A una disolución de anilina (1 equiv.) en diclorometano anhidro (5 mL/mmol), se añaden, bajo atmósfera de argón y a 0 °C, el cloruro de ácido correspondiente (1.1 equiv.) y piridina (1.1 equiv.), consecutivamente. A continuación, la mezcla de reacción se agita durante una hora a temperatura ambiente, se lava el crudo de reacción secuencialmente con disolución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , agua y disolución acuosa saturada de  $\text{NaCl}$ . La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose las anilidas correspondientes.

##### **N-Fenilacrilamida (37).**

Obtenido a partir de anilina (34 mmol) y cloruro de acrililo (37 mmol) con un rendimiento del 94%.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>102</sup>



Rf: 0.57 (diclorometano/metanol, 95:5).

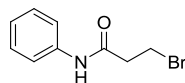
Pf: 107-108 °C. (Lit.<sup>103</sup> 105-106 °C)

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 5.71 (dd,  $J = 9.6, 2.0$  Hz, 1H,  $\frac{1}{2}\text{CH}_2\text{E}$ ), 6.31 (dd,  $J = 16.9, 9.7$  Hz, 1H, CHCO), 6.42 (dd,  $J = 16.9, 1.9$  Hz, 1H,  $\frac{1}{2}\text{CH}_2\text{Z}$ ), 7.10 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.30 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.60 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.16 (s a, 1H, NH).

**3-Bromo-N-fenilpropanamida (38).**

Obtenido a partir de anilina (45 mmol) y cloruro de 3-bromopropanoilo (50 mmol) con un rendimiento del 92%.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>104</sup>



Rf: 0.56 (diclorometano/etanol, 95:5).

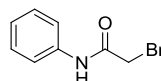
Pf: 118-122 °C (Lit.<sup>104</sup> 123-124 °C).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.96 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.65 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>Br), 7.10 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.27 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.55 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 8.63 (s a, 1H, NH).

**2-Bromo-N-fenilacetamida (41).**

Obtenido a partir de anilina (22 mmol) y cloruro de 2-bromoacetilo (24 mmol) con un rendimiento del 97%.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>105</sup>



Rf: 0.70 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

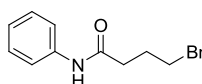
Pf: 127-128 °C (Lit.<sup>105</sup> 129-131 °C).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ) (Mezcla de rotámeros A:B, 2:1): 4.02 (s, 2H, CH<sub>2</sub>, rotámero A), 4.19 (s, 2H, CH<sub>2</sub>, rotámero B), 7.16 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.35 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 8.16 (s a, 1H, NH, rotámero A), 8.24 (s a, 1H, NH, rotámero B).

**4-Bromo-N-fenilbutanamida (43).**

Obtenido a partir de anilina (8.2 mmol) y cloruro de 4-bromobutanoilo (9.0 mmol) con un rendimiento del 91%.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>106</sup>

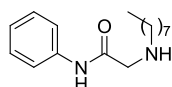


Rf: 0.61 (hexano/acetato de etilo, 6:4).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.26 (qt,  $J = 6.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.56 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.53 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 7.10 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.31 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.51 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.63 (s a, 1H, NH).

- **$N^1$ -Fenil- $N^2$ -octilglicinamida (42).**

A una disolución de octilamina (3.4 mL, 21 mmol) en diclorometano anhidro (20 mL), se añade, gota a gota y bajo atmósfera de argón, una disolución del bromoderivado **41** (2.22 g, 10 mmol) en diclorometano anhidro (10 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, el crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 1:1), obteniéndose la amina secundaria **42** con un rendimiento del 40%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

Rf: 0.24 (acetato de etilo).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3349 (NH), 1713 (C=O), 1598, 1444 (Ar).

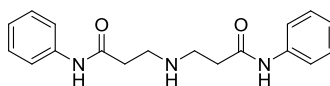
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.88 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.28-1.38 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.51 (qt,  $J = 6.9$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.74 (s a, 1H, NH), 2.66 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.36 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 7.09 (tt,  $J = 7.4$ , 1.1 Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.32 (t ap,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.58 (dd,  $J = 8.7$ , 1.1 Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 9.38 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.7, 27.2, 29.3, 29.5, 30.1, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 50.3, 53.1 ( $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 119.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 137.8 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 170.0 (CO).

EM (ESI): 263.2 [(M+H) $^+$ ].

- **$N^3$ -(3-Anilino-3-oxopropil)- $N^1$ -fenil- $\beta$ -alaninamida (33).**

A una disolución del bromoderivado **38** (500 mg, 2.2 mmol) en diclorometano anhidro (4 mL), se añade una disolución de amoníaco 2 M en metanol (1.1 mL, 2.2 mmol) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se redissuelve en diclorometano. El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (acetato de etilo/metanol, 95:5), obteniéndose el compuesto **33** con un rendimiento del 15%.



Rf: 0.18 (diclorometano/metanol, 95:5).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3285 (NH), 1733 (C=O), 1668, 1602 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ ): 2.59 (t,  $J = 6.3$  Hz, 4H,  $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.89 (t,  $J = 6.3$  Hz, 4H,  $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 6.97 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.10 (t,  $J = 7.7$  Hz, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.37 (d,  $J = 7.7$  Hz, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ ): 35.6 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 50.9 ( $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 121.5 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 125.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.7 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 139.5 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 173.3 (2CO).

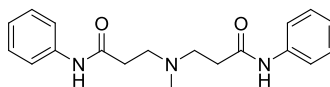
HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2$  [(M+H) $^+$ ]: 312.1706. Encontrada: 312.1706.

- **Diamidas 34-36. Procedimiento general.**

A una disolución de *N*-fenilacrilamida (**37**, 3 equiv.) y la amina correspondiente (1 equiv.) en acetonitrilo seco (0.5 mL/mmol de amina), se añade DBU (1 equiv.) y la mezcla de reacción se calienta a 60 °C durante toda la noche. A continuación, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose las diamidas correspondientes.

***N*<sup>3</sup>-(3-Anilino-3-oxopropil)-*N*<sup>1</sup>-fenil-*N*<sup>3</sup>-metil- $\beta$ -alaninamida (**34**).**

Obtenido a partir de **37** (3.4 mmol) y metilamina (disolución 2 M en THF, 1.1 mmol) con un rendimiento del 95%.



Cromatografía: diclorometano/metanol, 95:5.

Rf: 0.13 (diclorometano/metanol, 95:5).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3298 (NH), 1660 (C=O), 1600, 1547, 1497, 1443 (Ar).

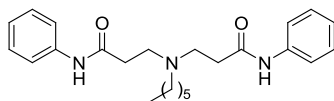
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.30 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.52 (t,  $J = 5.9$  Hz, 4H,  $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.75 (t,  $J = 5.9$  Hz, 4H,  $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 7.01 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.17 (t,  $J = 7.6$  Hz, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.46 (d,  $J = 7.8$  Hz, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 9.36 (s a, 2H, 2NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 34.3 ( $2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 41.3 ( $\text{CH}_3\text{N}$ ), 53.0 ( $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 120.1 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.2 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 170.5 (2CO).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_2$  [(M+H) $^+$ ]: 326.1863. Encontrada: 326.1866.

***N*<sup>3</sup>-(3-Anilino-3-oxopropil)-*N*<sup>1</sup>-fenil-*N*<sup>3</sup>-hexil-β-alaninamida (35).**

Obtenido a partir de **37** (3.4 mmol) y hexilamina (1.1 mmol) con un rendimiento del 76%.



Cromatografía: acetato de etilo/metanol, 9:1.

Rf: 0.21 (acetato de etilo/metanol, 9:1).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3298 (NH), 1660 (C=O), 1601, 1547, 1498, 1443 (Ar).

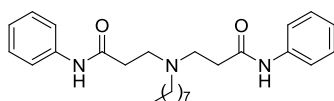
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.82 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.20-1.28 (m, 6H, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 1.50-54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 2.52 (t, *J* = 6.2 Hz, 6H, 2CH<sub>2</sub>CO, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 2.83 (t, *J* = 6.2 Hz, 4H, 2NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 7.02 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.19 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>), 7.44 (d, *J* = 7.9 Hz, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>), 9.08 (s a, 2H, 2NH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.4 (CH<sub>3</sub>), 23.0, 27.1, 27.7, 32.1 ((CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>), 34.7 (2CH<sub>2</sub>CO), 50.1 (2CH<sub>2</sub>N), 54.0 (CH<sub>2</sub>N), 120.2 (4CH<sub>Ar</sub>), 124.4 (2CH<sub>Ar</sub>), 129.3 (4CH<sub>Ar</sub>), 138.5 (2C<sub>Ar</sub>), 170.9 (2CO).

HRMS (ESI): Calculada para C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> [(M+H)<sup>+</sup>]: 396.2646. Encontrada: 369.2648.

***N*<sup>3</sup>-(3-Anilino-3-oxopropil)-*N*<sup>1</sup>-fenil-*N*<sup>3</sup>-octil-β-alaninamida (36).**

Obtenido a partir de **37** (3.4 mmol) y octilamina (1.1 mmol) con un rendimiento del 83%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

Rf: 0.45 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3294 (NH), 1659 (C=O), 1601, 1546, 1497 (Ar).

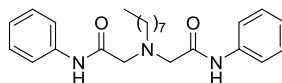
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.85 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.19-1.25 (m, 8H, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 2.53 (t, *J* = 6.3 Hz, 6H, 2CH<sub>2</sub>CO, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 2.85 (t, *J* = 6.2 Hz, 4H, 2NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 7.02 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.20 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>), 7.43 (d, *J* = 7.8 Hz, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>), 8.90 (s a, 2H, 2NH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.0 (CH<sub>3</sub>), 22.6, 26.8, 27.7, 29.3, 29.5, 31.8 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>), 34.5 (2CH<sub>2</sub>CO), 49.9 (2CH<sub>2</sub>N), 53.7 (CH<sub>2</sub>N), 119.9 (4CH<sub>Ar</sub>), 124.0 (2CH<sub>Ar</sub>), 128.9 (4CH<sub>Ar</sub>), 138.1 (2C<sub>Ar</sub>), 170.4 (2CO).

HRMS (ESI): Calculada para C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> [(M+H)<sup>+</sup>]: 424.2959. Encontrada: 424.2959.

- ***N*<sup>2</sup>-(2-Anilino-2-oxoetil)-*N*<sup>1</sup>-fenil-*N*<sup>2</sup>-octilglicinamida (39).**

A una disolución del bromoderivado **41** (575 mg, 2.7 mmol) y octilamina (0.20 mL, 1.2 mmol) en acetonitrilo seco (12 mL), se añade DIPEA (0.6 mL, 3.5 mmol) y la mezcla de reacción se calienta a 60 °C durante toda la noche. A continuación, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 1:1), obteniéndose la diamida **39** con un rendimiento del 93%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

Rf: 0.75 (acetato de etilo).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3274 (NH), 1666 (C=O), 1601, 1542, 1444 (Ar).

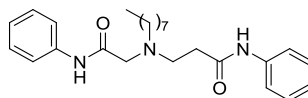
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.85 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.23-1.28 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.44-1.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 2.66 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.36 (s, 4H, 2NCH<sub>2</sub>CO), 7.10 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.32 (t ap, *J* = 7.9 Hz, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>), 7.62 (d, *J* = 7.7 Hz, 4H, 4CH<sub>Ar</sub>), 9.07 (s a, 2H, 2NH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.1 (CH<sub>3</sub>), 22.6, 27.2, 27.6, 29.3, 29.4, 31.8 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>), 56.4 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 59.8 (2NCH<sub>2</sub>CO), 119.9 (4CH<sub>Ar</sub>), 124.4 (2CH<sub>Ar</sub>), 129.0 (4CH<sub>Ar</sub>), 137.7 (2C<sub>Ar</sub>), 169.4 (2CO).

HRMS (ESI): Calculada para C<sub>24</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Na [(M+Na)<sup>+</sup>]: 418.2465. Encontrada: 418.2449.

- ***N*<sup>3</sup>-(2-Anilino-2-oxoetil)-*N*<sup>1</sup>-fenil-*N*<sup>3</sup>-octil-β-alaninamida (40).**

A una suspensión de la amina **42** (195 mg, 0.74 mmol) y el bromoderivado **38** (340 mg, 1.5 mmol) en diclorometano anhidro (1.5 mL), se añade DIPEA (0.40 mL, 2.4 mmol) bajo atmósfera de argón. La reacción se calienta a reflujo durante toda la noche. Una vez alcanzada la temperatura ambiente, el crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 1:1), obteniéndose el compuesto **40** con un rendimiento del 25%.



Rf: 0.16 (hexano/acetato de etilo, 6:4).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3274 (NH), 1664 (C=O), 1601, 1540, 1444 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.83 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.18-1.23 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.40-1.49 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.47-2.54 (m, 4H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.91 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.15 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 7.00-7.08 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.18 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.24 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.48 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.53 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.87 (s a, 1H, NH), 9.44 (s a, 1H, NH).

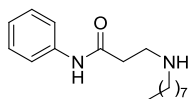
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 27.2, 27.5, 29.3, 29.5, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 35.0 ( $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 51.1, 55.7 ( $2\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 58.9 ( $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 119.7 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 119.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.1, 124.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 137.5, 138.3 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 170.4 ( $2\text{CO}$ ).

$\text{HRMS (ESI)}$ : Calculada para  $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_2\text{Na}$   $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ : 432.2622. Encontrada: 432.2615.

#### 4.2.4. Síntesis de las diamidas 44, 46-63

- **$N^1$ -Fenil- $N^3$ -octil- $\beta$ -alaninamida (45).**

A una disolución de octilamina (1.9 mL, 8.8 mmol) en diclorometano anhidro (9 mL), se añade, gota a gota y bajo atmósfera de argón, una disolución del bromoderivado **38** (1.00 g, 4.4 mmol) en diclorometano anhidro (4 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, el crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 1:1), obteniéndose la amina secundaria **45** con un rendimiento del 65%.



$R_f$ : 0.12 (acetato de etilo).

$\text{IR (ATR, cm}^{-1}\text{)}$ : 3297 (NH), 1667 (C=O), 1601, 1551, 1497, 1444 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.86-0.88 (m, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.29 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.54-1.58 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.48 (t,  $J = 5.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.69 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 2.97 (t,  $J = 5.4$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.48 (s a, 1H, NH), 7.06 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.29 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.53 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.7, 27.5, 29.3, 29.5, 30.1, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.1 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 45.5, 49.3 ( $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 119.7 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.6 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.8 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.1 (CO).

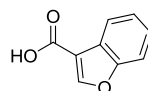
$\text{EM (ESI)}$ : 277.2  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ .

- **Ácido benzofuran-3-carboxílico.**

Este compuesto se ha sintetizado siguiendo el procedimiento previamente descrito por Lu *et al.*<sup>107</sup>

A una disolución del ácido benzofuran-2,3-dicarboxílico (206 mg, 1.0 mmol) en DMSO (2 mL), se añaden  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  (28 mg, 0.10 mmol) y ácido acético (3  $\mu\text{L}$ , 0.05 mmol). La mezcla de reacción se calienta a 140 °C durante 16 horas. A continuación, se deja enfriar el crudo de reacción a temperatura ambiente, se acidifica con HCl 2 M hasta pH = 2 y se extrae con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se lavan con disolución acuosa saturada de NaCl, se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose el ácido benzofuran-3-carboxílico con un rendimiento del 73%.

Los datos espectroscópicos corresponden con los previamente descritos.<sup>108</sup>



Rf: 0.22 (acetato de etilo).

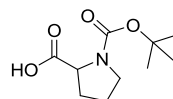
Pf: 160-161 °C (Lit.<sup>108</sup> 163-164 °C).

<sup>1</sup>H-RMN (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 7.32-7.41 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.53-7.58 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 8.02-8.05 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 8.40 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ).

- **Ácido 1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-carboxílico.**

A una disolución de prolina (500 mg, 4.3 mmol) en una disolución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (6 mL), se añade, gota a gota y a 0 °C, una disolución de dicarbonato de di-*tert*-butilo (1.04 g, 4.7 mmol) en THF (2.5 mL) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, se elimina el THF a presión reducida, el crudo de reacción se acidifica con HCl 2 M hasta pH = 2 y se extrae con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose el ácido 1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-carboxílico con un rendimiento cuantitativo.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>109</sup>



Rf: 0.38 (diclorometano/metanol, 9:1).

<sup>1</sup>H-RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) (Mezcla de rotámeros A:B, 2:1): 1.42 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ , rotámero B), 1.48 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ , rotámero A), 1.90-2.10 (m, 3H,  $\frac{1}{2}\text{CH}_2\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.23-2.35 (m, 1H,  $\frac{1}{2}\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.31-3.54 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.23-4.36 (m, 1H, CH), 8.78 (s a, 1H, COOH).

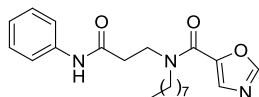
• **Amidas 44, 46, 47, 50-62. Procedimiento general.**

A una disolución del ácido carboxílico correspondiente (2 equiv.) en diclorometano anhidro (4 mL/mmol), se añaden, bajo atmósfera de argón, EDC (2 equiv.) y HOBt (2 equiv.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una hora. A continuación, se añade una disolución de la amina secundaria **45** (1 equiv.) en diclorometano anhidro (2 mL/mmol) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche.\* El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose las amidas correspondientes.

\* Los ácidos 1*H*-1,2,4-triazol-3-carboxílico, 1*H*-imidazol-2-carboxílico y 1*H*-indol-2-carboxílico no se dejan activando con los agentes de condensación durante una hora, sino que la amina **45** se adiciona inmediatamente después del ácido carboxílico.

**N<sup>1</sup>-Fenil-N<sup>3</sup>-octil-N<sup>3</sup>-(1,3-oxazol-5-ilcarbonil)-β-alaninamida (44).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.93 mmol) y ácido 1,3-oxazol-5-carboxílico (1.9 mmol) con un rendimiento del 95%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

Rf: 0.21 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3312 (NH), 1684 (C=O), 1623, 1546, 1495, 1442 (Ar).

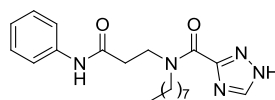
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.27 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.66 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 2.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.59 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 3.85 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 7.08 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.28 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.54-7.56 (m, 3H, 2CH<sub>Ar</sub>, CH<sub>HetAr</sub>), 7.91 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 8.52 y 8.94 (s a, 1H combinado, NH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 13.0 (CH<sub>3</sub>), 21.6, 25.6, 28.1, 28.2, 28.4, 30.7 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>), 34.8 (CH<sub>2</sub>CO), 43.3 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 48.7 (NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 118.9 (2CH<sub>Ar</sub>), 123.2 (CH<sub>Ar</sub>), 127.9 (2CH<sub>Ar</sub>), 130.4 (CH<sub>HetAr</sub>), 137.2 (C<sub>Ar</sub>), 144.2 (C<sub>HetAr</sub>), 150.7 (CH<sub>HetAr</sub>), 157.6 (CON), 168.3 (CONH).

HRMS (ESI): Calculada para C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Na [(M+Na)<sup>+</sup>]: 394.2101. Encontrada: 394.2908.

**N<sup>1</sup>-Fenil-N<sup>3</sup>-octil-N<sup>3</sup>-(1*H*-1,2,4-triazol-3-ilcarbonil)-β-alaninamida (46).**

Obtenido a partir de la amina **45** (1.4 mmol) y ácido 1*H*-1,2,4-triazol-3-carboxílico (2.8 mmol) con un rendimiento del 45%.



Cromatografía: acetato de etilo.

Rf: 0.25 (acetato de etilo).

Pf: 110-111 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3281 (NH), 1623 (C=O), 1547 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) (Mezcla de rotámeros A:B, 3:2): 0.84-0.89 (m, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.25-1.29 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.61-1.78 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.81-2.87 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.55 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámero B), 3.92 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero A), 4.08-4.15 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámero A), 4.27 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero B), 7.05-7.12 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.31 (t,  $J = 8.1$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.54-7.58 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.13 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ , rotámero A), 8.22 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ , rotámero B), 8.96 (s a, 1H, NH), 13.94 (s a, 1H, NH).

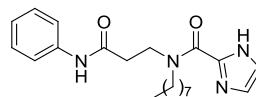
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.6, 27.0, 27.6, 29.2 (2C), 29.3, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ , rotámeros A y B), 35.7, 38.9 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámeros A y B), 45.6, 46.1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámeros A y B), 48.1, 50.2 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámeros A y B), 119.7, 120.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámeros A y B), 124.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.9, 129.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámeros A y B), 138.1, 138.2 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ , rotámeros A y B), 150.8 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 158.8 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 168.7, 169.0 (CO, rotámeros A y B), 171.2 (CO).

EM (ESI): 372.2 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_2$ ) C, H, N.

**$N^1$ -Fenil- $N^3$ -(1H-imidazol-2-ilcarbonil)- $N^3$ -octil- $\beta$ -alaninamida (47).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.33 mmol) y ácido 1H-imidazol-2-carboxílico (0.66 mmol) con un rendimiento del 60%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.12 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 96-97 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3201 (NH), 1668 (C=O), 1604, 1546, 1483, 1443 (Ar).

## Parte experimental

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) (Mezcla de rotámeros A:B, 6:1): 0.81 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.20-1.26 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.60 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.71 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero B), 2.82 (t,  $J = 8.1$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero A), 3.47 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámero A), 3.81 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero B), 4.21 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámero B), 4.30 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero A), 7.03 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.16 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.19 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.25-7.30 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.45-7.55 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.29 (s a, 1H, NH, rotámero B), 9.98 (s a, 1H, NH, rotámero A), 10.94 (s a, 1H, NH, rotámero B), 11.52 (s a, 1H, NH, rotámero A).

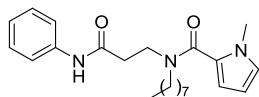
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 27.1, 27.8, 29.2, 29.4, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 39.7 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 46.8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 48.3 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 118.8 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 119.6 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.1 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.8 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 138.6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 141.5 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 158.3 (CON), 169.1 (CONH).

EM (ESI): 371.2 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_2$ ) C, H, N.

### $N^1$ -Fenil- $N^3$ -[(1-metil-1H-pirrol-2-il)carbonil]- $N^2$ -octil- $\beta$ -alaninamida (50).

Obtenido a partir de la amina **45** (0.59 mmol) y ácido 1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico (1.2 mmol) con un rendimiento del 49%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.44 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3277 (NH), 1684 (C=O), 1602, 1543, 1473, 1439 (Ar).

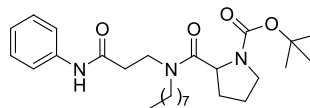
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.87 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 1.23-1.30 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.58-1.65 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.73 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.54 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.67 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{N}$ ), 3.80 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.06 (dd,  $J = 3.7, 2.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.30 (dd,  $J = 3.7, 1.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.66 (t,  $J = 2.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.07 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.28 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.55 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 9.11 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.5 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 23.0, 26.9, 29.2, 29.6 (2C), 32.1 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 35.9 ( $\text{CH}_3\text{N}$ ), 36.8 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 43.5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 50.6 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 107.5, 112.5 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 120.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.4 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 125.7 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 126.6 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 129.2 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.8 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 165.6 (CON), 170.1 (CONH).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2$  [(M+H) $^+$ ]: 384.2646. Encontrada: 384.2655.

***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-octil-*N*<sup>3</sup>-(pirrolidin-2-ilcarbonil)-β-alaninamida (**51**).**

A partir de la amina **45** (0.26 mmol) y el ácido 1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-carboxílico (0.51 mmol) se obtiene *N*<sup>1</sup>-fenil-*N*<sup>3</sup>-octil-*N*<sup>3</sup>-{[1-(*tert*-butoxicarbonil)]-pirrolidin-2-ilcarbonil}-β-alaninamida (**64**) con un rendimiento del 64%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

R<sub>f</sub>: 0.27 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

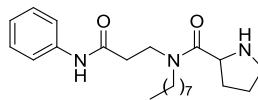
IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3312 (NH), 1685, 1667 (C=O), 1604, 1546, 1441 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ) (Mezcla de rotámeros A:B, 2:1): 0.80-0.88 (m, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 1.17-1.28 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.44-1.67 (m, 11H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.74-1.95 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH), 2.06-2.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 2.31-2.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 2.60-2.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NBoc, rotámero A), 3.00-3.32 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 3.52-3.65 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3.67-3.87 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NBoc, rotámero B), 4.41-4.57 (m, 1H, CH), 7.01 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.26 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.52-7.57 (m, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.74 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 9.13 (s a, 1H, NH, rotámero A), 9.34 (s a, 1H, NH, rotámero B).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.0 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 22.6 (2C), 24.4, 24.7, 26.7, 27.7 (4CH<sub>2</sub>, rotámeros A y B), 28.5, 28.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, rotámeros A y B), 29.1, 29.3, 30.0, 30.1, 30.2, 31.7 (2C) (4CH<sub>2</sub>, rotámeros A y B), 37.1, 37.9 (CH<sub>2</sub>CO, rotámeros A y B), 44.9, 46.0, 47.2, 47.3, 47.9, 50.0 (3CH<sub>2</sub>N, rotámeros A y B), 56.1, 56.5 (CH, rotámeros A y B), 80.0, 80.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, rotámeros A y B), 120.1, 120.2 (2CH<sub>Ar</sub>, rotámeros A y B), 123.8, 124.0 (CH<sub>Ar</sub>, rotámeros A y B), 128.7 (2CH<sub>Ar</sub>), 138.5, 139.0 (C<sub>Ar</sub>, rotámeros A y B), 154.7, 154.9 (NCOO, rotámeros A y B), 169.6, 171.2, 172.5, 173.1 (2CO, rotámeros A y B).

EM (ESI): 474.3 [(M+H)<sup>+</sup>].

A una disolución de la *N*-Boc pirrolidina **64** (63 mg, 0.13 mmol) en diclorometano anhidro (0.5 mL) se añade TFA (200 μL, 2.7 mmol) bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una hora. A continuación, el crudo de reacción se basicifica con una disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> hasta pH ≈ 8 y se extrae con diclorometano. La fase orgánica se lava con una disolución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose el compuesto **51** con un rendimiento del 70%.



Rf: 0.19 (acetato de etilo).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3269 (NH), 1644 (C=O), 1605, 1548, 1494, 1444 (Ar).

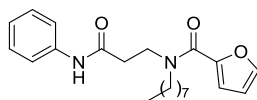
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): (Mezcla de rotámeros A:B, 2:1): 0.83-0.88 (m, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.21-1.24 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.45-2.30 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ,  $(\text{CH}_2)_2\text{CH}$ ), 2.56-3.05 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.15-3.34 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.55-3.76 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.91 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H, CH, rotámero A), 4.37 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H, CH, rotámero B), 5.10 (s a, 1H, NH), 7.05 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.23-7.30 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.56 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámero A), 7.61 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámero B), 8.97 (s a, 1H, NH, rotámero A), 9.58 (s a, 1H, NH, rotámero B).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 25.8, 26.3, 26.8, 27.6, 29.1, 29.2 (2C), 29.3 (2C), 29.7, 30.6, 31.1, 31.7 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $(\text{CH}_2)_2\text{CH}$ , rotámeros A y B), 36.3, 37.2 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámeros A y B), 43.2, 44.0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámeros A y B), 46.8, 46.9, 47.4, 48.3 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ,  $\text{CH}_2\text{NH}$ , rotámeros A y B), 57.8, 58.2 (CH, rotámeros A y B), 119.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8, 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 168.7, 169.5, 171.4, 173.9 (2CO, rotámeros A y B).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_2$  [(M+H) $^+$ ]: 374.2796. Encontrada: 374.2802.

### **$N^1$ -Fenil- $N^3$ -(2-furoil)- $N^2$ -octil- $\beta$ -alaninamida (52).**

Obtenido a partir de la amina **45** (1.4 mmol) y ácido 2-furoico (2.8 mmol) con un rendimiento del 95%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

Rf: 0.40 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

Pf: 90-93 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3315 (NH), 1668 (C=O), 1605 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.87 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.25 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.65 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.75 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.61 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.83 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.43 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.95 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.06 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.27 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.41 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.49-7.60 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 9.29 (s a, 1H, NH).

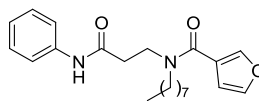
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.8, 29.2, 29.3, 29.7, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.2 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 44.3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.6 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 111.4, 116.5 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 119.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 144.0 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 147.9 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 160.5 (CON), 169.6 (CONH).

EM (ESI): 371.2 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$ ) C, H, N.

***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-3-furoil-*N*<sup>3</sup>-octil-β-alaninamida (53).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.70 mmol) y ácido 3-furoico (1.4 mmol) con un rendimiento cuantitativo.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.14 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 68-69 °C.

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3281 (NH), 1685 (C=O), 1605, 1547, 1501, 1441 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.25 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 2.76 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.44 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 3.82 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 6.55 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 7.08 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.29 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.41 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 7.55 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.68 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>).

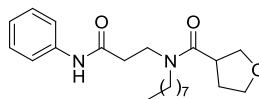
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.1 (CH<sub>3</sub>), 22.6, 26.6, 29.2 (3C), 31.7 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>), 36.5 (CH<sub>2</sub>CO), 43.2 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 50.1 (NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 110.1 (CH<sub>HetAr</sub>), 119.8 (2CH<sub>Ar</sub>), 121.3 (C<sub>HetAr</sub>), 124.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.9 (2CH<sub>Ar</sub>), 138.3 (C<sub>Ar</sub>), 143.1, 143.2 (2CH<sub>HetAr</sub>), 165.6 (CON), 169.4 (CONH).

EM (ESI): 371.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

Anal.: (C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-octil-*N*<sup>3</sup>-(tetrahydrofuran-3-ilcarbonil)-β-alaninamida (54).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.36 mmol) y ácido tetrahydrofuran-3-carboxílico (0.72 mmol) con un rendimiento del 84%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.13 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 68-70 °C.

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3309 (NH), 1684 (C=O), 1624, 1545, 1494, 1442 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.89 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.28-1.30 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.56-1.61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 2.01-2.23 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 2.69 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.22 (qt, *J* = 7.6 Hz, 1H, CH), 3.34 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 3.70 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3.81-4.02 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>O), 7.09 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.31 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.54 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 8.47 (s, 1H, NH).

## Parte experimental

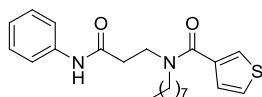
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.8, 29.2, 29.3, 29.5 ( $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 30.8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 31.7 ( $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5$ ), 36.8 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 41.2 ( $\text{CH}$ ), 43.2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.0 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 68.6, 71.2 ( $2\text{CH}_2\text{O}$ ), 119.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.2 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 168.4, 174.1 ( $2\text{CO}$ ).

EM (ESI): 375.2  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ .

Anal.: ( $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ ) C, H, N.

### **$\text{N}^1$ -Fenil- $\text{N}^3$ -octil- $\text{N}^3$ -(tien-3-ilcarbonil)- $\beta$ -alaninamida (55).**

Obtenido a partir de la amina **45** (1.4 mmol) y ácido tiofeno-3-carboxílico (2.8 mmol) con un rendimiento del 85%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.11 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3311 (NH), 1685 (C=O), 1605, 1546, 1440 (Ar).

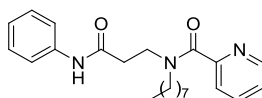
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.87 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.21-1.30 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.58 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.77 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.37 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.82 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 7.08 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.14 (d,  $J = 4.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.29-7.34 (m, 3H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.45 (d,  $J = 1.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.54 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.82 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.6, 28.8 (2C), 29.1, 31.7 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.4 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 42.8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 50.5 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 119.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 125.6, 126.2, 126.7 ( $3\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 136.7 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 138.4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 168.1, 169.6 ( $2\text{CO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$   $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ : 409.1920. Encontrada: 409.1923.

### **$\text{N}^1$ -Fenil- $\text{N}^3$ -octil- $\text{N}^3$ -(piridin-2-ilcarbonil)- $\beta$ -alaninamida (56).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.54 mmol) y ácido piridin-2-carboxílico (1.1 mmol) con un rendimiento del 92%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 2:8.

Rf: 0.30 (hexano/acetato de etilo, 3:7).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3309 (NH), 1685 (C=O), 1615, 1547, 1495, 1443 (Ar).

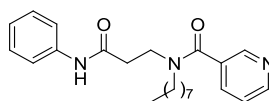
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) (Mezcla de rotámeros A:B, 2:1): 0.85 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.11-1.25 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.57 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.81 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.37 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámero A), 3.46-3.47 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámero B), 3.69-3.75 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero B), 3.87 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero A), 7.05 (t,  $J = 7.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.24-7.32 (m, 3H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.54-7.56 (m, 3H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.71-7.76 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 8.55 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 8.64 (s a, 1H, NH, rotámero B), 8.92 (s a, 1H, NH, rotámero A).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.5, 28.8, 29.0 (2C), 31.7 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.5 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 43.2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 50.0 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 119.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.1, 123.9, 124.4 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 137.0 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 138.4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 148.5 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 154.5 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 169.5, 169.7 (2CO).

**HRMS (ESI)**: Calculada para  $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_2\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 404.2308. Encontrada: 404.2276.

### ***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-octil-*N*<sup>3</sup>-(piridin-3-ilcarbonil)- $\beta$ -alaninamida (57).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.36 mmol) y ácido piridin-3-carboxílico (0.72 mmol) con un rendimiento del 36%.



**Cromatografía**: hexano/acetato de etilo, 2:8.

**Rf**: 0.28 (acetato de etilo).

**IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ )**: 3312 (NH), 1685 (C=O), 1612, 1546, 1495, 1440 (Ar).

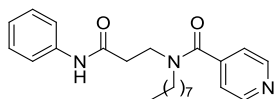
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) (Mezcla de rotámeros A:B, 6:1): 0.87 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.13-1.18 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.53 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.50 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero B), 2.79 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero A), 3.28 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámero A), 3.49 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámero B), 3.64 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero B), 3.86 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero A), 7.07 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.24-7.32 (m, 3H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.53 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.67 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 8.64 (d,  $J = 1.4$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 9.27 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.5, 26.4, 28.9, 29.0 (2C), 31.6 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 35.8 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 42.7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 50.7 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 119.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.4 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 124.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 132.4 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 134.2 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 138.3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 147.3, 150.6 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 169.5, 169.8 (2CO).

**HRMS (ESI)**: Calculada para  $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_2\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 404.2309. Encontrada: 404.2302.

***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-octil-*N*<sup>3</sup>-(piridin-4-ilcarbonil)-β-alaninamida (58).**

Obtenido a partir de la amina **45** (1.4 mmol) y ácido piridin-4-carboxílico (2.8 mmol) con un rendimiento del 41%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 2:8.

Rf: 0.19 (acetato de etilo).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3310 (NH), 1624 (C=O), 1547 (Ar).

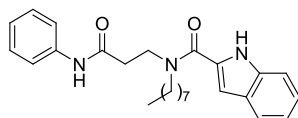
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ) (Mezcla de rotámeros A:B, 4:1): 0.76 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.02-1.07 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.41 (qt, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 2.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO, rotámero B), 2.70 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO, rotámero A), 3.12 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>, rotámero A), 3.41 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>, rotámero B), 3.50 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO, rotámero B), 3.74 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO, rotámero A), 7.00 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.11 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, 2CH<sub>HetAr</sub>), 7.16-7.21 (m, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.41 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 8.55 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, 2CH<sub>HetAr</sub>), 8.78 (s a, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.0 (CH<sub>3</sub>), 22.5, 26.4, 28.8, 29.0 (2C), 31.6 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>), 35.9 (CH<sub>2</sub>CO), 42.4 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 50.4 (NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 119.8 (2CH<sub>Ar</sub>), 120.8 (2CH<sub>HetAr</sub>), 124.2 (CH<sub>Ar</sub>), 128.9 (2CH<sub>Ar</sub>), 138.2 (C<sub>Ar</sub>), 144.1 (C<sub>HetAr</sub>), 150.3 (2CH<sub>HetAr</sub>), 169.2, 169.9 (CO, rotámeros A y B), 171.1 (CO).

HRMS (ESI): Calculada para C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Na [(M+Na)<sup>+</sup>]: 404.2308. Encontrada: 404.2311.

***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-(1*H*-indol-2-ilcarbonil)-*N*<sup>3</sup>-octil-β-alaninamida (59).**

Obtenido a partir de la amina **45** (1.4 mmol) y ácido 1*H*-indol-2-carboxílico (2.8 mmol) con un rendimiento del 73%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.47 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

Pf: 142-144 °C.

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3284 (NH), 1666 (C=O), 1600, 1533, 1442 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.79 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.16 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.59 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.62 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.50 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.80 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.63 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.92-7.03 (m, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.09-7.16 (m, 3H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.26 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.40 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.51 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 8.53 (s a, 1H, NH), 9.82 (s a, 1H, NH).

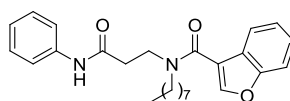
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.7, 26.8, 28.8, 29.2, 29.3, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.3 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 44.5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.9 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 105.2, 111.8 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 120.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 120.6, 122.1 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 124.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.6 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 127.9 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.2, 135.7 ( $2\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 138.1 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 163.4 (CON), 169.5 (CONH).

EM (ESI): 420.4 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_2$ ) C, H, N.

### **$N^3$ -(1-Benzofuran-3-ilcarbonil)- $N^1$ -fenil- $N^3$ -octil- $\beta$ -alaninamida (60).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.36 mmol) y el ácido benzofuran-3-carboxílico (0.72 mmol) con un rendimiento del 57%.



Cromatografía: diclorometano/etanol, 95:5.

Rf: 0.38 (diclorometano/etanol, 95:5).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3313 (NH), 1683 (C=O), 1609, 1548, 1492, 1443 (Ar).

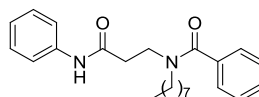
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.84 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.14-1.26 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.54 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.76 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.45 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.85 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 7.06 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.15 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.22-7.33 (m, 3H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.46-7.61 (m, 4H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.74 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 9.15 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.5, 26.5, 29.1 (3C), 31.7 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.2 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 43.0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 50.4 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 111.7 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 117.2 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 119.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 120.9, 123.7, 124.1, 125.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $3\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 125.4 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 143.9 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 154.6 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 165.4 (CON), 169.6 (CONH).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 443.2305. Encontrada: 443.2319.

### **$N^3$ -Benzoil- $N^1$ -fenil- $N^3$ -octil- $\beta$ -alaninamida (61).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.54 mmol) y ácido benzoico (1.1 mmol) con un rendimiento del 91%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 9:1.

Rf: 0.28 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 65-67 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3307 (NH), 1686 (C=O), 1607, 1546, 1498, 1439 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.85 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.09-1.15 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.50 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.75 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.25 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.81 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 7.04 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.21-7.27 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.32-7.40 (m, 5H,  $5\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.51 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 9.35 (s a, 1H, NH).

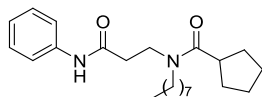
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.4, 28.8, 29.0 (2C), 31.7 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.2 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 42.6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 50.6 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 119.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 126.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.5 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.5 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 136.4, 138.6 ( $2\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 169.8, 172.7 (2CO).

EM (ESI): 381.2 [(M+H) $^+$ ].

Anal.: ( $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2$ ) C, H, N.

**$N^3$ -(Ciclopentilcarbonyl)- $N^1$ -fenil- $N^3$ -octil- $\beta$ -alaninamida (62).**

Obtenido a partir de la amina **45** (0.54 mmol) y ácido ciclopentanocarboxílico (1.1 mmol) con un rendimiento del 69%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 9:1.

Rf: 0.22 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 67-70 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3281 (NH), 1682 (C=O), 1611, 1547, 1494, 1442 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) (Mezcla de rotámeros A:B, 7:1): 0.88 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.29 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.57 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopentilo), 1.76-1.79 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ,  $2\text{CH}_2$  ciclopentilo), 2.61 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero B), 2.69 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero A), 2.86 (qt,  $J = 7.7$  Hz, 1H, CH), 3.33 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.69 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero A), 3.75 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámero B), 7.06 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.29 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.50 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámero B), 7.58 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámero A), 8.02 (s a, 1H, NH, rotámero B), 8.96 (s a, 1H, NH, rotámero A).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 25.9, 26.2, 26.9, 27.0, 27.7, 29.2 (2C), 29.3, 29.4, 29.5, 30.2, 30.7, 30.8, 31.7 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $4\text{CH}_2$  ciclopentilo, rotámeros A y B), 36.7, 37.2 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámeros A y B), 41.0 (CH), 43.0, 43.7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámeros A y B), 46.0, 48.8 ( $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámeros A y B), 119.9, 120.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámeros A y B), 123.9, 124.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámeros A y B), 128.8, 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámeros A y B), 138.1, 138.6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ , rotámeros A y B), 169.1, 169.6 (CO, rotámeros A y B), 176.4, 177.4 (CO, rotámeros A y B).

EM (ESI): 373.2 [(M+H) $^+$ ].

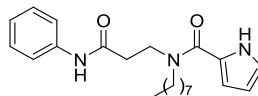
Anal.: ( $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2$ ) C, H, N.

• **Amidas 48 y 49. Procedimiento general.**

A una disolución del ácido 1*H*-pirrol-2- ó 3-carboxílico (2 equiv.) en diclorometano anhidro (4 mL/mmol), se añaden, bajo atmósfera de argón, DCC (2.2 equiv.) y DMAP (0.4 equiv.). A continuación, se añade una disolución de la amina secundaria **45** (1 equiv.) en diclorometano anhidro (2 mL/mmol de amina) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción filtra y se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose las amidas correspondientes.

***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-octil-*N*<sup>3</sup>-(1*H*-pirrol-2-ilcarbonil)- $\beta$ -alaninamida (**48**).**

Obtenido a partir de la amina **45** (1.5 mmol) y ácido 1*H*-pirrol-2-carboxílico (3.0 mmol) con un rendimiento del 76%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.40 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

Pf: 105-107 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3264 (NH), 1666 (C=O), 1599, 1548, 1483, 1445 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.88 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.28-1.31 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.71 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.74 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.58 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.87 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.25-6.28 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.54 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.90 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.07 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.28 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.55 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 8.84 (s a, 1H, NH), 9.84 (s a, 1H, NH).

## Parte experimental

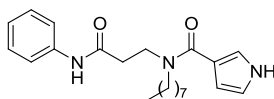
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.8, 28.6, 29.2, 29.4, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.7 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 44.3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.3 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 110.3, 112.2 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 119.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 121.3 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 124.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.4 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 162.5 ( $\text{CON}$ ), 169.4 ( $\text{CONH}$ ).

$\text{EM (ESI)}$ : 370.2 [ $(\text{M}+\text{H})^+$ ].

$\text{Anal.}$ : ( $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_2$ ) C, H, N.

### **$\text{N}^1$ -Fenil- $\text{N}^3$ -octil- $\text{N}^3$ -(1H-pirrol-3-ilcarbonil)- $\beta$ -alaninamida (49).**

Obtenido a partir de la amina **45** (1.2 mmol) y ácido 1H-pirrol-3-carboxílico (2.4 mmol) con un rendimiento del 54%.



$\text{Cromatografía}$ : hexano/acetato de etilo, 3:7.

$\text{Rf}$ : 0.25 (acetato de etilo).

$\text{Pf}$ : 99-101  $^\circ\text{C}$ .

$\text{IR (ATR, cm}^{-1}\text{)}$ : 3250 (NH), 1598 (C=O), 1548 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.79 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.16 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.54 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.61 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.41 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.74 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.26 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.56 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.92 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.97 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.18 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.49 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 9.37 (s a, 2H, 2NH).

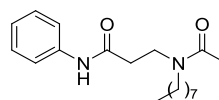
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.7, 28.9, 29.2, 29.3, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.6 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 43.4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.8 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 108.6, 118.3 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 118.4 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 120.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 121.1 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 123.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 168.4, 170.0 ( $2\text{CO}$ ).

$\text{EM (ESI)}$ : 370.2 [ $(\text{M}+\text{H})^+$ ].

$\text{Anal.}$ : ( $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_2$ ) C, H, N.

### • **$\text{N}^3$ -Acetil- $\text{N}^1$ -fenil- $\text{N}^3$ -octil- $\beta$ -alaninamida (63).**

A una disolución de la amina secundaria **45** (165 mg, 0.60 mmol) en diclorometano anhidro (3 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón, cloruro de acetilo (85  $\mu\text{L}$ , 1.2 mmol) y trietilamina (250  $\mu\text{L}$ , 1.8 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, el crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 1:1), obteniéndose el compuesto **63** con un rendimiento del 68%.



Rf: 0.41 (acetato de etilo).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3274 (NH), 1623 (C=O), 1548, 1493, 1441 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) (Mezcla de rotámetros A:B, 5:1): 0.85 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 1.19-1.24 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.54 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.06 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ , rotámetro A), 2.09 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ , rotámetro B), 2.60 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámetro B), 2.65 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámetro A), 3.26 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.64 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 7.03 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.25 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.52 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámetro B), 7.58 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámetro A), 9.17 (s a, 1H, NH, rotámetro B), 9.45 (s a, 1H, NH, rotámetro A).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 21.4, 21.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ , rotámetros A y B), 22.6, 26.8, 27.0, 27.7, 29.0, 29.2 (2C), 29.4, 29.6, 31.7, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ , rotámetros A y B), 36.4, 36.7 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámetros A y B), 42.9, 44.9 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ , rotámetros A y B), 45.8, 50.0 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ , rotámetros A y B), 119.8, 120.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámetros A y B), 123.8, 124.2 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámetros A y B), 128.8, 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ , rotámetros A y B), 138.3, 138.7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ , rotámetros A y B), 169.1, 169.8, 170.6, 171.2 (2CO, rotámetros A y B).

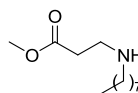
HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 341.2110. Encontrada: 341.2199.

#### 4.2.5. Síntesis de los amidoésteres 65 y 66

##### • N-Octil- $\beta$ -alaninato de metilo (67).

A una disolución de octilamina (1.7 mL, 10.2 mmol) en diclorometano anhidro (10 mL), se añade gota a gota una disolución de 3-bromopropanoato de metilo (0.56 mL, 5.1 mmol) en diclorometano anhidro (5 mL). La mezcla de reacción se agita bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente durante toda la noche. Pasado este tiempo, se lava el crudo de reacción con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 2:8), obteniéndose la amina secundaria **67** con un rendimiento del 59%.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>110</sup>



Rf: 0.37 (hexano/acetato de etilo, 2:8).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.84 (t,  $J = 6.5$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 1.24 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.41-1.43 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.47 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.56 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 2.84 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.64 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ).

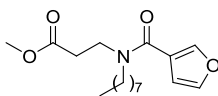
• **Ésteres metílicos 68 y 69. Procedimiento general.**

A una disolución del ácido carboxílico correspondiente (2 equiv.) en diclorometano anhidro (4 mL/mmol de ácido carboxílico), se añaden, bajo atmósfera de argón, EDC (2 equiv.) y HOBT (2 equiv.) para el compuesto **68**, o DCC (2.2 equiv.) y DMAP (0.4 equiv.) para **69**. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una hora. A continuación, se añade una disolución de la amina secundaria **67** (1 equiv.) en diclorometano anhidro (2 mL/mmol) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche.\* El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose las amidas correspondientes.

\* El ácido 1*H*-pirrol-2-carboxílico no se deja activando con los agentes de condensación durante una hora, sino que la amina **67** se adiciona inmediatamente después del ácido carboxílico.

**N-3-Furoil-N-octil- $\beta$ -alaninato de metilo (68).**

Obtenido a partir de la amina **67** (0.70 mmol) y ácido 3-furoico (1.4 mmol) con un rendimiento cuantitativo.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.27 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1736 (C=O), 1626, 1507, 1435 (Ar).

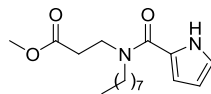
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.81 (t,  $J = 6.5$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 1.19 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.53 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.63 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.35 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.62 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.65 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.51 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.36 (t,  $J = 1.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.64 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 22.6, 26.6, 29.1 (2C), 29.2, 31.7, 32.4 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 42.3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.7 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 51.8 ( $\text{OCH}_3$ ), 110.2 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 121.5 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 142.9, 143.0 (2 $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 164.7, 172.4 (2CO).

EM (ESI): 310.2 [(M+H) $^+$ ].

***N*-Octil-*N*-(1*H*-pirrol-2-ilcarbonil)- $\beta$ -alaninato de metilo (**69**).**

Obtenido a partir de la amina **67** (1.5 mmol) y ácido 1*H*-pirrol-2-carboxílico (3.0 mmol) con un rendimiento del 76%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 9:1.

Rf: 0.33 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3263 (NH), 1738 (C=O), 1593, 1438 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.88 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 1.28-1.33 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.69 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.73 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.56 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.70 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.82 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.26 (dt,  $J = 3.7, 2.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.52 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.92 (td,  $J = 2.7, 1.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 9.77 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 22.6, 26.9, 28.6, 29.2, 29.4, 31.8, 33.1 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 44.0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 48.9 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 51.8 ( $\text{OCH}_3$ ), 110.1, 111.6, 120.9 ( $3\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 124.8 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 161.8, 172.3 (2CO).

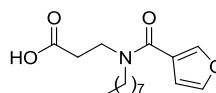
EM (ESI): 309.2 [(M+H) $^+$ ].

- **Ácidos carboxílicos **70** y **71**. Procedimiento general.**

A una disolución de  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (2 equiv.) en agua (2.5 mL/mmol), se añade el éster correspondiente (**68** ó **69**, 1 equiv.) disuelto en THF (2.5 mL/mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 4 horas. A continuación, se elimina el THF a presión reducida, el residuo se acidifica con una disolución acuosa de HCl 2 M y se extrae con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se lavan con una disolución acuosa saturada de NaCl, se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose los ácidos carboxílicos correspondientes, que se emplean en la siguiente etapa sin purificar.

***N*-3-Furoil-*N*-octil- $\beta$ -alanina (**70**).**

Obtenido a partir del éster metílico **68** (0.68 mmol) con un rendimiento cuantitativo.



Rf: 0.21 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 77-80  $^{\circ}\text{C}$ .

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3132 (OH), 1727 (C=O), 1595, 1436 (Ar).

## Parte experimental

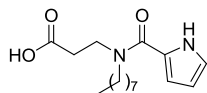
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.84 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.23 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.57 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.68 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.41 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.70 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.53 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.38 (t,  $J = 1.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.70 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 11.31 (s a, 1H, OH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.6, 29.1 (2C), 29.2, 31.7, 32.6 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 42.5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.9 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 110.0 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 120.9 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 143.0, 143.5 (2 $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 165.6 (CON), 175.9 (COO).

EM (ESI): 296.2 [(M+H) $^+$ ].

### ***N*-Octil-*N*-(1*H*-pirrol-2-ilcarbonil)- $\beta$ -alanina (71).**

Obtenido a partir del éster metílico **69** (0.65 mmol) con un rendimiento cuantitativo.



Rf: 0.20 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

Pf: 72-73  $^{\circ}\text{C}$ .

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3258 (NH, OH), 1710 (C=O), 1574, 1444 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.88 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.28-1.33 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.71 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.73 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.58 (m, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.83 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.23-6.26 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.55 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.93 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 10.42 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.9, 28.5, 29.2, 29.4, 31.8, 33.3 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 44.0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.1 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 110.0, 112.4, 121.7 (3 $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 124.1 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 162.6 (CON), 175.7 (COO).

EM (ESI): 295.2 [(M+H) $^+$ ].

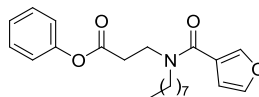
#### • Ésteres **65** y **66**. Procedimiento general.

Una suspensión de EDC (1 equiv.), HOBt (1 equiv.) y el ácido carboxílico correspondiente (**70** ó **71**, 1 equiv.) en diclorometano anhidro (4 mL/mmol), se agita bajo atmósfera de argón durante una hora a temperatura ambiente. A continuación, se añade una disolución de fenol (1.5 equiv.) en diclorometano anhidro (2 mL/mmol).\* La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, el crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose los ésteres correspondientes.

\* El ácido carboxílico **71** no se deja activando con los agentes de condensación durante una hora, sino que la adición del fenol se realiza inmediatamente después del ácido carboxílico.

***N*-3-Furoil-*N*-octil- $\beta$ -alaninato de fenilo (**65**).**

Obtenido a partir del ácido **70** (0.21 mmol) y fenol (0.32 mmol) con un rendimiento del 53%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 9:1.

Rf: 0.49 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1758 (C=O), 1627, 1496, 1428 (Ar).

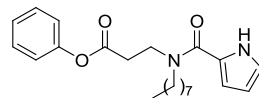
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.88 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.26 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.63 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.94 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.48 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.84 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.59 (d,  $J = 0.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.09 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.23 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.37 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.42 (t,  $J = 1.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.72 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13.0 ( $\text{CH}_3$ ), 21.6, 25.7, 28.1, 28.2, 28.7, 30.7, 32.0 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 41.4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 48.8 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 109.1 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 120.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 120.5 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 124.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 141.9, 142.1 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 149.5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 163.9 (CON), 169.4 (COO).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_4\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 394.1989. Encontrada: 394.1973.

***N*-Octil-*N*-(1*H*-pirrol-2-ilcarbonil)- $\beta$ -alaninato de fenilo (**66**).**

Obtenido a partir del ácido **71** (0.20 mmol) y fenol (0.30 mmol) con un rendimiento del 56%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 7:3.

Rf: 0.49 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3261 (NH), 1757 (C=O), 1592, 1484, 1441 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.89 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.29-1.36 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.75 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 3.00 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.65 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.93 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.26-6.29 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.57 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.95 (td,  $J = 2.6, 1.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.10 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.23 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.38 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 10.01 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.9, 28.7, 29.3, 29.4, 31.8, 33.4 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 43.9 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 49.2 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 110.1, 111.8, 121.1 ( $3\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 121.5 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.7 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 126.0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.5 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 150.6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 162.1 ( $\text{CON}$ ), 170.5 ( $\text{COO}$ ).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$   $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ : 393.2149. Encontrada: 393.2132.

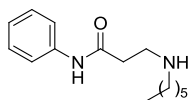
#### 4.2.6. Síntesis de las diamidas 72-75

- **Aminas 76-79. Procedimiento general.**

A una disolución de hexilamina o butilamina (2 equiv.) en diclorometano anhidro (1 mL) para los compuestos **76** y **77**, o bien disoluciones comerciales 2 M de metilamina en THF o de amoniaco en metanol para los compuestos **78** y **79**, se añade gota a gota y bajo atmósfera de argón, una disolución del bromoderivado **38** (1 equiv.) en diclorometano anhidro (1 mL/mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, para las aminas **78** y **79**, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se redissuelve en diclorometano. En todos los casos, el crudo de reacción en diclorometano se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna obteniéndose las aminas secundarias correspondientes.

#### **$\text{N}^1$ -Fenil- $\text{N}^3$ -hexil- $\beta$ -alaninamida (76).**

Obtenido a partir del bromoderivado **38** (1.1 mmol) y hexilamina (2.2 mmol) con un rendimiento del 40%.



Cromatografía: acetato de etilo/metanol, 9:1.

Rf: 0.12 (acetato de etilo/metanol, 9:1).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3300 (NH), 1665 (C=O), 1600, 1550, 1497, 1444 (Ar).

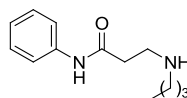
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.90 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.29-1.44 (m, 6H,  $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ ), 1.51-1.60 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ ), 2.48 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.69 (t,  $J = 7.0$ , 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_4$ ), 2.97 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 7.05 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.29 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.53 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 10.73 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.5 ( $\text{CH}_3$ ), 23.0, 27.5, 30.4, 32.1 ( $(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ), 36.4 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 45.8, 49.6 ( $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 120.1 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 124.0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.3 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 139.1 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 171.6 (CO).

EM (ESI): 249.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

**N<sup>3</sup>-Butil-N<sup>1</sup>-fenil-β-alaninamida (77).**

Obtenido a partir del bromoderivado **38** (1.1 mmol) y butilamina (2.2 mmol) con un rendimiento del 60%.



Cromatografía: diclorometano/metanol, 9:1.

Rf: 0.19 (diclorometano/metanol, 85:15).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3298 (NH), 1665 (C=O), 1600, 1549, 1497, 1443 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.95 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.42 (qt, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.57 (sx, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.77 (s a, 1H, NH), 2.53 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 2.72 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2.99 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 7.06 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.30 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.53 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 10.64 (s a, 1H, NH).

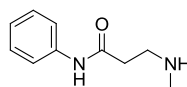
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 13.9 (CH<sub>3</sub>), 20.4, 31.9 ((CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 35.8 (CH<sub>2</sub>CO), 45.4, 48.9 (2CH<sub>2</sub>N), 119.7 (2CH<sub>Ar</sub>), 123.7 (CH<sub>Ar</sub>), 128.9 (2CH<sub>Ar</sub>), 138.7 (C<sub>Ar</sub>), 171.0 (CO).

EM (ESI): 221.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

**N<sup>1</sup>-Fenil- N<sup>3</sup>-metil-β-alaninamida (78).**

Obtenido a partir del bromoderivado **38** (2.2 mmol) y metilamina (2 M en THF, 4.4 mmol) con un rendimiento del 43%.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>111</sup>



Cromatografía: diclorometano/metanol, 9:1.

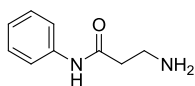
Rf: 0.27 (diclorometano/metanol, 9:1).

<sup>1</sup>H-RMN (CD<sub>3</sub>OD δ): 2.76 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.88 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.35 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>N), 7.10 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.31 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.58 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>).

**N<sup>1</sup>-Fenil-β-alaninamida (79).**

Obtenido a partir del bromoderivado **38** (2.2 mmol) y amoniaco (2 M en metanol, 1.4 mmol) con un rendimiento del 28%.

Los datos espectroscópicos coinciden con los previamente descritos.<sup>112</sup>



Cromatografía: diclorometano/metanol, 85:15.

Rf: 0.21 (diclorometano/metanol, 8:2).

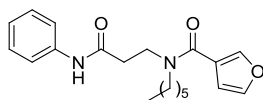
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.52 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.48 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.09 (s a, 1H, NH), 5.48 (s a, 1H, NH), 5.67 (s a, 1H, NH), 6.65 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 6.73 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.19 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>).

• **Diamidas 72 y 73. Procedimiento general.**

A una disolución de ácido 3-furoico (2 equiv.) en diclorometano anhidro (4 mL/mmol), se añaden, a temperatura ambiente y bajo atmósfera de argón, EDC (2 equiv.) y HOBt (2 equiv.). La mezcla de reacción se agita durante una hora. A continuación, se añade una disolución de la amina secundaria **76** ó **77** (1 equiv.) en diclorometano anhidro (2 mL/mmol) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose las diamidas correspondientes.

**N<sup>1</sup>-Fenil-N<sup>3</sup>-3-furoil-N<sup>3</sup>-hexil-β-alaninamida (72).**

Obtenido a partir de la amina **76** (0.12 mmol) y ácido 3-furoico (0.24 mmol) con un rendimiento del 90%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

Rf: 0.28 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

Pf: 80-82 °C.

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3308, 3276 (NH), 1685 (C=O), 1605, 1547, 1501, 1441 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.86 (t, *J* = 6.5 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.23-1.30 (m, 6H, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 1.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 2.72 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.43 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 3.79 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 6.54 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 7.06 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.28 (t, *J* = 7.8, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.40 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 7.55 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.67 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 9.09 (s a, 1H, NH).

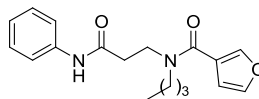
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 13.9 (CH<sub>3</sub>), 22.5, 26.3, 29.2, 31.4 ((CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>), 36.4 (CH<sub>2</sub>CO), 43.5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 50.1 (NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 110.1 (CH<sub>HetAr</sub>), 119.9 (2CH<sub>Ar</sub>), 121.3 (C<sub>HetAr</sub>), 124.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.9 (2CH<sub>Ar</sub>), 138.4 (C<sub>Ar</sub>), 143.1, 143.2 (2CH<sub>HetAr</sub>), 165.6 (CON), 169.5 (CONH).

**EM (ESI):** 343.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

**Anal.:** (C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**N<sup>3</sup>-Butil-N<sup>1</sup>-fenil-N<sup>3</sup>-3-furoil-β-alaninamida (73).**

Obtenido a partir de la amina **77** (0.45 mmol) y ácido 3-furoico (0.90 mmol) con un rendimiento del 65%.



**Cromatografía:** hexano/acetato de etilo, 1:1.

**Rf:** 0.29 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

**Pf:** 94-97 °C.

**IR (ATR, cm<sup>-1</sup>):** 3303 (NH), 1683 (C=O), 1604, 1547, 1502, 1441 (Ar).

**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.91 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.29 (sx, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.61 (qt, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.47 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3.83 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 6.55 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 7.08 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.29 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.41 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 7.57 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 7.68 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 9.21 (s a, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ):** 13.7 (CH<sub>3</sub>), 19.8, 31.3 ((CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 36.2 (CH<sub>2</sub>CO), 43.3 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 49.9 (NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 110.1 (CH<sub>HetAr</sub>), 119.9 (2CH<sub>Ar</sub>), 121.3 (C<sub>HetAr</sub>), 124.0 (CH<sub>Ar</sub>), 128.8 (2CH<sub>Ar</sub>), 138.4 (C<sub>Ar</sub>), 143.1 (2CH<sub>HetAr</sub>), 165.6 (CON), 169.7 (CONH).

**EM (ESI):** 315.1 [(M+H)<sup>+</sup>].

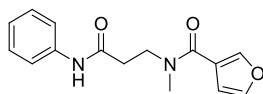
**Anal.:** (C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

• **Diamidas 74 y 75. Procedimiento general.**

A una disolución de ácido 3-furoico (2 equiv.) en diclorometano anhidro (5 mL/mmol), se añaden, a temperatura ambiente y bajo atmósfera de argón, cloruro de oxalilo (3 equiv.) y DMF en cantidades catalíticas. La mezcla de reacción se agita durante una hora. A continuación, se elimina el disolvente a presión reducida, y el residuo se redisuelve en diclorometano anhidro (1 mL/mmol) y se adiciona, bajo atmósfera de argón y a temperatura ambiente, a una disolución de la amina secundaria **78** ó **79** (1 equiv.) en diclorometano anhidro (4 mL/mmol). Se añade trietilamina (3 equiv.) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose las diamidas correspondientes.

***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-3-furoil-*N*<sup>3</sup>-metil-β-alaninamida (74).**

Obtenido a partir de la amina **78** (0.50 mmol) y ácido 3-furoico (1.0 mmol) con un rendimiento del 63%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

Rf: 0.11 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

Pf: 130-132 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3304 (NH), 1674 (C=O), 1605, 1547, 1502, 1443 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.73 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.20 (m, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.85 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 6.59 (d,  $J = 1.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.07 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.28 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.39 (t,  $J = 1.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.55 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.71 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 9.13 (s a, 1H, NH).

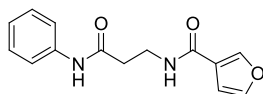
<sup>13</sup>C-RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 35.8 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 38.1 ( $\text{CH}_3$ ), 45.5 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 110.4 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 120.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 121.2 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 124.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 143.0, 144.0 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 165.3 (CON), 169.5 (CONH).

EM (ESI): 273.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

Anal.: ( $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ ) C, H, N.

***N*<sup>1</sup>-Fenil-*N*<sup>3</sup>-3-furoil-β-alaninamida (75).**

Obtenido a partir de la amina **79** (0.61 mmol) y ácido 3-furoico (1.2 mmol) con un rendimiento del 71%.



Cromatografía: hexano/acetato de etilo, 1:1.

Rf: 0.53 (acetato de etilo).

Pf: 150 °C.

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3290 (NH), 1657, 1631 (C=O), 1598, 1541, 1500, 1441 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.70 (t,  $J = 5.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.75-3.77 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 6.61 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.76 (s a, 1H, NH), 7.12 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.32 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.41 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.51 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.80 (s a, 1H, NH), 7.92 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ).

<sup>13</sup>C-RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 35.4, 36.7 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 108.3 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 120.0 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 122.4 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 124.6 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.1 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 134.0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 143.8, 144.9 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 167.5, 172.4 (2CO).

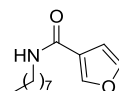
EM (ESI): 259.0 [(M+H)<sup>+</sup>].

Anal.: ( $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ ) C, H, N.

#### 4.2.7. Síntesis de los compuestos 80, 81 y 86

- **N-Octilfuran-3-carboxamida (83).**

A una disolución de ácido 3-furoico (1.50 g, 13 mmol) en diclorometano anhidro (60 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón, EDC (2.56 g, 13 mmol) y HOBt (1.81 g, 13 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una hora. A continuación, se añade una disolución de octilamina (1.1 mL, 6.7 mmol) en diclorometano anhidro (15 mL) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (diclorometano), obteniéndose la amida **83** con un rendimiento cuantitativo.



Rf: 0.28 (diclorometano).

Pf: 71-72 °C.

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3304 (NH), 1636 (C=O), 1583, 1541 (Ar).

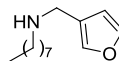
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.87 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.27-1.32 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.58 (qt, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 3.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>N), 5.75 (s a, 1H, NH), 6.59 (dd, *J* = 1.0, 0.8 Hz, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 7.42 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H, CH<sub>HetAr</sub>), 7.91 (m, 1H, CH<sub>HetAr</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.1 (CH<sub>3</sub>), 22.6, 27.0, 29.2, 29.3, 29.7, 31.8 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>), 39.6 (CH<sub>2</sub>N), 108.2 (CH<sub>HetAr</sub>), 122.8 (C<sub>HetAr</sub>), 143.7, 144.5 (2CH<sub>HetAr</sub>), 162.6 (CO).

EM (ESI): 224.2 [(M+H)<sup>+</sup>].

- **N-(3-Furilmetil)-N-octilamina (84).**

A una suspensión de LiAlH<sub>4</sub> (120 mg, 3.0 mmol) en THF anhidro (3.5 mL), se añade, gota a gota y bajo atmósfera de argón, una disolución de la amida **83** (220 mg, 1.5 mmol) en THF anhidro (2 mL). La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante toda la noche. A continuación, se añade agua (4 mL) gota a gota y a 0 °C. El crudo de reacción se filtra y se extrae con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 7:3), obteniéndose la amina **84** con un rendimiento del 57%.



Rf: 0.24 (hexano/acetato de etilo, 6:4).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3109 (NH), 1629, 1508, 1461 (Ar).

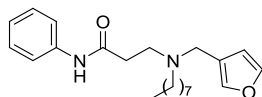
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.87 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.27 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.47-1.51 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.62 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.64 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{HetAr}$ ), 6.38 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.34-7.37 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.7, 27.4, 29.3, 29.5, 30.0, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 44.4, 49.5 ( $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 110.5 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 124.1 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 139.8 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 143.0 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ).

EM (ESI): 210.2 [(M+H) $^+$ ].

- **$N^3$ -(3-Furilmetil)- $N^3$ -octil- $N^1$ -fenil- $\beta$ -alaninamida (80).**

A una suspensión de la amina **84** (19 mg, 0.09 mmol) y el bromoderivado **38** (42 mg, 0.18 mmol) en diclorometano anhidro (1 mL) se añade DIPEA (46  $\mu\text{L}$ , 0.27 mmol) bajo atmósfera de argón. La reacción se calienta a reflujo durante toda la noche. Una vez alcanzada la temperatura ambiente, el crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 7:3), obteniéndose la amina **80** con un rendimiento del 20%.



Rf: 0.34 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3268 (NH), 1676 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1601, 1549, 1444 (Ar).

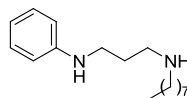
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.86 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.23-1.28 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.57-1.62 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.54-2.61 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 2.84 (t,  $J = 5.6$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.63 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{HetAr}$ ), 6.35 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.08 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.31 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.39-7.40 (m, 2H,  $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.52 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 10.71 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.4, 27.5, 29.2, 29.4, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 33.4 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 47.2, 49.8, 53.0 ( $3\text{CH}_2\text{N}$ ), 111.2 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 119.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 123.8 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 141.3 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 141.4, 143.7 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 165.0 (CO).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$  [(M+Na) $^+$ ]: 379.2356. Encontrada: 379.2343.

- ***N*<sup>3</sup>-Fenilpropan-*N*<sup>1</sup>-octil-1,3-diamina (85).**

A una suspensión de LiAlH<sub>4</sub> (128 mg, 3.2 mmol) en THF anhidro (4 mL), se añade, gota a gota y bajo atmósfera de argón, una disolución de la amida **45** (300 mg, 1.1 mmol) en THF anhidro (2 mL). La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante toda la noche. A continuación, se añade agua (4 mL) gota a gota y a 0 °C. El crudo de reacción se filtra y se extrae con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (acetato de etilo/metanol, 8:2), obteniéndose la diamina **85** con un rendimiento del 46%.



R<sub>f</sub>: 0.36 (acetato de etilo/metanol, 1:1).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3303 (NH), 1603, 1507, 1465 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.90 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.26-1.30 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.45-1.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.81 (qt, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>N)<sub>2</sub>), 2.60 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 2.75 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>N), 3.19 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>N), 6.61 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>), 6.69 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.17 (t, *J* = 10.1 Hz, 2H, 2CH<sub>Ar</sub>).

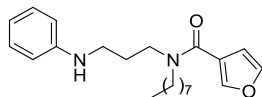
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.1 (CH<sub>3</sub>), 22.7, 27.4, 29.3, 29.5, 29.6, 30.1, 31.9 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>N)<sub>2</sub>), 43.0, 48.4, 50.1 (3CH<sub>2</sub>N), 112.8 (2CH<sub>Ar</sub>), 117.1 (CH<sub>Ar</sub>), 129.2 (2CH<sub>Ar</sub>), 148.7 (C<sub>Ar</sub>).

EM (ESI): 263.3 [(M+H)<sup>+</sup>].

- ***N*-(3-Anilinopropil)-*N*-octil-3-furamida (81) y *N*-fenil-*N*-{3-[3-furoil(octil)amino]propil}-3-furamida (86).**

A una disolución de ácido 3-furoico (21 mg, 0.19 mmol) en diclorometano anhidro (1 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón, EDC (36 mg, 0.19 mmol) y HOBT (25 mg, 0.19 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una hora. A continuación, se adiciona una disolución de la diamina **85** (50 mg, 0.19 mmol) en diclorometano anhidro (0.5 mL) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 7:3), obteniéndose la amida **81** con un rendimiento del 35%, y la diamida **86** con un rendimiento del 25%.

**N-(3-Anilino)propil)-N-octil-3-furamida (81).**



Rf: 0.42 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

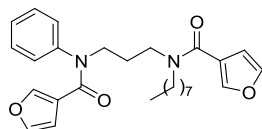
IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3356 (NH), 1726 (C=O), 1610, 1507, 1463 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.88 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.26 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.59 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.91 (qt,  $J = 6.8$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{N})_2$ ), 3.16 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.39 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.57 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.21 (s, 1H, NH), 6.56 (d,  $J = 1.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.62 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 6.69 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.17 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H,  $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.42 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.68 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.8, 27.0, 29.2, 29.3, 29.4, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{N})_2$ ), 41.0, 43.1, 49.1 ( $3\text{CH}_2\text{N}$ ), 110.2 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 112.9 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 117.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 121.7 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 129.3 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 142.9 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 148.2 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 164.9 (CO).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_2$   $[(\text{M}+\text{H})^+]$ : 357.2537. Encontrada: 357.2538.

**N-Fenil-N-{3-[3-furoil(octil)amino]propil}-3-furamida (86).**



Rf: 0.16 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1630 (C=O, Ar), 1568, 1502, 1432 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.87 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.25 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.54-1.59 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.94 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{N})_2$ ), 3.38 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.51 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.86 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 6.10 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.54 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.78 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.13 (t,  $J = 1.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.26 (m, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.38-7.42 (m, 4H,  $4\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.66 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ).

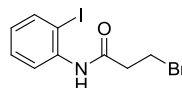
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.8 (2C), 29.2, 29.3 (2C), 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{N})_2$ ), 43.6, 47.8, 47.9 ( $3\text{CH}_2\text{N}$ ), 110.2, 111.1 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 121.7, 121.9 ( $2\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 128.4 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.7 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.8 ( $2\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 142.0 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 142.4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 142.8 ( $2\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 145.8 ( $3\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 163.1, 164.7 (2CO).

HRMS (ESI): Calculada para  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$   $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ : 473.2411. Encontrada: 473.2398.

#### 4.2.8. Síntesis del benzoxazol 82

- **3-Bromo-*N*-(2-iodofenil)propanamida (87).**

A una disolución de 2-iodoanilina (1.97 g, 9.0 mmol) en diclorometano anhidro (45 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón y a 0 °C, cloruro de 3-bromopropanoilo (1.0 mL, 9.9 mmol) y piridina anhidra (0.80 mL, 9.9 mmol), consecutivamente. A continuación, la mezcla de reacción se agita durante una hora a temperatura ambiente, el crudo de reacción se lava secuencialmente con una disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>, agua y una disolución acuosa saturada de NaCl. La fase orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose el bromoderivado **87** con un rendimiento del 90%.



Rf: 0.49 (hexano/acetato de etilo, 7:3).

Pf: 88-90 °C.

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3246 (NH), 1664 (C=O), 1576, 1531, 1465 (Ar).

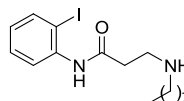
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 3.01 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.71 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>Br), 6.87 (td, *J* = 7.7, 1.2 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.35 (td, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 7.49 (s a, 1H, NH), 7.79 (dd, *J* = 8.0, 1.3 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 8.19 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 26.5 (CH<sub>2</sub>CO), 40.9 (CH<sub>2</sub>Br), 90.2 (C<sub>Ar</sub>I), 122.4, 126.4, 129.3 (3CH<sub>Ar</sub>), 137.9 (C<sub>Ar</sub>N), 138.9 (CH<sub>Ar</sub>), 167.9 (CO).

EM (ESI): 353.9/355.9 [(M[<sup>79</sup>Br/<sup>81</sup>Br]+H)<sup>+</sup>].

- ***N*<sup>1</sup>-(2-Iodofenil)-*N*<sup>3</sup>-octil-β-alaninamida (88).**

A una disolución de octilamina (1.4 mL, 8.5 mmol) en diclorometano anhidro (8 mL), se añade gota a gota y bajo atmósfera de argón, una disolución del bromoderivado **87** (1.50 g, 4.2 mmol) en diclorometano anhidro (4 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, el crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, consecutivamente. La fase orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 1:1), obteniéndose la amina secundaria **88** con un rendimiento del 73%.



Rf: 0.67 (diclorometano/metanol, 9:1).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3289 (NH), 1679 (C=O), 1578, 1528, 1464 (Ar).

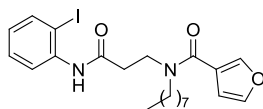
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.87 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.25-1.36 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.65 (qt,  $J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.72-2.81 (m, 4H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.11 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.85 (s a, 1H, NH), 6.84 (td,  $J = 7.6$ , 1.5 Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.32 (td,  $J = 7.7$ , 1.4 Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.79 (dd,  $J = 8.0$ , 1.4 Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.99 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 9.80 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 27.2, 28.8, 29.2, 29.4, 31.8 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 35.3 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 44.8, 49.3 ( $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 83.9 ( $\text{C}_{\text{ArI}}$ ), 124.1, 126.3, 128.9 ( $3\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 130.0 ( $\text{C}_{\text{ArN}}$ ), 139.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 170.8 (CO).

EM (ESI): 403.1 [(M+H) $^+$ ].

•  **$N^3$ -3-Furoil- $N^1$ -2-iodofenil- $N^3$ -octil- $\beta$ -alaninamida (89).**

A una disolución de ácido 3-furoico (168 mg, 1.5 mmol) en diclorometano anhidro (6 mL), se añaden, bajo atmósfera de argón, EDC (288 mg, 1.5 mmol) y HOBT (203 mg, 1.5 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una hora. A continuación, se añade una disolución de la amina secundaria **88** (300 mg, 0.75 mmol) en diclorometano anhidro (1.5 mL) y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El crudo de reacción se lava con disoluciones acuosas saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ , consecutivamente. Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 7:3), obteniéndose la diamida **89** con un rendimiento del 91%.



Rf: 0.50 (hexano/acetato de etilo, 1:1).

IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3298 (NH), 1654 (C=O), 1609, 1557, 1494, 1443 (Ar).

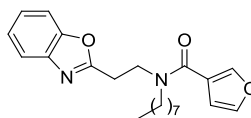
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.83 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.21 (m, 10H,  $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 1.57 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ ), 2.77 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.41 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 3.78 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 6.54 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 6.81 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.28 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.36 (t,  $J = 1.5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.67 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 7.73 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.93 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 7.98 (s a, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 22.6, 26.6, 29.1, 29.2 (2C), 31.7 ( $(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ ), 36.1 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 43.4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 50.2 ( $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_6$ ), 91.6 ( $\text{C}_{\text{ArI}}$ ), 110.2 ( $\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 121.4 ( $\text{C}_{\text{HetAr}}$ ), 123.6, 126.6, 129.1 ( $3\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 138.3 ( $\text{C}_{\text{ArN}}$ ), 139.0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 143.0, 143.3 ( $2\text{CH}_{\text{HetAr}}$ ), 165.2, 169.7 (2CO).

EM (ESI): 497.1 [(M+H) $^+$ ].

- ***N*-[2-(1,3-Benzoxazol-2-il)etil]-*N*-octil-3-furamida (**82**).**

A una disolución de la 2-iodoanilida **89** (151 mg, 0.30 mmol) y 1,10-fenantrolina (11 mg, 0.06 mmol) en acetonitrilo seco (3 mL), se añade CuI (5 mg, 0.03 mmol) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (298 mg, 0.90 mmol). La mezcla de reacción se agita en un reactor de microondas a 100 °C durante 30 minutos. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se filtra sobre gel de sílice y se elimina el disolvente a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo, 8:2), obteniéndose el benzoxazol **82** con un rendimiento del 33%.



R<sub>f</sub>: 0.14 (hexano/acetato de etilo, 6:4).

IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 1621 (C=O), 1571, 1506, 1455 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.86 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.22-1.27 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 1.57 (m, 2H, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 3.29 (m, 2H, CH<sub>2</sub>benzoxazol), 3.40 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 3.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>NCO), 6.55 (m, 1H, CH<sub>furano</sub>), 7.27-7.33 (m, 2H, 2CH<sub>benzoxazol</sub>), 7.40 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H, CH<sub>furano</sub>), 7.45-7.51 (m, 1H, CH<sub>benzoxazol</sub>), 7.63-7.68 (m, 2H, CH<sub>furano</sub>, CH<sub>benzoxazol</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.1 (CH<sub>3</sub>), 22.6, 26.7, 27.4, 29.1, 29.2 (2C), 31.7 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>benzoxazol), 44.1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>benzoxazol), 49.5 (NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 110.2, 110.4 (CH<sub>furano</sub>, CH<sub>benzoxazol</sub>), 119.7 (CH<sub>benzoxazol</sub>), 121.5 (C<sub>furano</sub>), 124.3, 124.9 (2CH<sub>benzoxazol</sub>), 141.1 (C<sub>benzoxazol</sub>), 142.9, 143.1 (2CH<sub>furano</sub>), 150.8 (C<sub>benzoxazol</sub>), 164.9 (CO, NC<sub>benzoxazol</sub>).

HRMS (ESI): Calculada para C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na [(M+Na)<sup>+</sup>]: 391.1992. Encontrada: 391.2081.

Tabla 15. Análisis elemental de los compuestos finales sólidos.

Comp.	Fórmula molecular	Calculado			Encontrado		
		C	H	N	C	H	N
5	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>6</sub>	58.25	6.19	4.50	58.24	6.06	4.70
6	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>6</sub>	58.25	6.19	4.50	58.12	6.20	4.54
7	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	64.50	7.58	5.01	64.76	7.22	5.11
14	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	74.09	7.11		74.01	7.07	
17	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>5</sub>	63.54	7.21	4.36	63.50	7.02	4.47
18	C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>5</sub>	68.91	6.57	3.65	67.00	6.37	3.59
20	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	66.42	6.62	4.84	66.37	6.46	4.91
21	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>	71.72	6.57		71.63	6.44	
22	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	66.65	7.24		66.58	7.05	
25	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	72.59	7.05		72.66	7.07	
26	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub>	55.51	5.38	4.98	55.72	5.74	4.85
27	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>6</sub>	60.52	6.87	4.15	60.91	6.75	4.32
28	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	79.60	6.79		79.59	6.80	
29	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	73.82	7.12	4.30	73.45	7.09	4.35
30	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	68.67	8.45	10.68	68.63	8.06	10.47
31	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	74.04	7.46	8.64	73.20	7.40	8.65
46	C <sub>20</sub> H <sub>29</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	64.66	7.87	18.85	64.49	7.66	18.39
47	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	68.08	8.16	15.12	68.42	8.49	15.18
48	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	71.51	8.46	11.37	71.29	8.01	11.35
49	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	71.51	8.46	11.37	71.40	8.22	11.18
52	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	71.32	8.16	7.56	71.35	8.03	7.30
53	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	71.32	8.16	7.56	71.15	7.91	7.61
54	C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	70.55	9.15	7.48	70.83	8.67	7.50
59	C <sub>26</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	74.43	7.93	10.02	74.19	7.83	10.00
61	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	75.75	8.48	7.36	75.45	8.21	7.41
62	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	74.15	9.74	7.52	74.44	9.21	7.43
72	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	70.15	7.65	8.18	70.06	7.30	7.78
73	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	68.77	7.05	8.91	68.88	6.68	8.50
74	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	66.16	5.92	10.29	66.58	5.80	10.20
75	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	65.11	5.46	10.85	65.96	5.30	10.30

Tabla 16. Análisis de pureza mediante HPLC-MS.

Comp.	Fórmula molecular	Tiempo de retención (min)	MS (ESI) ([M+H] <sup>+</sup> , m/z)
1	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	22.3	265.1
3	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	25.2	271.2
4	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>6</sub>	17.0	310.1
8	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	19.8	280.1
9	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	18.5	280.1
10	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	22.3	295.1
11	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	22.3	295.1
12	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	24.2	341.2
13	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	25.2	341.2
15	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	24.9	293.2
16	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	20.4	281.1
19	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> F <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	18.3	333.1
23	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> FO <sub>4</sub>	22.4	283.1
24	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	24.4	315.2
33	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	17.4	312.1
34	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	17.4	326.2
35	C <sub>24</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	19.6	396.3
36	C <sub>26</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	21.6	424.3
39	C <sub>24</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	29.1	396.2
40	C <sub>25</sub> H <sub>35</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	25.4	410.3
44	C <sub>21</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	23.0	372.2
50	C <sub>23</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	27.7	384.2
51	C <sub>22</sub> H <sub>35</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	23.0	374.3
55	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	26.5	387.2
56	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	23.8	382.2
57	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	23.2	382.2
58	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	23.5	382.2
60	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	28.7	421.2
63	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	24.6	319.2
65	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>4</sub>	24.9	372.2
66	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	26.2	371.2
80	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	20.3	357.2
81	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25.5	357.2
82	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	25.1	369.2
86	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	24.8	451.2

### 4.3. Ensayos de inhibición de la enzima ICMT

La determinación de la capacidad de los compuestos sintetizados para inhibir la actividad ICMT se realizó empleando como fuente de enzima membranas procedentes de células *Sf9* (ovario de *Spodoptera frugiperda*) que sobreexpresan ICMT, y como sustratos biotín-S-farnesilcisteína (BFC) y S-adenosilmetionina marcada con tritio ( $[^3\text{H}]\text{SAM}$ ). Tras preincubar la enzima con el compuesto objeto de estudio durante 20 minutos a 37 °C, se añaden los sustratos BFC y  $[^3\text{H}]\text{SAM}$  siendo las concentraciones finales 1 y 0.5  $\mu\text{M}$ , respectivamente. La mezcla se incuba durante durante 20 minutos a 37 °C. Pasado este tiempo, la reacción se termina con la adición de Tween 20 y mediante el posterior enriquecimiento con estreptavidina unida a un soporte sólido, se cuantifica la radiactividad por medio de espectrometría de centelleo líquido. El análisis de los datos obtenidos respecto al control positivo de ICMT obtenido en ausencia de inhibidor (100% de actividad) permite determinar la capacidad inhibitoria de los compuestos.<sup>98-100</sup>

### 4.4. Ensayos de estabilidad

- **Estabilidad en suero.**

A 900  $\mu\text{L}$  de suero humano (Sigma, S7023) o de ratón (Europa Bioproducts, EQSM-0100) previamente termostatzado a 37 °C se añaden 300  $\mu\text{L}$  de una disolución 2 mM del compuesto objeto de estudio en tampón fosfato (*phosphate buffered saline*, PBS) y la mezcla se incuba a 37 °C durante el tiempo de interés. Una vez transcurrido éste, 200  $\mu\text{L}$  de la mezcla se añaden sobre 200  $\mu\text{L}$  de acetonitrilo frío, se agita y se incuba durante 10 minutos en hielo para precipitar las proteínas. El sobrenadante se separa del precipitado por centrifugación a 39000g durante 10 minutos y se hace pasar a través de un filtro de teflón de tamaño de poro de 0.22  $\mu\text{m}$  (Albet Labscience). A continuación, 50  $\mu\text{L}$  del sobrenadante filtrado se analizan mediante HPLC-MS en un espectrómetro Agilent 1200LC-MSD VL, empleando una columna Eclipse XDB-C18 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm x 150 mm) junto con una precolumna (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm x 12.5 mm). La fase móvil empleada consiste en un gradiente de disoluciones A (agua:metanol 95:5) y B (agua:metanol 5:95) con un 0.1% de hidróxido amónico y 0.1% de ácido fórmico como aditivos. En todos los casos se ha usado un flujo constante de 0.5 mL/min, un tiempo total de 15 minutos y el siguiente gradiente: 0 min, 60% A; 1 min, 100% B; 1-14 min, 100% B; 15 min, 60% A. El análisis de EM se ha llevado a cabo utilizando la técnica de ionización ESI en modo positivo SIM. El voltaje del capilar fue de 3.0 kV y el voltaje del fragmentador de 70 eV. La temperatura del gas secante fue de 350 °C, el flujo de 10 L/min y la presión del nebulizador de 20 psi.

- **Estabilidad en microsomas.**

A 1185  $\mu\text{L}$  de PBS termostatzado a 37  $^{\circ}\text{C}$ , se añaden 150  $\mu\text{L}$  de una disolución 10 mM de NADPH (Aldrich, N7505) en PBS y 15  $\mu\text{L}$  de una disolución 1 mM del compuesto objeto de estudio en PBS y la mezcla se incuba durante cinco minutos a 37  $^{\circ}\text{C}$ . A continuación se añaden 150  $\mu\text{L}$  de una suspensión de microsomas humanos (Aldrich, M0567) o de ratón (Aldrich, M9441) a una concentración de 5 mg/mL y se incuba a 37  $^{\circ}\text{C}$  durante el tiempo de interés, siendo las concentraciones finales de compuesto, NADPH y microsomas en la mezcla de 10  $\mu\text{M}$ , 1 mM y 0.5 mg/mL, respectivamente. Una vez transcurrido éste, 250  $\mu\text{L}$  de la mezcla se añaden sobre 250  $\mu\text{L}$  de acetonitrilo frío, se agita y se incuba durante 10 minutos en hielo para precipitar las proteínas. El sobrenadante se separa del precipitado por centrifugación a 10000g durante 5 minutos y se hace pasar a través de un filtro de teflón de tamaño de poro de 0.22  $\mu\text{m}$  (Albet Labscience). A continuación, 50  $\mu\text{L}$  del sobrenadante filtrado se analizan mediante HPLC-MS de forma análoga a la descrita para el caso de ensayos de estabilidad en suero.



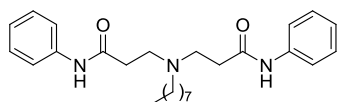
## **5. CONCLUSIONES**

---

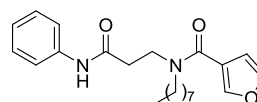


## 5. CONCLUSIONES

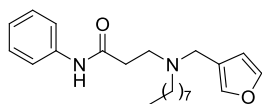
1. En el presente trabajo se han diseñado y sintetizado nuevos inhibidores de la enzima ICMT partiendo de dos aproximaciones paralelas: construcción de un modelo de farmacóforo y diseño basado en la estructura del inhibidor *cysmethynil*.
2. Se ha determinado la capacidad de todos los compuestos sintetizados para inhibir la actividad ICMT.
3. Para los compuestos óptimos obtenidos, se ha caracterizado experimentalmente su perfil farmacocinético mediante estudios *in vitro* de estabilidad en suero y frente a metabolismo hepático.
4. De todos los compuestos sintetizados, merecen especial atención los derivados **36**, **53**, **80**, **82** y **86**, los cuales muestran buenos parámetros farmacocinéticos e inhiben más de un 85% de la actividad ICMT a una concentración de 50  $\mu\text{M}$ . Por tanto, representan nuevos *leads* susceptibles de optimización, proceso que se encuentra actualmente en curso en nuestro laboratorio.



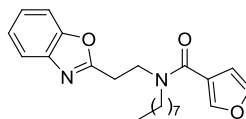
**36**, Inh. ICMT: 93%



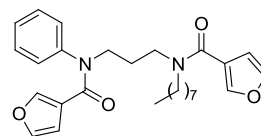
**53**, Inh. ICMT: 86%



**80**, Inh. ICMT: 85%



**82**, Inh. ICMT: 89%



**86**, Inh. ICMT: 92%



## 6. BIBLIOGRAFÍA

---



## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Hanahan, D.; Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **2011**, *144*, 646-74.
2. Coleman, M. L.; Marshall, C. J.; Olson, M. F. Ras and Rho GTPases in G1-phase cell-cycle regulation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2004**, *5*, 355-66.
3. Wright, L. P.; Philips, M. R. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. CAAX modification and membrane targeting of Ras. *J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 883-91.
4. Casey, P. J.; Seabra, M. C. Protein prenyltransferases. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 5289-92.
5. Lane, K. T.; Beese, L. S. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. Structural biology of protein farnesyltransferase and geranylgeranyltransferase type I. *J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 681-99.
6. Reid, T. S.; Terry, K. L.; Casey, P. J.; Beese, L. S. Crystallographic analysis of CAAX prenyltransferases complexed with substrates defines rules of protein substrate selectivity. *J. Mol. Biol.* **2004**, *343*, 417-33.
7. Roberts, P. J.; Mitin, N.; Keller, P. J.; Chenette, E. J.; Madigan, J. P.; Currin, R. O.; Cox, A. D.; Wilson, O.; Kirschmeier, P.; Der, C. J. Rho family GTPase modification and dependence on CAAX motif-signaled posttranslational modification. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 25150-63.
8. Schmidt, W. K.; Tam, A.; Fujimura-Kamada, K.; Michaelis, S. Endoplasmic reticulum membrane localization of Rce1p and Ste24p, yeast proteases involved in carboxyl-terminal CAAX protein processing and amino-terminal  $\alpha$ -factor cleavage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 11175-80.

9. Otto, J. C.; Kim, E.; Young, S. G.; Casey, P. J. Cloning and characterization of a mammalian prenyl protein-specific protease. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 8379-82.
10. Boyartchuk, V. L.; Ashby, M. N.; Rine, J. Modulation of Ras and a-factor function by carboxyl-terminal proteolysis. *Science* **1997**, *275*, 1796-800.
11. Ashby, M. N. CAAX converting enzymes. *Curr. Opin. Lipidol.* **1998**, *9*, 99-102.
12. Chelsky, D.; Ruskin, B.; Koshland, D. E., Jr. Methyl-esterified proteins in a mammalian cell line. *Biochemistry* **1985**, *24*, 6651-8.
13. Winter-Vann, A. M.; Casey, P. J. Post-prenylation-processing enzymes as new targets in oncogenesis. *Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 405-12.
14. Malumbres, M.; Barbacid, M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 459-65.
15. Wennerberg, K.; Rossman, K. L.; Der, C. J. The Ras superfamily at a glance. *J. Cell Sci.* **2005**, *118*, 843-6.
16. Vetter, I. R.; Wittinghofer, A. The guanine nucleotide-binding switch in three dimensions. *Science* **2001**, *294*, 1299-304.
17. Bernards, A.; Settleman, J. GAP control: regulating the regulators of small GTPases. *Trends Cell Biol.* **2004**, *14*, 377-85.
18. Schubbert, S.; Shannon, K.; Bollag, G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 295-308.
19. Roberts, P. J.; Der, C. J. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* **2007**, *26*, 3291-310.
20. Bos, J. L. Ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res.* **1989**, *49*, 4682-9.
21. Gschwind, A.; Fischer, O. M.; Ullrich, A. The discovery of receptor tyrosine kinases: targets for cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4*, 361-70.
22. Rodenhuis, S. Ras and human tumors. *Semin. Cancer Biol.* **1992**, *3*, 241-7.
23. Konstantinopoulos, P. A.; Karamouzis, M. V.; Papavassiliou, A. G. Post-translational modifications and regulation of the Ras superfamily of GTPases as anticancer targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6*, 541-55.
24. Shields, J. M.; Pruitt, K.; McFall, A.; Shaub, A.; Der, C. J. Understanding Ras: 'it ain't over 'til it's over'. *Trends Cell Biol.* **2000**, *10*, 147-54.

25. Walker, K.; Olson, M. F. Targeting Ras and Rho GTPases as opportunities for cancer therapeutics. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2005**, *15*, 62-8.
26. Gelb, M. H.; Brunsveld, L.; Hrycyna, C. A.; Michaelis, S.; Tamanoi, F.; Van Voorhis, W. C.; Waldmann, H. Therapeutic intervention based on protein prenylation and associated modifications. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 518-28.
27. Downward, J. Targeting Ras signalling pathways in cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 11-22.
28. Reiss, Y.; Goldstein, J. L.; Seabra, M. C.; Casey, P. J.; Brown, M. S. Inhibition of purified p21ras farnesyl protein transferase by Cys-AAX tetrapeptides. *Cell* **1990**, *62*, 81-8.
29. Reiss, Y.; Seabra, M. C.; Armstrong, S. A.; Slaughter, C. A.; Goldstein, J. L.; Brown, M. S. Nonidentical subunits of p21H-ras farnesyltransferase. Peptide binding and farnesyl pyrophosphate carrier functions. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 10672-7.
30. Seabra, M. C.; Reiss, Y.; Casey, P. J.; Brown, M. S.; Goldstein, J. L. Protein farnesyltransferase and geranylgeranyltransferase share a common alpha subunit. *Cell* **1991**, *65*, 429-34.
31. Basso, A. D.; Kirschmeier, P.; Bishop, W. R. Lipid posttranslational modifications. Farnesyltransferase inhibitors. *J. Lipid. Res.* **2006**, *47*, 15-31.
32. Karp, J. E.; Kaufmann, S. H.; Adjei, A. A.; Lancet, J. E.; Wright, J. J.; End, D. W. Current status of clinical trials of farnesyltransferase inhibitors. *Curr. Opin. Oncol.* **2001**, *13*, 470-6.
33. Doll, R. J.; Kirschmeier, P.; Bishop, W. R. Farnesyltransferase inhibitors as anticancer agents: critical crossroads. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* **2004**, *7*, 478-86.
34. Mazieres, J.; Pradines, A.; Favre, G. Perspectives on farnesyltransferase inhibitors in cancer therapy. *Cancer Lett.* **2004**, *206*, 159-67.
35. Whyte, D. B.; Kirschmeier, P.; Hockenberry, T. N.; Nunez-Oliva, I.; James, L.; Catino, J. J.; Bishop, W. R.; Pai, J. K. K- and N-Ras are geranylgeranylated in cells treated with farnesyl protein transferase inhibitors. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 14459-64.
36. Lancet, J. E.; Karp, J. E. Farnesyltransferase inhibitors in myeloid disorders. *Oncology (Williston Park)* **2005**, *19*, 1043-9; discussion 1049-50, 1053-4.
37. Sousa, S. F.; Fernandes, P. A.; Ramos, M. J. Farnesyltransferase inhibitors: a detailed chemical view on an elusive biological problem. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 1478-92.

38. Capell, B. C.; Olive, M.; Erdos, M. R.; Cao, K.; Faddah, D. A.; Tavarez, U. L.; Conneely, K. N.; Qu, X.; San, H.; Ganesh, S. K.; Chen, X.; Avallone, H.; Kolodgie, F. D.; Virmani, R.; Nabel, E. G.; Collins, F. S. A farnesyltransferase inhibitor prevents both the onset and late progression of cardiovascular disease in a progeria mouse model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 15902-7.
39. Fong, L. G.; Frost, D.; Meta, M.; Qiao, X.; Yang, S. H.; Coffinier, C.; Young, S. G. A protein farnesyltransferase inhibitor ameliorates disease in a mouse model of progeria. *Science* **2006**, *311*, 1621-3.
40. Mallampalli, M. P.; Huyer, G.; Bendale, P.; Gelb, M. H.; Michaelis, S. Inhibiting farnesylation reverses the nuclear morphology defect in a HeLa cell model for Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 14416-21.
41. Meta, M.; Yang, S. H.; Bergo, M. O.; Fong, L. G.; Young, S. G. Protein farnesyltransferase inhibitors and progeria. *Trends Mol. Med.* **2006**, *12*, 480-7.
42. Falsetti, S. C.; Wang, D. A.; Peng, H.; Carrico, D.; Cox, A. D.; Der, C. J.; Hamilton, A. D.; Sebti, S. M. Geranylgeranyltransferase I inhibitors target RalB to inhibit anchorage-dependent growth and induce apoptosis and RalA to inhibit anchorage-independent growth. *Mol. Cell Biol.* **2007**, *27*, 8003-14.
43. Peterson, Y. K.; Kelly, P.; Weinbaum, C. A.; Casey, P. J. A novel protein geranylgeranyltransferase-I inhibitor with high potency, selectivity, and cellular activity. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 12445-50.
44. Vasudevan, A.; Qian, Y.; Vogt, A.; Blaskovich, M. A.; Ohkanda, J.; Sebti, S. M.; Hamilton, A. D. Potent, highly selective, and non-thiol inhibitors of protein geranylgeranyltransferase-I. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1333-40.
45. Watanabe, M.; Fiji, H. D.; Guo, L.; Chan, L.; Kinderman, S. S.; Slamon, D. J.; Kwon, O.; Tamanoi, F. Inhibitors of protein geranylgeranyltransferase I and Rab geranylgeranyltransferase identified from a library of allenoate-derived compounds. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 9571-9.
46. Kazi, A.; Carie, A.; Blaskovich, M. A.; Bucher, C.; Thai, V.; Moulder, S.; Peng, H.; Carrico, D.; Pusateri, E.; Pledger, W. J.; Berndt, N.; Hamilton, A.; Sebti, S. M. Blockade of protein geranylgeranylation inhibits Cdk2-dependent p27Kip1 phosphorylation on Thr187 and accumulates p27Kip1 in the nucleus: implications for breast cancer therapy. *Mol. Cell Biol.* **2009**, *29*, 2254-63.

47. Lobell, R. B.; Omer, C. A.; Abrams, M. T.; Bhimnathwala, H. G.; Brucker, M. J.; Buser, C. A.; Davide, J. P.; deSolms, S. J.; Dinsmore, C. J.; Ellis-Hutchings, M. S.; Kral, A. M.; Liu, D.; Lumma, W. C.; Machotka, S. V.; Rands, E.; Williams, T. M.; Graham, S. L.; Hartman, G. D.; Oliff, A. I.; Heimbrook, D. C.; Kohl, N. E. Evaluation of farnesyl:protein transferase and geranylgeranyl:protein transferase inhibitor combinations in preclinical models. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 8758-68.
48. Li, X.; Liu, L.; Tupper, J. C.; Bannerman, D. D.; Winn, R. K.; Sebti, S. M.; Hamilton, A. D.; Harlan, J. M. Inhibition of protein geranylgeranylation and RhoA/RhoA kinase pathway induces apoptosis in human endothelial cells. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 15309-16.
49. Dan, H. C.; Jiang, K.; Coppola, D.; Hamilton, A.; Nicosia, S. V.; Sebti, S. M.; Cheng, J. Q. Phosphatidylinositol-3-OH kinase/AKT and survivin pathways as critical targets for geranylgeranyltransferase I inhibitor-induced apoptosis. *Oncogene* **2004**, *23*, 706-15.
50. Sjogren, A. K.; Andersson, K. M.; Liu, M.; Cutts, B. A.; Karlsson, C.; Wahlstrom, A. M.; Dalin, M.; Weinbaum, C.; Casey, P. J.; Tarkowski, A.; Swolin, B.; Young, S. G.; Bergo, M. O. GGTase-I deficiency reduces tumor formation and improves survival in mice with K-Ras-induced lung cancer. *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 1294-304.
51. Kim, E.; Ambroziak, P.; Otto, J. C.; Taylor, B.; Ashby, M.; Shannon, K.; Casey, P. J.; Young, S. G. Disruption of the mouse Rce1 gene results in defective Ras processing and mislocalization of Ras within cells. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 8383-90.
52. Bergo, M. O.; Leung, G. K.; Ambroziak, P.; Otto, J. C.; Casey, P. J.; Gomes, A. Q.; Seabra, M. C.; Young, S. G. Isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase deficiency in mice. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 5841-5.
53. Kato, K.; Cox, A. D.; Hisaka, M. M.; Graham, S. M.; Buss, J. E.; Der, C. J. Isoprenoid addition to Ras protein is the critical modification for its membrane association and transforming activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 6403-7.
54. Michaelson, D.; Ali, W.; Chiu, V. K.; Bergo, M.; Silletti, J.; Wright, L.; Young, S. G.; Philips, M. Postprenylation CAAX processing is required for proper localization of Ras but not Rho GTPases. *Mol. Biol. Cell* **2005**, *16*, 1606-16.
55. Clarke, S.; Tamanoi, F. Fighting cancer by disrupting C-terminal methylation of signaling proteins. *J. Clin. Invest.* **2004**, *113*, 513-5.
56. Philips, M. R. Methotrexate and Ras methylation: a new trick for an old drug? *Sci. STKE* **2004**, *2004*, pe13.

57. Chen, Y.; Ma, Y. T.; Rando, R. R. Solubilization, partial purification, and affinity labeling of the membrane-bound isoprenylated protein endoprotease. *Biochemistry* **1996**, *35*, 3227-37.
58. Dolence, J. M.; Steward, L. E.; Dolence, E. K.; Wong, D. H.; Poulter, C. D. Studies with recombinant *Saccharomyces cerevisiae* CAAX prenyl protease Rce1p. *Biochemistry* **2000**, *39*, 4096-104.
59. Hollander, I.; Frommer, E.; Mallon, R. Human Ras-converting enzyme (hRce1) endoproteolytic activity on K-Ras-derived peptides. *Anal. Biochem.* **2000**, *286*, 129-37.
60. Yulong, C. Inhibition of K-Ras-transformed rodent and human cancer cell growth via induction of apoptosis by irreversible inhibitors of ras endoprotease. *Cancer Lett.* **1998**, *131*, 191-200.
61. Craig, K. S.; Williams, D. E.; Hollander, I.; Frommer, E.; Mallon, R.; Collins, K.; Wojciechowicz, D.; Tahir, A.; Van Soest, R.; Andersen, R. J. Novel sesterterpenoid and norsesterterpenoid RCE-protease inhibitors isolated from the marine sponge *Hippospongia* sp. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4801-4804.
62. Williams, D. E.; Hollander, I.; Feldberg, L.; Frommer, E.; Mallon, R.; Tahir, A.; van Soest, R.; Andersen, R. J. Scalarane-based sesterterpenoid RCE-protease inhibitors isolated from the Indonesian marine sponge *Carteriospongia foliascens*. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1106-9.
63. Manandhar, S. P.; Hildebrandt, E. R.; Schmidt, W. K. Small-molecule inhibitors of the Rce1p CAAX protease. *J. Biomol. Screen.* **2007**, *12*, 983-93.
64. Shoichet, B. K. Interpreting steep dose-response curves in early inhibitor discovery. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 7274-7.
65. Shi, Y. Q.; Rando, R. R. Kinetic mechanism of isoprenylated protein methyltransferase. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 9547-51.
66. Kramer, K.; Harrington, E. O.; Lu, Q.; Bellas, R.; Newton, J.; Sheahan, K. L.; Rounds, S. Isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase activity modulates endothelial cell apoptosis. *Mol. Biol. Cell* **2003**, *14*, 848-57.
67. Wnuk, S. F.; Yuan, C. S.; Borchardt, R. T.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Robins, M. J. Anticancer and antiviral effects and inactivation of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase with 5'-carboxaldehydes and oximes synthesized from adenosine and sugar-modified analogues. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1608-18.

68. Winter-Vann, A. M.; Kamen, B. A.; Bergo, M. O.; Young, S. G.; Melnyk, S.; James, S. J.; Casey, P. J. Targeting Ras signaling through inhibition of carboxyl methylation: an unexpected property of methotrexate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 6529-34.
69. Chiang, P. K.; Gordon, R. K.; Tal, J.; Zeng, G. C.; Doctor, B. P.; Pardhasaradhi, K.; McCann, P. P. S-Adenosylmethionine and methylation. *FASEB J.* **1996**, *10*, 471-80.
70. Donelson, J. L.; Hodges-Loaiza, H. B.; Henriksen, B. S.; Hrycyna, C. A.; Gibbs, R. A. Solid-phase synthesis of prenylcysteine analogs. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2975-81.
71. Majmudar, J. D.; Hahne, K.; Hrycyna, C. A.; Gibbs, R. A. Probing the isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase (ICMT) binding pocket: sulfonamide modified farnesyl cysteine (SMFC) analogs as ICMT inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 2616-20.
72. Bergman, J. A.; Hahne, K.; Hrycyna, C. A.; Gibbs, R. A. Lipid and sulfur substituted prenylcysteine analogs as human ICMT inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 5616-9.
73. Bergman, J. A.; Hahne, K.; Song, J.; Hrycyna, C. A.; Gibbs, R. A. S-Farnesylthiopropionic acid triazoles as potent inhibitors of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *3*, 15-9.
74. Majmudar, J. D.; Hodges-Loaiza, H. B.; Hahne, K.; Donelson, J. L.; Song, J.; Shrestha, L.; Harrison, M. L.; Hrycyna, C. A.; Gibbs, R. A. Amide-modified prenylcysteine based ICMT inhibitors: structure–activity relationships, kinetic analysis and cellular characterization. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 283-95.
75. Ma, Y. T.; Shi, Y. Q.; Lim, Y. H.; McGrail, S. H.; Ware, J. A.; Rando, R. R. Mechanistic studies on human platelet isoprenylated protein methyltransferase: farnesylcysteine analogs block platelet aggregation without inhibiting the methyltransferase. *Biochemistry* **1994**, *33*, 5414-20.
76. Buchanan, M. S.; Carroll, A. R.; Fechner, G. A.; Boyle, A.; Simpson, M. M.; Addepalli, R.; Avery, V. M.; Hooper, J. N.; Su, N.; Chen, H.; Quinn, R. J. Spermatinamine, the first natural product inhibitor of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase, a new cancer target. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6860-3.
77. Buchanan, M. S.; Carroll, A. R.; Fechner, G. A.; Boyle, A.; Simpson, M.; Addepalli, R.; Avery, V. M.; Hooper, J. N.; Cheung, T.; Chen, H.; Quinn, R. J. Aplysamine 6, an alkaloidal inhibitor of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase from the sponge *Pseudoceratina* sp. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1066-7.

78. Buchanan, M. S.; Carroll, A. R.; Fechner, G. A.; Boyle, A.; Simpson, M.; Addepalli, R.; Avery, V. M.; Forster, P. I.; Guymer, G. P.; Cheung, T.; Chen, H.; Quinn, R. J. Small-molecule inhibitors of the cancer target, isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase, from *Hovea parvicalyx*. *Phytochemistry* **2008**, *69*, 1886-9.
79. Winter-Vann, A. M.; Baron, R. A.; Wong, W.; dela Cruz, J.; York, J. D.; Gooden, D. M.; Bergo, M. O.; Young, S. G.; Toone, E. J.; Casey, P. J. A small-molecule inhibitor of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase with antitumor activity in cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 4336-41.
80. Casey, P. J.; Baron, R. A.; Winter-Vann, A. M. Indole derivative inhibitors of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase, and their therapeutic use. WO2006102126A2, **2006**.
81. Baron, R. A.; Peterson, Y. K.; Otto, J. C.; Rudolph, J.; Casey, P. J. Time-dependent inhibition of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase by indole-based small molecules. *Biochemistry* **2007**, *46*, 554-60.
82. Wang, M.; Tan, W.; Zhou, J.; Leow, J.; Go, M.; Lee, H. S.; Casey, P. J. A small molecule inhibitor of isoprenylcysteine carboxymethyltransferase induces autophagic cell death in PC3 prostate cancer cells. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 18678-84.
83. Go, M. L.; Leow, J. L.; Gorla, S. K.; Schuller, A. P.; Wang, M.; Casey, P. J. Amino derivatives of indole as potent inhibitors of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6838-50.
84. Leow, J. L.; Casey, M.-W.; Casey, P. J.; Go, M. L.; Suresh, K. G. Indole derivatives as small molecule inhibitors of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the potential treatment of cancer. WO2011014128A1, **2011**.
85. Judd, W. R.; Slattum, P. M.; Hoang, K. C.; Bhoite, L.; Valppu, L.; Alberts, G.; Brown, B.; Roth, B.; Ostanin, K.; Huang, L.; Wettstein, D.; Richards, B.; Willardsen, J. A. Discovery and SAR of methylated tetrahydropyranyl derivatives as inhibitors of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase (ICMT). *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5031-47.
86. Bergo, M. O.; Wahlstrom, A. M.; Fong, L. G.; Young, S. G. Genetic analyses of the role of Rce1 in Ras membrane association and transformation. *Methods Enzymol.* **2008**, *438*, 367-89.
87. Bergo, M. O.; Lieu, H. D.; Gavino, B. J.; Ambroziak, P.; Otto, J. C.; Casey, P. J.; Walker, Q. M.; Young, S. G. On the physiological importance of endoproteolysis of CAAX proteins: heart-specific Rce1 knockout mice develop a lethal cardiomyopathy. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 4729-36.

88. Wahlstrom, A. M.; Cutts, B. A.; Karlsson, C.; Andersson, K. M.; Liu, M.; Sjogren, A. K.; Swolin, B.; Young, S. G.; Bergo, M. O. Rce1 deficiency accelerates the development of K-Ras-induced myeloproliferative disease. *Blood* **2007**, *109*, 763-8.
89. Wahlstrom, A. M.; Cutts, B. A.; Liu, M.; Lindskog, A.; Karlsson, C.; Sjogren, A. K.; Andersson, K. M.; Young, S. G.; Bergo, M. O. Inactivating ICMT ameliorates K-Ras-induced myeloproliferative disease. *Blood* **2008**, *112*, 1357-65.
90. Dai, Q.; Choy, E.; Chiu, V.; Romano, J.; Slivka, S. R.; Steitz, S. A.; Michaelis, S.; Phillips, M. R. Mammalian prenylcysteine carboxyl methyltransferase is in the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 15030-4.
91. Yang, J.; Kulkarni, K.; Manolaridis, I.; Zhang, Z.; Dodd, R. B.; Mas-Droux, C.; Barford, D. Mechanism of isoprenylcysteine carboxyl methylation from the crystal structure of the integral membrane methyltransferase ICMT. *Mol. Cell* **2011**, *44*, 997-1004.
92. Accelrys Software Inc., Discovery Studio Modeling Environment, Release 3.5, San Diego: Accelrys Software Inc. **2012**.
93. <http://cactus.nci.nih.gov/ncidb2.1/>
94. Hann, M. M.; Keseru, G. M. Finding the sweet spot: the role of nature and nurture in medicinal chemistry. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2012**, *11*, 355-65.
95. Ekins, S. Predicting undesirable drug interactions with promiscuous proteins in silico. *Drug Discov. Today* **2004**, *9*, 276-85.
96. Ertl, P.; Rohde, B.; Selzer, P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3714-7.
97. Rajput, L.; Singha, S.; Biradha, K. Comparative structural studies on homologues of amides and reverse amides: unprecedented 4-fold interpenetrated quartz network, new  $\beta$ -sheet, and two-dimensional layers. *Crys. Growth Des.* **2007**, *7*, 2788-95.
98. López-Rodríguez, M. L.; Ortega-Gutiérrez, S.; Martín-Fontecha, M.; Balabasquer, M.; Ortega, F. J. Nuevos inhibidores de la enzima isoprenilcisteína carboximetiltransferasa (ICMT) con potencial antitumoral. P201330129, **2013**.
99. Balabasquer, M.; Cushman, I.; Torrecillas, I. R.; Campillo, M.; Pardo, L.; Casey, P. J.; Martín-Fontecha, M.; Ortega-Gutiérrez, S.; López-Rodríguez, M. L. Design and synthesis of new inhibitors of the enzyme isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase. *J. Med. Chem.*, en preparación.

100. Balabasquer, M.; Cushman, I.; Torrecillas, I. R.; Ortega, F. J.; Campillo, M.; Pardo, L.; Casey, P. J.; Martín-Fontecha, M.; Ortega-Gutiérrez, S.; López-Rodríguez, M. L. Development of new inhibitors of the enzyme isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase. *J. Med. Chem.*, en preparación.
101. Botta, C. B.; Cabri, W.; Cini, E.; De Cesare, L.; Fattorusso, C.; Giannini, G.; Persico, M.; Petrella, A.; Rondinelli, F.; Rodriguez, M.; Russo, A.; Taddei, M. Oxime amides as a novel zinc binding group in histone deacetylase inhibitors: synthesis, biological activity, and computational evaluation. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2165-82.
102. Cvetovich, R. J.; DiMichele, L. Formation of acrylanilides, acrylamides, and amides directly from carboxylic acids using thionyl chloride in dimethylacetamide in the absence of bases. *Org. Process Res. Dev.* **2006**, *10*, 944-6.
103. Honigberg, I.; Hartung, W. Notes- Adducts with *N*-substituted acrylamides. *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 1822-24.
104. Pasquinucci, L.; Prezzavento, O.; Marrazzo, A.; Amata, E.; Ronsisvalle, S.; Georgoussi, Z.; Fourla, D. D.; Scoto, G. M.; Parenti, C.; Arico, G.; Ronsisvalle, G. Evaluation of *N*-substitution in 6,7-benzomorphan compounds. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4975-82.
105. Xie, H.; Ng, D.; Savinov, S. N.; Dey, B.; Kwong, P. D.; Wyatt, R.; Smith, A. B., 3rd; Hendrickson, W. A. Structure-activity relationships in the binding of chemically derivatized CD4 to gp120 from human immunodeficiency virus. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4898-908.
106. Alanine, A. I. D.; Fishwick, C. W. G.; Szantay Jr, C. Facile preparation of 2-imino tetrahydrofurans, pyrans and oxepans. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 6571-6572.
107. Lu, P.; Sanchez, C.; Cornella, J.; Larrosa, I. Silver-catalyzed protodecarboxylation of heteroaromatic carboxylic acids. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5710-3.
108. Park, C. M.; Kim, S. Y.; Park, W. K.; Park, N. S.; Seong, C. M. Synthesis and structure-activity relationship of 1*H*-indole-3-carboxylic acid pyridine-3-ylamides: a novel series of 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 3844-7.
109. Beak, P.; Kerrick, S. T.; Wu, S.; Chu, J. Complex induced proximity effects: enantioselective syntheses based on asymmetric deprotonations of *N*-Boc-pyrrolidines. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3231-9.

- 
110. Bettayeb, B.; Descôteaux, C.; Benoit, F.; Chapados, C.; Bérubé, G. Pure *N*-Alkylaminopropionic acid and *N*-alkylaminodipropionic acid sodium salts: synthesis, characterization, and physicochemical properties *J. Surf. & Detergents* **2009**, *12*, 237-47.
  111. Eriksson, S. O.; Meresaar, U. Hydrolysis of anilides. X. Kinetics and mechanisms for acid and alkaline hydrolysis of aminoacylanilides and ammonioacylanilide cations. *Acta. Chem. Scand.* **1971**, *25*, 2697-710.
  112. Orelli, L. R.; Garcia, M. B.; Niemez, F.; Perillo, I. A. Selective monoformylation of 1,3-diaminopropane derivatives. *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 1819-33.



**SUMMARY**

---



## 1. INTRODUCTION

Ras protein is a central component in many signal transduction pathways. Proper control of its activation/deactivation is critical for the regulation of the cell cycle,<sup>1</sup> and activating mutations in Ras have been found in almost 30% of all cancers.<sup>2</sup>

Its carboxyl terminal region contains the CAAX box motif, where C is cysteine, A is an aliphatic residue and X is one of several different amino acids. Its post-translational modification involves attachment of a farnesyl or geranylgeranyl group to the CAAX cysteine by either farnesyltransferase (FTase) or geranylgeranyltransferase type I (GGTase I), respectively. This prenylation step is followed by proteolytic removal of the AAX residues by the endoprotease Ras converting enzyme 1 (Rce1) and final methylation of the newly exposed prenylcysteine by the enzyme isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase (ICMT).<sup>3</sup>

It has been demonstrated that in absence of any of its post-translational modifications Ras loses its ability to induce tumor transformation. For this reason, the enzymes involved in the post-translational modification of Ras have received considerable attention as targets in drug discovery programs.<sup>4</sup>

Thus, although FTase has been the focus of several pharma projects, its inhibitors failed to demonstrate convincing activity in clinical trials, probably due to the alternative prenylation by GGTase I.<sup>5</sup> Therefore, more recent efforts have been focused on targeting the post-prenylation enzymes such as Rce1 and ICMT.<sup>6</sup>

---

<sup>1</sup> Coleman, M. L. *et al. Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2004**, *5*, 355.

<sup>2</sup> Schubbert, S. *et al. Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 295.

<sup>3</sup> Wright, L. P. *et al. J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 883.

<sup>4</sup> (a) Winter-Vann, A. M. *et al. Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 405. (b) Konstantinopoulos, P. *et al. Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6*, 541.

<sup>5</sup> Whyte, D. B. *et al. J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 14459.

<sup>6</sup> Winter-Vann, A. M. *et al. Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 405.

In the search of ICMT inhibitors, early studies already identified substrate analogues like prenylcysteine or product analogues such as S-adenosylhomocysteine. However, none of these compounds is suitable for use as a drug due to their pleiotropic actions. Therefore, the characterization of the first ICMT synthetic inhibitor structurally new, named cysmethynil, represented a significant step forward in the validation of ICMT.<sup>7</sup>

These findings provide a compelling rationale for the development of ICMT inhibitors as a promising approach to anticancer drug development. However, the homology of ICMT with other known methyltransferases is quite low and only very recently the tridimensional structure of a prokaryotic ICMT ortholog has been disclosed.<sup>8</sup>

## 2. OBJECTIVES

The main objective of this work is to identify inhibitors of the ICMT enzyme that enable its validation as a valuable therapeutic target for the treatment of several types of cancer.

The achievement of this goal involves the following steps:

1. Design of new inhibitors: elaboration of a pharmacophore model and design based on the structure of cysmethynil.
2. Synthesis of the designed compounds and determination of their ability to inhibit ICMT activity.
3. Hit to lead process.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. Design of inhibitors based on a pharmacophore model

To unravel the structural requirements involved in the inhibition of the ICMT enzyme we have built a 3D pharmacophore model using the Catalyst software and a set of 52 structurally diverse described ICMT inhibitors (Table S1, page S3).

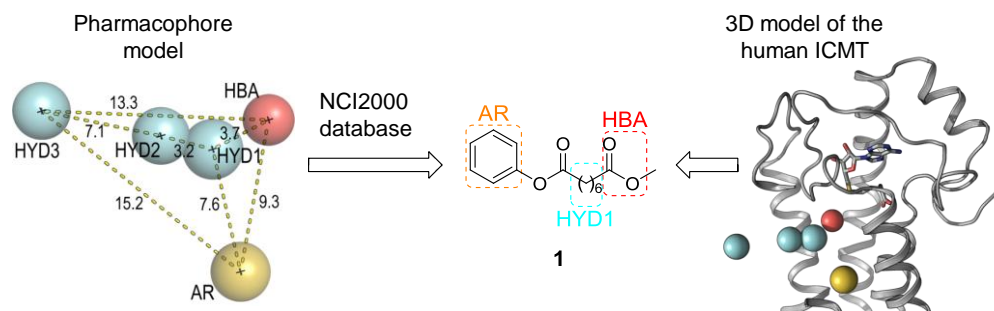
The best output hypothesis (Figure 1), with three hydrophobic regions (HYD), an aromatic-ring hydrophobic site (AR) and a hydrogen bond acceptor group (HBA), presents good statistical values that indicate >90% chance of obtaining a predictive hypothesis. The pharmacophore hypothesis was used as a 3D query to search the chemical database NCI2000 and new compounds with predicted pharmacophoric features were retrieved from the database.

---

<sup>7</sup> Winter-Vann, A. M. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 4336.

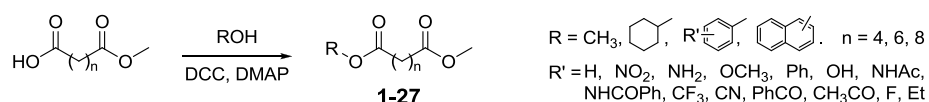
<sup>8</sup> Yang, J. *et al. Mol. Cell* **2011**, *44*, 997.

On the basis of these results and a model of the human ICMT (Figure 1) generated from the recently released crystal structure of a prokaryotic ICMT ortholog,<sup>8</sup> compound **1** was designed. Taking into account that hydrophobic region HYD3 is located outside the protein (see Figure 1) and that the HYD2/3 zones are not occupied in some of the previously reported inhibitors, we decided not to consider the HYD2/3 zones in our initial design. In addition, in the case that the occupancy of the HYD2/3 regions is not strictly required for ICMT inhibition, the resulting compounds could have a lower lipophilicity (quantified by the calculated partition coefficient for n-octanol/water, cLogP) and, accordingly, better pharmacokinetic properties.

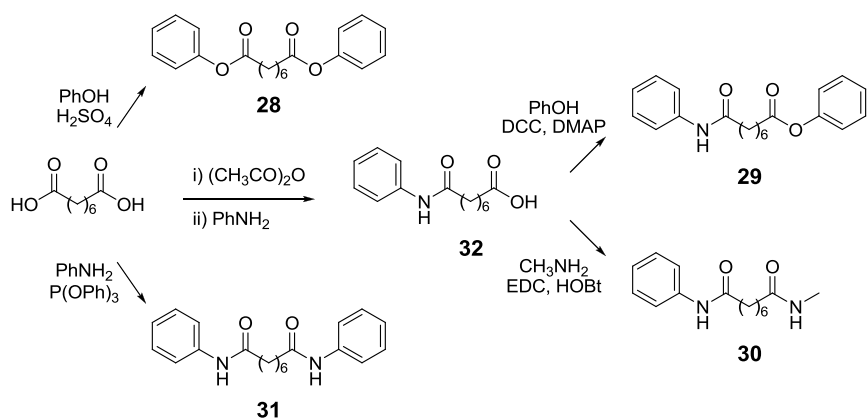


**Figure 1.** Design of compound **1**.

Compound **1** was synthesized (Scheme 1) and screened for its capacity to inhibit ICMT activity. The obtained results indicated that this compound was indeed able to block ICMT activity, albeit with moderate potency (30% inhibition of the ICMT activity at 50  $\mu$ M). Therefore, it was selected for carrying out an in-depth structure-activity relationship (SAR) study in which the aromatic (AR), spacer (HYD1) and HBA regions were systematically modified (compound **2-31**, Schemes 1 and 2).



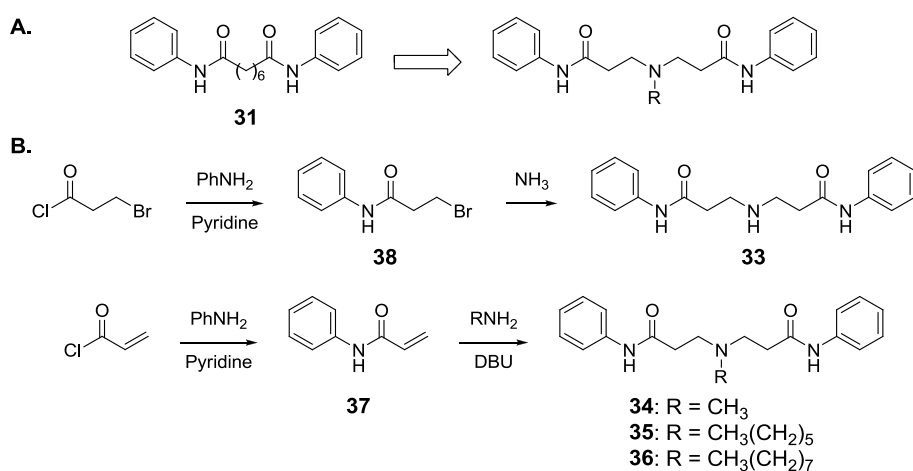
**Scheme 1.** General synthesis of compounds **1-27**.



**Scheme 2.** Synthesis of compounds **28-31**.

Unfortunately, none of these modifications led to significant improvements of the inhibitory potency of the compounds.

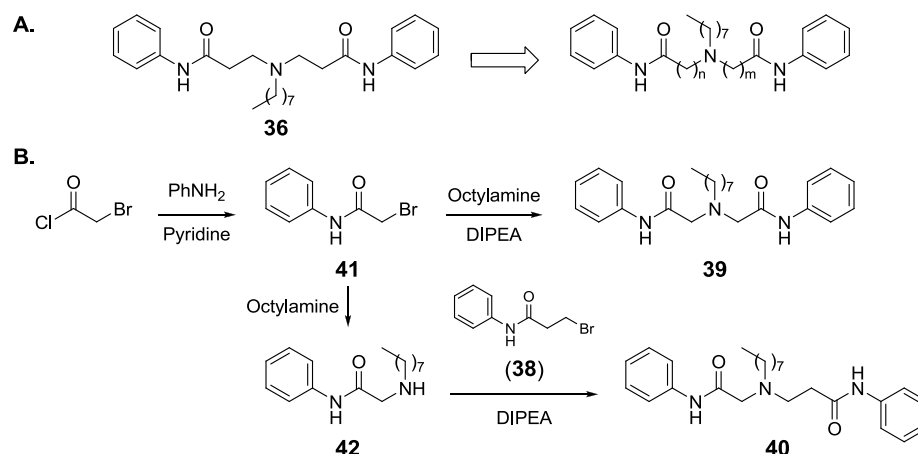
These findings suggested that this type of scaffold was very difficult to optimize. Therefore, we decided to modify the initial designed structure so that it was possible to incorporate another hydrophobic group that led to a better fit with the pharmacophore model at HYD2/3 regions, which has not been considered in the initial design of the compounds. With this idea in mind, amide **31** was selected as base structure leading to the design of a new series of compounds in which a nitrogen atom suitable for alkylation was introduced in the spacer (Scheme 3).



**Scheme 3.** Design (**A**) and synthesis (**B**) of compounds **33-36**.

The obtained results regarding the capacity of amides **33-36** to inhibit ICMT activity clearly underscore the need of a long hydrophobic chain attached to the nitrogen atom, as indicate the 0% inhibition shown by derivative **34** and the excellent 93% inhibition at 50  $\mu\text{M}$  concentration exhibited by compound **36**.

Next, we varied the length of the spacer in the optimum compound **36** shortening the number of methylenic units between the tertiary nitrogen and the carbonyl groups in compounds **39** and **40** (Scheme 4). This modification brought about a significant decrease in activity, with inhibition values of 62% and 68%, respectively.



**Scheme 4.** Design (A) and synthesis (B) of compounds **39** and **40**.

Considering that derivative **36** is able to block almost completely the ICMT activity at 50  $\mu\text{M}$ , we studied its pharmacokinetic profile carrying out *in vitro* serum and microsomal stability assays from human and mouse samples. The obtained half-lives ( $t_{1/2}$ ) showed that compound **36** has moderate stability in serum and microsomes with  $t_{1/2}$  values between 5 and 27 minutes.

Taken together, these data indicate that derivative **36** deserves special attention as a structurally new inhibitor of the ICMT enzyme.<sup>9,10</sup>

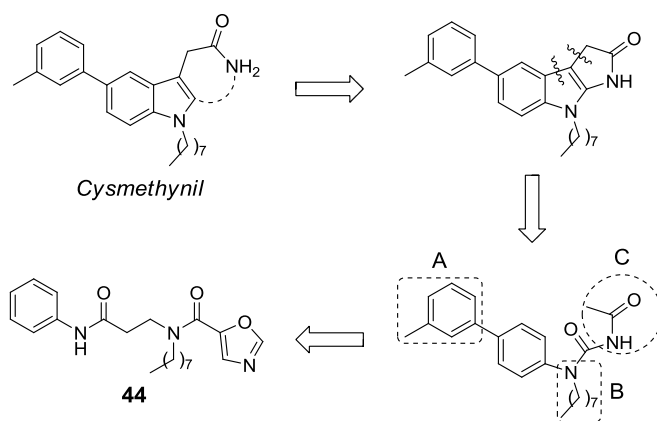
<sup>9</sup> López-Rodríguez, M. L. *et al.* P201330129, **2013**.

<sup>10</sup> Balabasquer, M. *et al.* *J. Med. Chem.*, in preparation.

### 3.2. Design of new inhibitors based on the structure of cysmethynil

In parallel, the design of new inhibitors of the ICMT enzyme was addressed using the structure of the synthetic inhibitor cysmethynil as the starting point.

Accordingly, we designed compound **44** wherein the benzene ring and the alkyl chain were kept (A and B moieties) and connected by an amide spacer. The acetamide moiety (C) was mimicked by an oxazole ring (Figure 2).

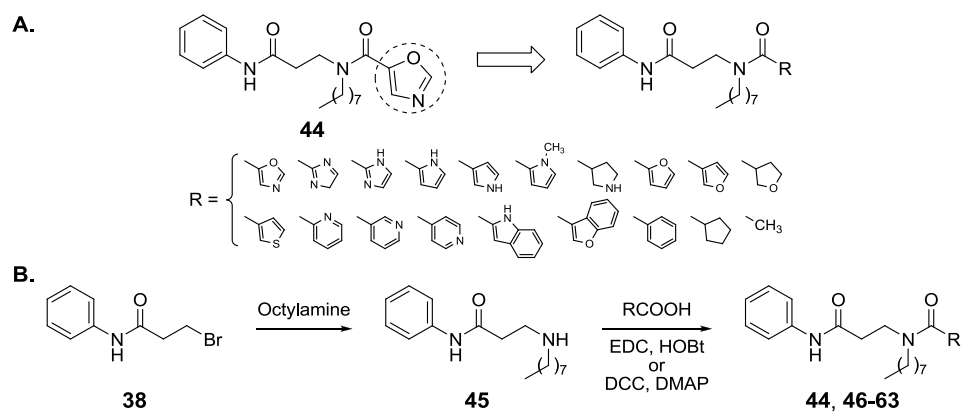


**Figure 2.** Design of compound **44**.

Compound **44** was synthesized (Scheme 5B) and measured for its ability to block the 56% of the ICMT activity at 50  $\mu\text{M}$ . This fact, along with its improved cLogP value compared to cysmethynil (3.98 vs 7.00, respectively), makes it a new hit susceptible of optimization.

Firstly, the oxazole ring was replaced by different heterocyclic subunits (compounds **46-60**) with the objective of optimizing this moiety of the molecule. Previously to the synthesis, it was confirmed that these new derivatives kept their cLogP values in the same range that compound **44**.

To establish the requirement of a heterocyclic subunit, the oxazole ring was replaced by a phenyl, cyclopentyl or methyl moieties in the compounds **61-63**, respectively.

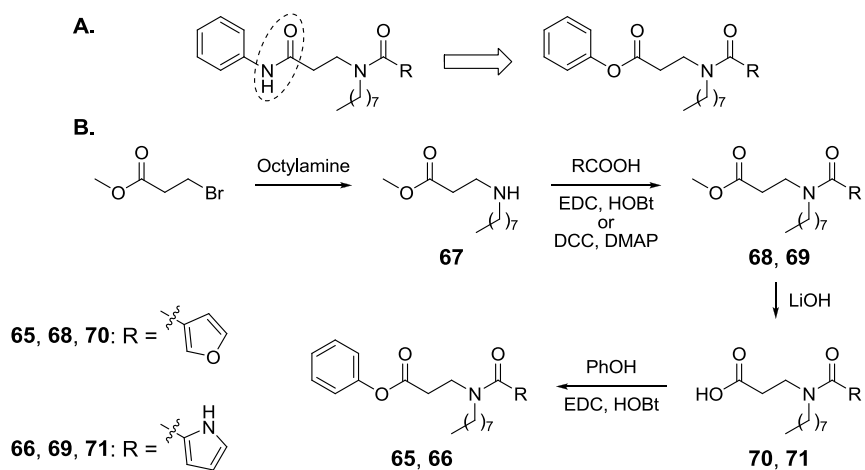


**Scheme 5.** Design of compounds **46-63** (A) and general synthesis of compounds **44** and **46-63** (B).

The determination of the ability of these compounds to inhibit ICMT activity indicated that the optimal heterocyclic rings were 1*H*-pyrrole (derivatives **48** and **49**, with 79% and 81% inhibition, respectively) and 3-furyl (compound **53**, 86%) moieties.

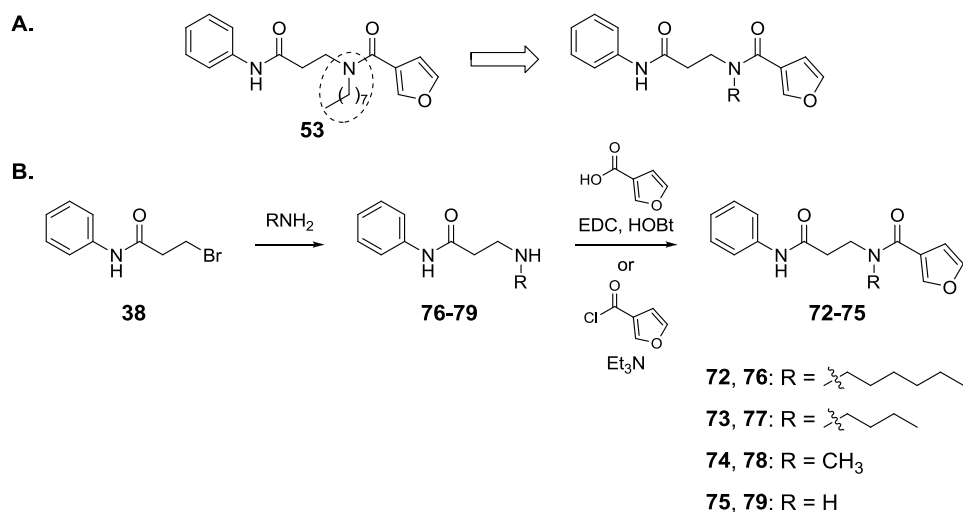
Finally, the replacement of the heterocyclic group for a phenyl, cyclopentyl or methyl moieties resulted in a loss of activity, result that suggests the need of the heterocyclic moiety.

Next, we assessed the influence of the amide group of the spacer by replacing it for an ester in compounds **83** (86% inhibition) and **48** (79%). The resulting analogues **65** and **66** (Scheme 6), respectively, showed a high decrease in their capacity to inhibit ICMT, with values of 60% and 13%, respectively.



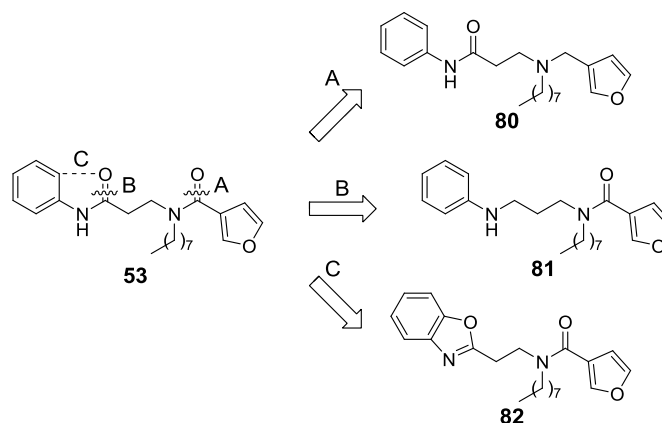
**Scheme 6.** Design (A) and synthesis (B) of compounds **65** and **66**.

To evaluate the importance of the length of the alkyl chain, as well as to check whether it was possible to reduce the lipophilicity of the compounds, we shortened the octyl chain present in the potent compound **53**. Derivatives **72-75** (Scheme 7) clearly showed that this modification negatively affects to the capacity to inhibit ICMT, with inhibition values below 45% in all cases.



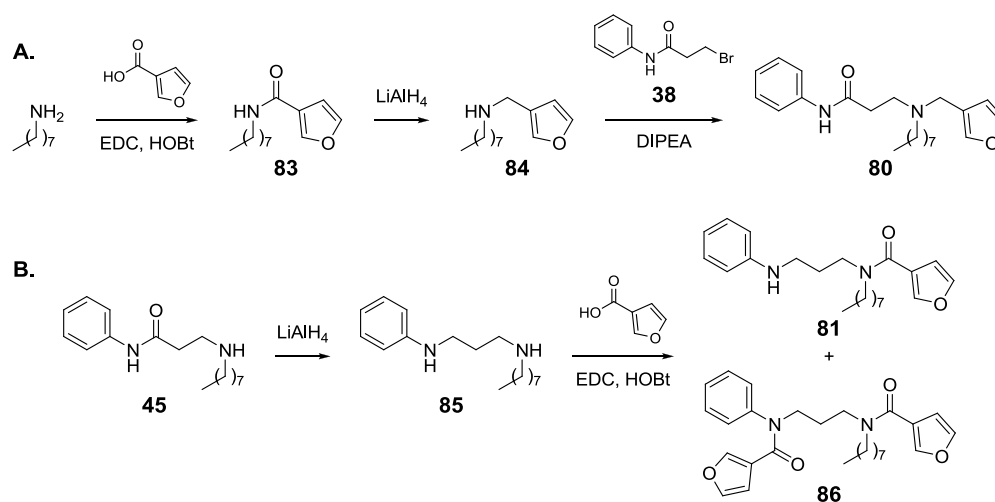
**Scheme 7.** Design (A) and synthesis (B) of compounds **72-75**.

Finally, the influence of the amide groups was studied selecting compound **53** as the base structure. To assess the importance of the carbonyl groups, derivatives **80** and **81**, in which each carbonyl group was replaced by a methylene unit (A and B), were designed. Besides, the anilide of compound **53** was mimicked by a benzoxazole group (C) in derivative **82** (Figure 3).

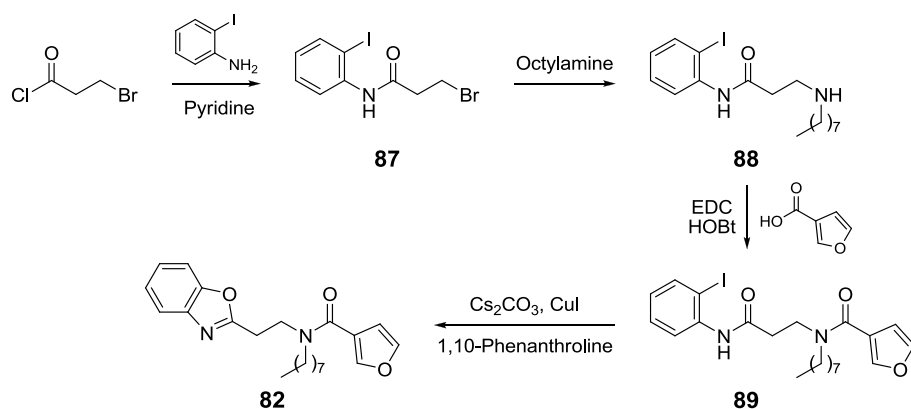


**Figure 3.** Design of derivatives **80-82**.

Compounds **80-82** were synthesized as detailed in Schemes 8 and 9. It is noteworthy to indicate that in the synthesis of derivative **81**, the diamide **86** (Scheme 8B) was also obtained.



**Scheme 8.** Synthesis of compounds **80** (A) and **81**, **86** (B).



**Scheme 9.** Synthesis of compound **82**.

The determination of the activity of compounds **80-82** and **86** indicated the importance of the carbonyl group of the spacer (derivative **80** inhibits 86% of ICMT activity, whereas **81** shows a low 51%). Besides, compounds **82** and **86** showed a remarkable inhibitory capacity, with excellent values of 89% and 92% inhibition, respectively.

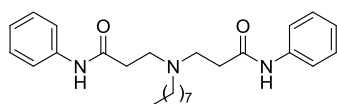
Finally, for the best compounds obtained in this series (with inhibition values up to 80%), their pharmacokinetic profile was determined through *in vitro* serum and microsomal stability assays from human and mouse samples.

The obtained  $t_{1/2}$  indicated that this series of compounds has a high stability in serum. In particular, derivatives **82** and **86** with  $t_{1/2}$  up to 90 minutes, stand out. In the case of microsomal stability, compound **86** stands out with  $t_{1/2}$  of 11 and 8.7 minutes in human and mouse microsomes, respectively.<sup>9,11</sup>

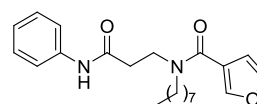
<sup>11</sup> Balabasquer, M. *et al. J. Med. Chem.*, in preparation.

#### 4. CONCLUSIONS

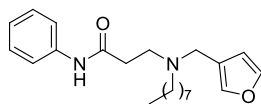
1. In the present work we have designed and synthesized new ICMT inhibitors through two different approaches: elaboration of a pharmacophore model and design based on the structure of the compound cysmethynil.
2. All the synthesized compounds have been assessed for their ability to inhibit ICMT activity.
3. For the optimal obtained compounds, we have studied their pharmacokinetic profile through *in vitro* serum and microsomal stability assays.
4. Among all the synthesized compounds, derivatives **36**, **53**, **80**, **82**, and **86** deserve special attention. They show good pharmacokinetic parameters and block more than the 85% of the ICMT activity at 50  $\mu$ M. Therefore, they represent promising lead compounds for further optimization, research that it is ongoing in our laboratory.



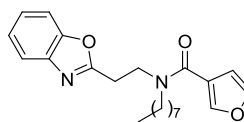
**36**, ICMT Inh.: 93%



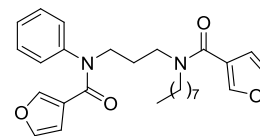
**53**, ICMT Inh.: 86%



**80**, ICMT Inh.: 85%



**82**, ICMT Inh.: 89%



**86**, ICMT Inh.: 92%



**INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA**

---



## INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA

**Tabla S1.** Inhibidores de la enzima ICMT empleados en la elaboración del modelo de farmacóforo.

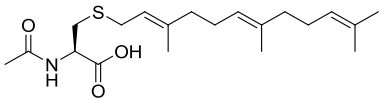
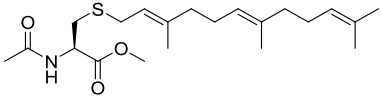
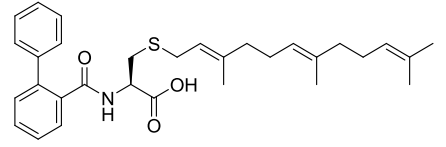
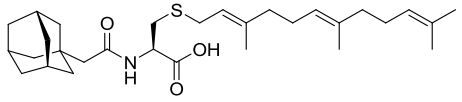
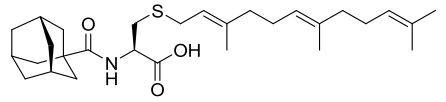
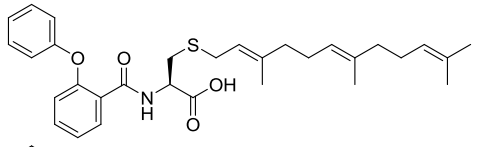
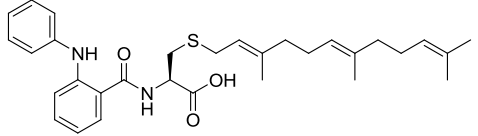
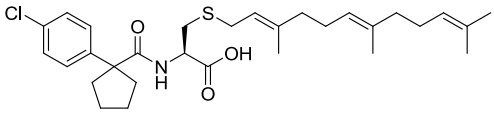
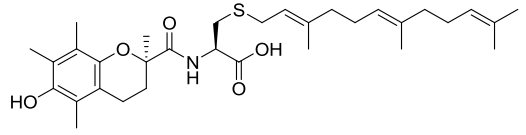
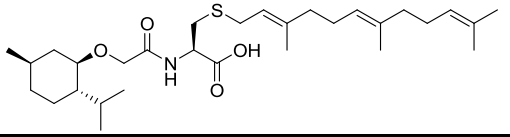
Comp.	Estructura	CI <sub>50</sub> (μM)	Ref. <sup>a</sup>
S1 (AFC)		30	1
S2		>250	1
S3		12.1	2
S4		18.8	2
S5		12.4	2
S6		4.3	2
S7		7.1	2
S8		5.3	2
S9		5.7	2
S10		22.9	2

Tabla S1. (Continuación)

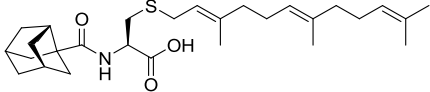
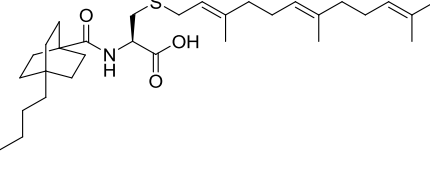
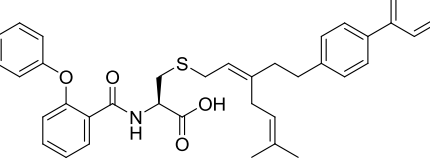
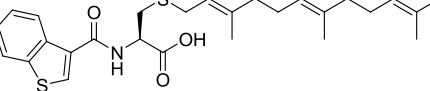
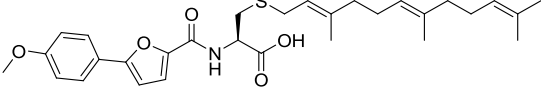
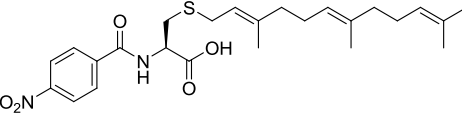
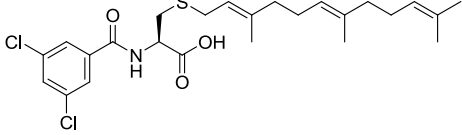
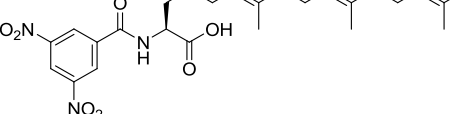
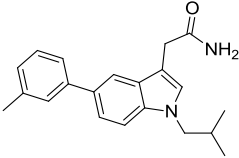
Comp.	Estructura	Cl <sub>50</sub> (μM)	Ref. <sup>a</sup>
S11		16.7	2
S12		16.7	2
S13		2.5	2
S14		20.3	3
S15		17.4	3
S16		16.6	3
S17		23.3	3
S18		14.3	3
S19		15.8	4

Tabla S1. (Continuación)

Comp.	Estructura	CI <sub>50</sub> (μM)	Ref. <sup>a</sup>
S20		9.1	4
S21		7.4	4
S22 (Cysmethynil)		2.1	4
S23		3.7	4
S24		14.8	4
S25		13.9	4
S26		2.4	4

Tabla S1. (Continuación)

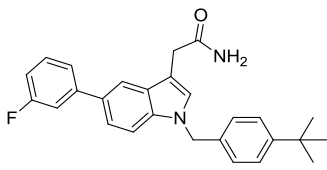
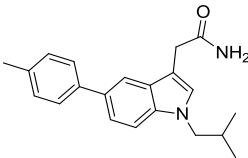
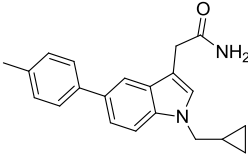
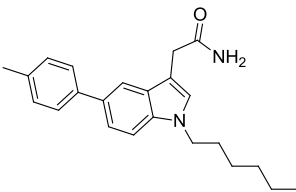
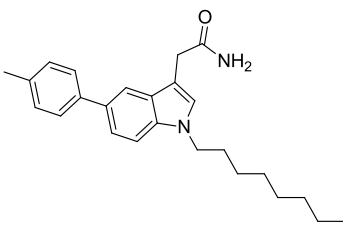
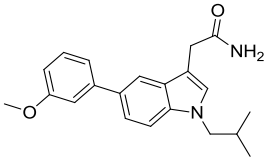
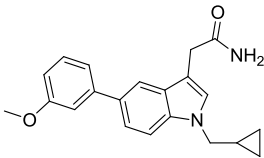
Comp.	Estructura	CI <sub>50</sub> (μM)	Ref. <sup>a</sup>
S27		5.0	4
S28		9.8	4
S29		11.2	4
S30		7.4	4
S31		10.7	4
S32		6.2	4
S33		6.5	4

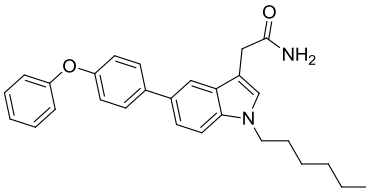
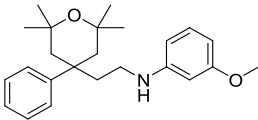
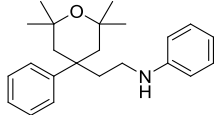
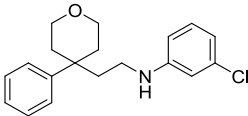
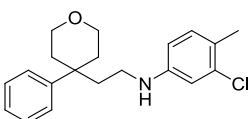
Tabla S1. (Continuación)

Comp.	Estructura	Cl <sub>50</sub> (μM)	Ref. <sup>a</sup>
S34		6.6	4
S35		2.2	4
S36		12.6	4
S37		4.9	4
S38		21.9	4
S39		16.2	4
S40		8.1	4

Tabla S1. (Continuación)

Comp.	Estructura	CI <sub>50</sub> (μM)	Ref. <sup>a</sup>
S41		6.0	4
S42		9.1	4
S43		9.3	4
S44		7.1	4
S45		37.1	4
S46		5.9	4
S47		100	4

Tabla S1. (Continuación)

Comp.	Estructura	CI <sub>50</sub> (μM)	Ref. <sup>a</sup>
S48		100	4
S49		0.0013	5
S50		0.015	5
S51		3.83	5
S52		0.46	5

<sup>a</sup> [1] Scheer, A.; Gierschik, P. S-prenylated cysteine analogues inhibit receptor-mediated G protein activation in native human granulocyte and reconstituted bovine retinal rod outer segment membranes. *Biochemistry* **1995**, *34*, 4952-61.

[2] Donelson, J. L.; Hodges-Loaiza, H. B.; Henriksen, B. S.; Hrycyna, C. A.; Gibbs, R. A. Solid-phase synthesis of prenylcysteine analogs. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2975-81.

[3] Donelson, J. L.; Hodges, H. B.; Macdougall, D. D.; Henriksen, B. S.; Hrycyna, C. A.; Gibbs, R. A. Amide-substituted farnesylcysteine analogs as inhibitors of human isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4420-3.

[4] Leow, J. L.; Baron, R.; Casey, P. J.; Go, M. L. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) of indoloacetamides as inhibitors of human isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1025-32.

[5] Judd, W. R.; Slattum, P. M.; Hoang, K. C.; Bhoite, L.; Valppu, L.; Alberts, G.; Brown, B.; Roth, B.; Ostanin, K.; Huang, L.; Wettstein, D.; Richards, B.; Willardsen, J. A. Discovery and SAR of methylated tetrahydropyranyl derivatives as inhibitors of isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase (ICMT). *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5031-47.



