DERIVADOS DE INSULINA SENSIBLES A LA GLUCOSA

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a nuevos derivados de insulina y su uso farmacéutico. Además, la invención se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos derivados de insulina y al uso de dichos compuestos para el tratamiento o la prevención de afecciones médicas relacionadas con la diabetes.

ANTECEDENTES

La insulina es el fármaco más eficaz para el tratamiento de la glucosa en sangre alta, pero la administración de insulina es un equilibrio delicado entre demasiado y muy poco ya que la ventana fisiológica de la glucosa es estrecha. Las personas sanas tienen niveles de glucosa en ayunas cercanos a 5 mM y los pacientes con diabetes intentan administrar las preparaciones de insulina basal y las previas a las comidas de modo que se acerquen a 5 mM. Sin embargo, durante los tratamientos con insulina frecuentemente se producen valores de glucosa en sangre por debajo de aproximadamente 3 mM (hipoglucemia) y la hipoglucemia puede dar como resultado molestias, pérdida de conciencia, daño cerebral o muerte. Los pacientes con diabetes, por lo tanto, dudan en tratar sus altos o moderadamente altos valores de azúcar en sangre por miedo a la hipoglucemia. Podría ayudar al tratamiento de la diabetes si se desarrollaran fármacos de insulina que solo estuvieran activos o se liberaran de un depósito a valores más altos de glucosa en sangre y que estuvieran inactivos o débilmente activos a valores más bajos de glucosa. Tales objetivos se han abordado en numerosos artículos científicos desde la década de 1970 (Brownlee y otros, Science 1979, 1190; Zaykov y otros, *Nature Rev. Drug Disc.* 2016, 425), pero con mayor frecuencia mediante polímeros sensibles a la glucosa que atrapan y liberan la insulina desde depósitos subcutáneos de manera dependiente de la glucosa. Sin embargo, tales sistemas son lentos y, por lo tanto, no son buenos para el tratamiento de los valores de glucosa en sangre que fluctúan rápidamente después de, por ejemplo, las comidas. Por consiguiente, los sistemas de liberación subcutáneos sensibles a la glucosa nunca han llegado a los ensayos clínicos.

Sería mejor si el ajuste sensible a la glucosa de la bioactividad de la insulina pudiera realizarse en la sangre. Un enfoque que podría cumplir este deseo podría ser la unión a la albúmina sensible a la glucosa, como se describió anteriormente con los derivados de insulina de monoboronato de ácido graso donde la parte de ácido graso da lugar a la unión a la albúmina (Novo Nordisk WO2011/000823; WO 2014/093696; Chou y otros, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2015, 2401). La principal fuerza impulsora de la interacción de la albúmina en estos sistemas surge de la parte de ácido graso del derivado de insulina de monoboronato de ácido graso (no el boronato), y el impacto de la glucosa sobre la afinidad de la albúmina es débil. Para aumentar la sensibilidad a la glucosa de la unión a la albúmina, existe por lo tanto una necesidad de motivos de unión a la albúmina sensibles a la glucosa que sean directamente desplazados por la glucosa. Se sabe que los monoboronatos se unen a la

glucosa y a otros azúcares con afinidades (Kd) en el intervalo milimolar de medio a alto (Hansen y otros, *Sensors Actuators B* 2012, 45). Sin embargo, para proporcionar una sensibilidad a la glucosa adecuada a niveles fisiológicos de glucosa, se necesitan afinidades más fuertes a la glucosa. Los compuestos de diboro con dos boronatos/boroxoles colocados en una geometría adecuada con relación a los grupos hidroxi en la glucosa pueden proporcionar una mayor afinidad por la glucosa con relación a los monoboros, específicamente, baja Kd mM o sub-Kd mM (Hansen y otros, Sensors Actuators B 2012, 45). La mayoría de los diboros descritos en la bibliografía incluyen sondas fluorescentes, porque el objetivo de esos estudios era fabricar sensores ópticos de glucosa. Las sondas fluorescentes no son convenientes en los candidatos a fármacos, ya que tales sondas pueden ser sensibles a la luz, tóxicas y coloreadas. Por lo tanto, existe la necesidad de derivados de insulina con una mayor sensibilidad a la glucosa dentro de los niveles fisiológicos de glucosa en sangre.

SUMARIO

En el aspecto más amplio, la presente invención se refiere a los derivados de insulina.

Sorprendentemente, se ha descubierto que los compuestos de la presente invención se unen tanto a la albúmina (HSA) como a la glucosa y la afinidad por la HSA es sensible a la glucosa. Por lo tanto, la afinidad por el receptor de insulina humano (HIR) en presencia de la HSA también se vuelve sensible a la glucosa. La fracción de insulina unida a la HSA se encuentra protegida de la unión a HIR, pero la liberación desde HSA promovida por la glucosa aumenta la fracción libre de insulina, y por lo tanto la glucosa aumenta la afinidad por HIR.

A diferencia de los derivados de insulina descritos anteriormente con supuesta unión a la albúmina sensible a la glucosa, los compuestos de la presente invención no se basan en una parte de ácido graso para la unión a la albúmina, sino que comprenden un motivo de unión a la albúmina que es desplazado directamente por la glucosa, lo que conduce a un aumento del impacto de la glucosa en la unión a la albúmina y, por lo tanto, un aumento de la sensibilidad a la glucosa de la insulina.

La unión a la albúmina en general puede prolongar la vida media in vivo de los fármacos a base de péptidos y proteínas. El efecto prolongado se logra ya que la fracción unida a la albúmina se encuentra protegida de la degradación enzimática y la eliminación renal, y solo la fracción libre es biológicamente activa, lo que evita por lo tanto la eliminación mediada por el receptor de la fracción unida a la albúmina.

Por lo tanto, los compuestos de la presente invención muestran actividad insulínica dependiente de la concentración de glucosa, y por lo tanto sirven como derivados de insulina sensibles a la glucosa.

En un aspecto, los compuestos de la presente invención comprenden la insulina o un análogo de esta, y uno o más grupos modificadores.

En un aspecto, el grupo modificador tiene afinidad por la glucosa y la albúmina.

En un aspecto, el péptido de insulina o un análogo de este comprende opcionalmente un espaciador.

En un aspecto, el compuesto de la presente invención comprende

i) insulina humana o un análogo de insulina humana; y

ii) uno o más grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo. Cada uno de los uno o más grupos modificadores M está unido opcionalmente mediante un espaciador al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A o la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana o al grupo épsilon amino de una lisina en dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, uno o más grupos modificadores M están unidos opcionalmente mediante un espaciador al sulfuro de una cisteína libre en dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En un aspecto, el compuesto de la presente invención comprende

i) insulina humana o un análogo de insulina humana; y

ii) dos o más **grupos modificadores M**, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo. Cada uno de los dos o más grupos modificadores M está unido opcionalmente mediante un espaciador al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A o la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana o al grupo épsilon amino de una lisina en dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

Como puede verse en los ejemplos, los compuestos que tienen dos o más grupos modificadores M en general muestran un mayor grado de sensibilidad a la glucosa (mayor factor de glucosa) que los compuestos que tienen solo un grupo modificador M.

En un aspecto, la invención proporciona los productos intermedios en la forma de nuevos análogos de insulina, que incluyen nuevos análogos de insulina que comprenden un espaciador peptídico.

En un aspecto, los compuestos de la presente invención activan el receptor de insulina en función de la concentración de glucosa en la sangre y el tejido.

En un aspecto, los compuestos de la presente invención tienen baja disponibilidad (fracción plasmática libre no unida baja) y, por lo tanto, actividad baja o nula durante situaciones de glucosa en sangre baja, por ejemplo, niveles por debajo de aproximadamente 3 mM de glucosa (hipoglucemia).

En un aspecto, los compuestos de la presente invención tienen alta disponibilidad (fracción plasmática libre no unida alta) y, por lo tanto, actividad alta en respuesta a glucosa en sangre alta, por ejemplo por encima de aproximadamente 10 mM de glucosa (hiperglucemia).

En un aspecto, los compuestos de la presente invención muestran unión a la albúmina sensible a la glucosa.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la invención. En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la invención para su uso como un medicamento. En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento de la diabetes. En otro aspecto, la invención se refiere al(a los) uso(s) médico(s) de los compuestos de acuerdo con la invención.

La invención puede también resolver problemas adicionales que resultarán evidentes a partir de la descripción de las modalidades ilustrativas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra el perfil PK del bolo i.v. de insulina aspártica a 10 mM y 3,5-4 mM de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 2 muestra el perfil PK del bolo i.v. de insulina degludec a 10 mM y 3,5-4 mM de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 3 muestra el perfil PK del bolo i.v. del ejemplo número 210 (triángulos) y el ejemplo número 211 (círculos) a 10 mM (sombreados) y 3,5-4 mM (blancos) de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 4 muestra el perfil PK del bolo i.v. del ejemplo número 233 (triángulos) y el ejemplo número 234 (cuadrados) a 10 mM (sombreados) y 3,5-4 mM (blancos) de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 5 muestra el perfil PK del bolo i.v. del ejemplo número 240 (triángulos) y el ejemplo número 227 (círculos) a 10 mM (sombreados) y 3,5-4 mM (blancos) de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 6 muestra el perfil PK del bolo i.v. del ejemplo número 241 (triángulos) y el ejemplo número 181 (cuadrados) a 10 mM (sombreados) y 3,5-4 mM (blancos) de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 7 muestra el perfil PK del bolo i.v. del ejemplo número 205 (triángulos) y el ejemplo número 239 (cuadrados) a 10 mM (sombreados) y 3,5-4 mM (blancos) de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 8 muestra el perfil PK del bolo i.v. del ejemplo número 285 (triángulos) y el ejemplo número 273 (cuadrados) a 10 mM (sombreados) y 3,5-4 mM (blancos) de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 9 muestra el perfil PK del bolo i.v. del ejemplo número 280 (triángulos) y el ejemplo número 272 (cuadrados) a 10 mM (sombreados) y 3,5-4 mM (blancos) de glucosa (Ejemplo E).

La Figura 10 muestra una comparación entre las áreas bajo la curva de la velocidad de infusión de la glucosa ajustada al valor inicial para pinzas a 3,5-4 mM de glucosa frente a 10 mM de glucosa para los ejemplos números 205, 239, 272 y 280 (Ejemplo E).

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere a los derivados de insulina. En un aspecto, la presente invención se refiere a los derivados de insulina sensibles a la glucosa.

En una modalidad, la presente invención se refiere a un compuesto que comprende la insulina humana o un análogo de esta y un grupo modificador, cuyo grupo modificador muestra afinidad tanto por la glucosa como por la albúmina.

En una modalidad, el grupo modificador muestra unión a la albúmina sensible a la glucosa.

En una modalidad, el análogo de insulina es un análogo de insulina humana (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2).

En una modalidad, la insulina humana o el análogo de insulina humana de la presente invención pueden comprender un espaciador.

En una modalidad, la invención proporciona un compuesto que comprende una insulina humana o un análogo de insulina humana; y uno o más grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo. Cada uno de los uno o más grupos modificadores M está unido opcionalmente mediante un espaciador al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A o la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana o al grupo épsilon amino de una lisina en dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, la invención proporciona un compuesto que comprende una insulina humana o un análogo de insulina humana; y dos o más grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo. Cada uno de los dos o más grupos modificadores M está unido opcionalmente mediante un espaciador al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A o la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana o al grupo épsilon amino de una lisina en dicha insulina humana o análogo de insulina humana. Los grupos modificadores M también pueden unirse opcionalmente mediante un espaciador al sulfuro de una cisteína libre en dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

<u>Definiciones generales</u>

El término “compuesto” se usa en la presente descripción para referirse a una entidad molecular, y por lo tanto, los “compuestos” pueden tener diferentes elementos estructurales además del elemento mínimo definido para cada compuesto o grupo de compuestos. El término “compuesto” también está destinado a cubrir las formas farmacéuticamente relevantes de este, es decir, la invención se refiere a un compuesto como se define en la presente descripción o una sal, amida o éster farmacéuticamente aceptable de este.

El término “péptido” o “polipéptido”, como se usa, por ejemplo, en el contexto de la invención, se refiere a un compuesto que comprende una serie de aminoácidos

interconectados mediante enlaces amida (o peptídicos). En una modalidad particular, el péptido consiste en aminoácidos interconectados mediante enlaces peptídicos.

El término “análogo” generalmente se refiere a un péptido, cuya secuencia tiene uno o más cambios de aminoácidos cuando se compara con una secuencia de aminoácidos de referencia. Los análogos “que comprenden” determinados cambios especificados pueden comprender otros cambios, en comparación con su secuencia de referencia. En modalidades particulares, un análogo "tiene" o “comprende” cambios especificados. En otras modalidades particulares, un análogo “consiste en” los cambios. Cuando el término “consiste” o “que consiste en” se usa en relación con un análogo, por ejemplo, un análogo consiste o que consiste en un grupo de mutaciones de aminoácidos especificadas, debe entenderse que las mutaciones de aminoácidos especificadas son las únicas mutaciones de aminoácidos en el análogo. Por el contrario un análogo “que comprende” un grupo de mutaciones de aminoácidos especificadas puede tener mutaciones adicionales.

El término “derivado” generalmente se refiere a un compuesto que puede prepararse a partir de un péptido nativo o un análogo de este mediante la modificación química, en particular mediante la unión covalente de uno o más sustituyentes.

En el contexto de la presente invención, el grupo modificador M es un sustituyente unido covalentemente.

El término "aminoácido" incluye los aminoácidos proteinogénicos (o naturales) (entre ellos los 20 aminoácidos estándar), así como también los aminoácidos no proteinogénicos (o no naturales). Los aminoácidos proteinogénicos son aquellos que se incorporan naturalmente en las proteínas. Los aminoácidos estándar son los codificados por el código genético. Los aminoácidos no proteinogénicos o no se encuentran en las proteínas o no se producen por la maquinaria celular estándar (por ejemplo, pueden haberse sometido a modificación postraduccional).

En general, los residuos de aminoácidos (secuencias de péptidos/proteínas) pueden identificarse por su nombre completo, su código de una letra y/o su código de tres letras. Estas tres maneras son totalmente equivalentes. En lo que sigue, cada aminoácido de los péptidos de la invención para los cuales no se indica el isómero óptico debe entenderse que se refiere al *L*-isómero (a menos que se especifique de cualquier otra manera). Los aminoácidos son moléculas que contienen un grupo amino y un grupo ácido carboxílico, y, opcionalmente, uno o más grupos adicionales, frecuentemente referidos como una cadena lateral.

En la presente descripción, el término “residuo de aminoácido” es un aminoácido del cual, formalmente, un grupo hidroxi se ha eliminado de un grupo carboxi y/o del cual, formalmente, un átomo de hidrógeno se ha eliminado de un grupo amino.

Como es evidente a partir de los ejemplos más abajo, los residuos de aminoácidos pueden identificarse por su nombre completo, su código de una letra y/o su código de tres letras. Estas tres maneras son completamente equivalentes e intercambiables.

En la presente descripción, el término "arilo" significa un anillo aromático cíclico o policíclico que tiene de 5 a 12 átomos de carbono. El término arilo incluye tanto especies monovalentes, divalentes, como multivalentes. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, bifenilo, naftilo, antracenilo y similares. En una modalidad particular, un arilo es fenilo. En la presente descripción, el término “arilo” comprende además un "heteroarilo". El término "heteroarilo" significa un anillo aromático monocíclico, bicíclico o policíclico que incorpora uno o más (por ejemplo 1-4, particularmente 1, 2 o 3) heteroátomos que se seleccionan de nitrógeno, oxígeno o azufre.

Insulina

El término “insulina humana” como se usa en la presente descripción se refiere a la hormona de insulina humana cuya estructura y propiedades se conocen bien. La insulina humana tiene dos cadenas polipeptídicas, denominadas la cadena A y la cadena B. La cadena A es un péptido de 21 aminoácidos y la cadena B es un péptido de 30 aminoácidos, las dos cadenas se conectan mediante puentes disulfuro: un primer puente entre la cisteína en la posición 7 de la cadena A y la cisteína en la posición 7 de la cadena B, y un segundo puente entre la cisteína en la posición 20 de la cadena A y la cisteína en la posición 19 de la cadena B. Un tercer puente está presente entre las cisteínas en la posición 6 y 11 de la cadena A.

La cadena A de la insulina humana tiene la siguiente secuencia: GIVEQCCTSICSLYQLENYCN (SEQ ID NO: 1), mientras que la cadena B tiene la siguiente secuencia: FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT (SEQ ID NO: 2).

El término “péptido de insulina”, “compuesto de insulina” o “insulina” como se usa en la presente descripción significa un péptido que es insulina humana o un análogo o un derivado de esta con actividad insulínica, es decir, que activa el receptor de insulina.

Análogos de insulina

El término “análogo de insulina” como se usa en la presente descripción significa una insulina humana modificada en donde uno o más residuos de aminoácidos de la insulina se han sustituido con otros residuos de aminoácidos y/o en donde uno o más residuos de aminoácidos se han eliminado de la insulina y/o en donde uno o más residuos de aminoácidos se han añadido y/o insertado a la insulina.

El término “análogo de insulina” como se usa en la presente descripción significa un análogo de insulina que muestra actividad insulínica, es decir, que activa el receptor de insulina.

El análogo de insulina comprende menos de 10 modificaciones de aminoácidos (sustituciones, deleciones, adiciones (es decir, extensiones), inserciones y cualquier combinación de estas) con relación a la insulina humana, alternativamente menos de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 modificación con relación a la insulina humana. En un aspecto, el análogo de insulina tiene menos de 10 modificaciones de aminoácidos (sustituciones, deleciones,

adiciones (es decir, extensiones), inserciones y cualquier combinación de estas) con relación a la insulina humana, alternativamente menos de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 modificación con relación a la insulina humana.

Las modificaciones en la molécula de insulina se denotan por indicación de la cadena (A o B), la posición y el código de una o tres letras para el residuo de aminoácido que sustituye al residuo de aminoácido nativo.

En la presente descripción los términos como “A1”, “A2” y “A3” etc., indican el aminoácido en la posición 1, 2 y 3 etc., respectivamente, en la cadena A de la insulina (contadas desde el extremo N). De manera similar, los términos como B1, B2 y B3 etc., indican el aminoácido en la posición 1, 2 y 3 etc., respectivamente, en la cadena B de la insulina (contadas desde el extremo N). Mediante el uso de los códigos de una letra para los aminoácidos, los términos como A21A, A21G y A21Q indican que el aminoácido en la posición A21 es A, G y Q, respectivamente. Mediante el uso de los códigos de tres letras para los aminoácidos, las expresiones correspondientes son A21Ala, A21Gly y A21Gln, respectivamente.

Por “desB30” se entiende una cadena B de insulina natural o un análogo de esta que carece del aminoácido B30.

En la presente descripción los términos “A-1” o “B-1” indican las posiciones de los aminoácidos en los extremos N respecto a A1 o B1, respectivamente. Los términos A-2 o B-2 indican las posiciones de los primeros aminoácidos en los extremos N respecto a A-1 o B-1, respectivamente.

Los términos “A22” o “B31” indican las posiciones de los aminoácidos en los extremos C respecto a A21 o B30, respectivamente.

Por lo tanto, por ejemplo, la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 es un análogo de insulina humana donde el aminoácido en la posición 14 en la cadena A se sustituye con ácido glutámico, el aminoácido en la posición 1 en la cadena B se sustituye con lisina, el aminoácido en la posición 2 en la cadena B se sustituye con prolina, el aminoácido en la posición 25 en la cadena B se sustituye con histidina y los aminoácidos en las posiciones 27 y 30 en la cadena B se eliminan.

Los ejemplos de los análogos de insulina que tienen sustituciones son aquellos en donde Tyr en la posición A14 se sustituye con Glu. Además, el aminoácido en la posición B1 o B4 puede sustituirse con Lys. El aminoácido en la posición B2 puede sustituirse con Pro. El aminoácido en la posición B25 puede sustituirse con His.

Los ejemplos de los análogos de insulina con deleciones son los análogos donde el aminoácido B30 en la insulina humana se ha eliminado (insulina humana desB30), los análogos de insulina en donde el aminoácido B1 en la insulina humana se ha eliminado (insulina humana desB1), los análogos de insulina en donde los aminoácidos B1 y B2 en la insulina humana se han eliminado (insulina humana desB1 desB2) e insulina humana desB27.

Los ejemplos de los análogos de insulina en donde la cadena A y/o la cadena B tienen una extensión en el extremo N (es decir, donde se han añadido uno o más residuos de aminoácidos en el extremo N) es un análogo de insulina humana que comprende A-2K y A-1P, es decir, un análogo de insulina humana, en donde la cadena A se ha extendido en el extremo N con KP. Otro ejemplo es un análogo de insulina humana donde se añade un residuo de glicina en el extremo N de la cadena B, es decir, el análogo de insulina humana comprende B-1G.

Los ejemplos de los análogos de insulina en donde la cadena A y/o la cadena B tienen una extensión en el extremo C (es decir, donde se han añadido uno o más residuos de aminoácidos en el extremo C) son análogos de insulina humana que comprenden A22K.

Otros ejemplos son los análogos de insulina que comprenden las combinaciones de las mutaciones mencionadas.

Los ejemplos de los análogos de insulina incluyen:

insulina humana desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A21Q desB30 (SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A14E B25H desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 12);

insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 13);

insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 14);

insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 15);

insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 16);

insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 17);

insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 18);

insulina humana A22K desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 19);

insulina humana A22K B22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 20); e

insulina humana A-2K A-1P desB30 (SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 11).

Espaciador

Como se indicó anteriormente, el análogo de insulina de la invención comprende menos de 10 modificaciones de aminoácidos (sustituciones, deleciones, extensiones y cualquier combinación de estas) con relación a la insulina humana, alternativamente menos de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 modificación con relación a la insulina humana. Además de estas hasta 9 modificaciones, la insulina humana o el análogo de insulina humana de la presente invención pueden comprender un espaciador en el extremo C de la cadena A de la insulina humana o el análogo de insulina humana, o en el extremo N de la cadena B de la insulina humana o el análogo de insulina humana.

En una modalidad, el espaciador es un péptido, que en la presente descripción se refiere como un péptido espaciador o un espaciador peptídico. En otra modalidad, el espaciador es un enlazador no peptídico L.

Espaciador peptídico

En la técnica se conocen varios péptidos espaciadores y pueden usarse en los compuestos de la presente invención. En una modalidad, el espaciador es un segmento peptídico que consiste en 4-40 aminoácidos conectados mediante enlaces peptídicos. En una modalidad, el espaciador es un segmento peptídico que consiste en 4-24 aminoácidos conectados mediante enlaces peptídicos.

En una modalidad, el espaciador comprende uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos: Gly (G), Glu (E), Ser (S), Pro (P), Arg (R), Phe (F), Tyr (Y), Asp (D) y Lys (K). En una modalidad, el espaciador comprende uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos: Gly (G), Glu (E), Ser (S) y Lys (K). En una modalidad, el espaciador comprende uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos: Gly (G), Ser (S), Pro (P), Arg (R), Phe (F), Tyr (Y), Asp (D) y Lys (K). En una modalidad, el espaciador comprende uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos: Gly (G), Ser (S), Pro (P) y Lys (K). En una modalidad, el espaciador comprende al menos un residuo de Lys (K).

En una modalidad, la insulina humana o el análogo de insulina humana de la invención comprenden un espaciador peptídico en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o dicho análogo de insulina humana. En una modalidad, dicho espaciador peptídico comprende $(GES)_pK$, en donde p es un número entero de 3 a 12.

Los ejemplos de los espaciadores peptídicos en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o dicho análogo de insulina humana incluyen: $(GES)_3K$ (SEQ ID NO: 29); $(GES)_6K$ (SEQ ID NO: 30); y $(GES)_{12}K$ (SEQ ID NO: 31).

En una modalidad, la insulina humana o el análogo de insulina humana de la invención comprenden un espaciador peptídico en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o dicho análogo de insulina humana. En una modalidad, dicho espaciador peptídico comprende GKPG, $GKP(G_4S)_q$, $KP(G_4S)_r$, $GKPRGFFYTP(G_4S)_s$ o $TYFFGRKPD(G_4S)_t$, en donde cada uno de q, r, s y t se selecciona independientemente de un número entero de 1 a 5. En otra modalidad, el espaciador peptídico comprende GKPG, $GKP(G_4S)_q$, $KP(G_4S)_3$, $GKPRGFFYTP(G_4S)_2$ o $TYFFGRKPD(G_4S)_3$, en donde q es un número entero de 1 a 3.

Los ejemplos de los espaciadores peptídicos en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o dicho análogo de insulina humana incluyen:

GKPG (SEQ ID NO: 32);

GKPGGGGS ($GKP(G_4S)$) (SEQ ID NO: 33);

GKPGGGGSGGGGS ($GKP(G_4S)_2$) (SEQ ID NO: 34);

GKPGGGGSGGGGSGGGGS ($GKP(G_4S)_3$) (SEQ ID NO: 35);

KPGGGGSGGGGSGGGGS ($KP(G_4S)_3$) (SEQ ID NO: 36);

GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS ($GKPRGFFYTP(G_4S)_2$) (SEQ ID NO: 37); y

TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS (TYFFGRKPD($G_4S)_3$) (SEQ ID NO: 38).

Los ejemplos de los análogos de insulina que comprenden un espaciador peptídico en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o dicho análogo de insulina humana incluyen:

insulina humana A21Q $(GES)_3$K desB30 (SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A21Q $(GES)_6$K desB30 (SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 11); e

insulina humana A21Q $(GES)_{12}$K desB30 (SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11).

Los ejemplos de los análogos de insulina que comprenden un espaciador peptídico en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o dicho análogo de insulina humana incluyen:

insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 21);

insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 22);

insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 23);

insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 24);

insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 25);

insulina humana B1-GKPG desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 26);

insulina humana B1-GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 27); e

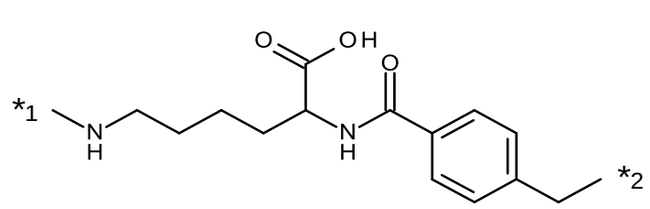
insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 28).

Enlazador L

En un aspecto, el espaciador es un enlazador no peptídico L. En la técnica se conocen varios enlazadores no peptídicos y pueden usarse en los compuestos de la presente invención.

En una modalidad, la insulina humana o el análogo de insulina humana de la invención comprenden un enlazador L en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o dicho análogo de insulina humana.

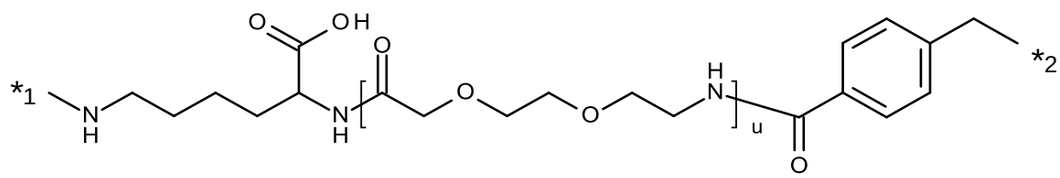
En una modalidad, el enlazador es de Fórmula L1:



Fórmula L1

en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador M y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de la insulina humana o el análogo de insulina humana.

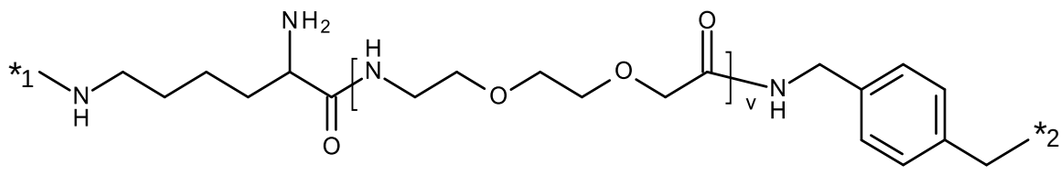
En una modalidad, el enlazador es de Fórmula L2:



Fórmula L2

en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador A y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de la insulina humana o el análogo de insulina humana, y en donde u es 1, 2 o 3. En una modalidad, u es 2 o 3.

En una modalidad, el enlazador es de Fórmula L3:



Fórmula L3,

en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador A y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de la insulina humana o el análogo de insulina humana, y en donde v es 2 o 3.

<u>Derivado de insulina</u>

El término “derivado de insulina”, como se usa en la presente descripción, significa una insulina modificada químicamente o un análogo de esta, en donde la(s) modificación(es) está(n) en la forma de unión de uno o más grupos modificadores M.

En una modalidad, cada uno de los uno o más grupos modificadores M está unido, opcionalmente mediante un espaciador, al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A o la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana o al grupo épsilon amino de una lisina en dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, cada grupo modificador M está unido a un punto de unión que se selecciona de los siguientes grupos:

a) el grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

b) el grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana; o

el grupo épsilon amino de la lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

c) el grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

el grupo épsilon amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B de dicho análogo de insulina humana;

el grupo épsilon amino de una lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; o

el grupo amino distal marcado con *1 en dicho enlazador L opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

d) el grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, no más de un grupo modificador M está unido a un punto de unión dentro de cada uno de los grupos a), b), c) y d).

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende dos grupos modificadores M, en donde un grupo modificador M está unido al grupo amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B del análogo de insulina humana, o el grupo épsilon amino de una lisina en la extensión peptídica opcional en el extremo N de la cadena B de la insulina humana o el análogo de insulina humana; y el otro grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de la insulina humana o el análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención tiene exactamente dos grupos modificadores M, en donde un grupo modificador M está unido al grupo amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B del análogo de insulina humana, o el grupo épsilon amino de una lisina en la extensión peptídica opcional en el extremo N de la cadena B de la insulina humana o el análogo de insulina humana; y el otro grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de la insulina humana o el análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende dos grupos modificadores M, en donde un grupo modificador M está unido al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y el otro grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención tiene exactamente dos grupos modificadores M, en donde un grupo modificador M está unido al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y el otro grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una

lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende dos grupos modificadores M, en donde un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana, o al grupo épsilon amino de la lisina en el espaciador peptídico opcional en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y el otro grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención tiene exactamente dos grupos modificadores M, en donde un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana, o al grupo épsilon amino de la lisina en el espaciador peptídico opcional en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y el otro grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende un grupo modificador M, en donde el grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana; o al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención tiene exactamente un grupo modificador M, en donde el grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana; o al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende tres o cuatro grupos modificadores M, en donde un primer grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana; un segundo grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; con cada uno de los grupos modificadores M restantes unido al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; o al grupo amino distal marcado con *1 en dicho enlazador L opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el compuesto de la invención tiene exactamente tres o cuatro grupos modificadores M, en donde un primer grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana;

un segundo grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; con cada uno de los grupos modificadores M restantes unido al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; o al grupo amino distal marcado con *1 en dicho enlazador L opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

Grupo modificador M

Los compuestos de la presente invención comprenden uno o más grupos modificadores M. En una modalidad, el compuesto de la presente invención comprende uno, dos, tres o cuatro grupos modificadores M. En una modalidad, el compuesto de la presente invención comprende dos o más grupos modificadores M. En una modalidad, el compuesto de la presente invención comprende dos, tres o cuatro grupos modificadores M. En una modalidad, el compuesto de la presente invención comprende dos grupos modificadores M. En una modalidad, el compuesto de la presente invención tiene exactamente dos grupos modificadores M. Uno o más grupos modificadores pueden ser idénticos o diferentes. Los dos o más grupos modificadores pueden ser idénticos o diferentes. En una modalidad, los grupos modificadores son idénticos.

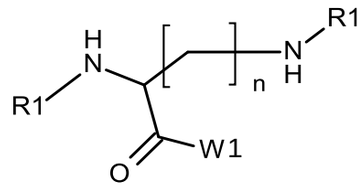
Algunos de los grupos modificadores comprenden uno o más residuos de aminoácidos. Cada uno de estos residuos de aminoácidos puede ser independientemente la forma *D* o *L* del residuo de aminoácido respectivo, es decir, cada uno de los átomos quirales en los grupos modificadores puede ser independientemente de la forma (*R*) o (*S*). En una modalidad, los residuos de aminoácidos de los grupos modificadores son residuos de *L*-aminoácidos.

Cada grupo modificador M comprende un resto diboro, en donde el resto diboro (es decir, el grupo modificador M) comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo. El átomo de boro puede ser parte de un ácido borónico (o boronato en dependencia del pKa/pH) o puede ser parte de un boroxol (o boroxolato en dependencia del pKa/pH).

Los términos “comprende” o “que comprende” determinadas características deben interpretarse en el sentido de que el tema en cuestión incluye determinadas características, pero que no excluye la presencia de otras características. Por lo tanto, un grupo modificador M puede tener más de dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los restos arilo. En una modalidad, el grupo modificador tiene exactamente dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo. En una modalidad, el grupo modificador tiene exactamente cuatro restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los cuatro restos arilo.

Los diboronatos/diboroxoles de la presente invención se unen a la glucosa con mayor fortaleza que los monoboronatos, como se muestra en el Ejemplo A. Por otra parte, sorprendentemente, los compuestos de diboro de la invención son capaces de unirse a la albúmina sérica humana (HSA), por lo que poseen una doble acción, ya que esta unión a HSA también es sensible a la glucosa (la fracción unida a HSA del péptido con diboro es inactiva debido al bloqueo de los sitios de unión al receptor en el péptido) (los datos se muestran en el Ejemplo B).

En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M1:



Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y

en donde n representa un número entero en el intervalo de 1 a 4;

en donde W1 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W1 representa

$NH\text{-}CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

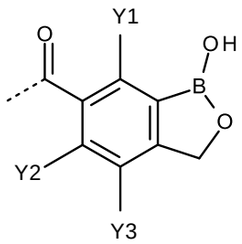
la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$, o

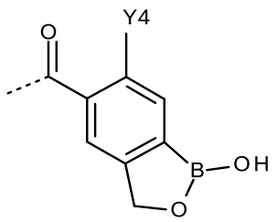
$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}(CH_2)_2\text{-}O\text{-}(CH_2)_2\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}*$,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

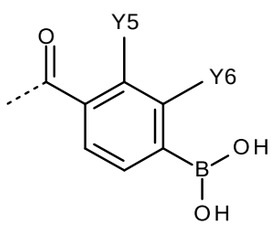
en donde R1 se selecciona de



Fórmula R1a ,



Fórmula R1b y



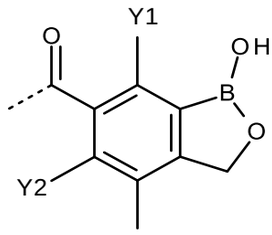
Fórmula R1c ,

en donde Y1, Y2, Y3, Y4, Y5 y Y6 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3.

En otra modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M1, en donde Y1 y Y2 son H, y Y3 es F o CF_3; Y4 es H o F; y Y5 es H y Y6 es F.

En otra modalidad más, el grupo modificador es de Fórmula M1, en donde n es 1;

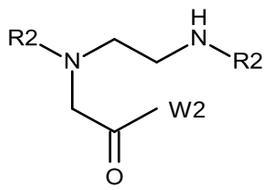
W1 representa NH-CH_2CH_2-C(=O)-* o la forma *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y R1 es de



Fórmula R1a ,

en donde Y1 y Y2 son H; y Y3 es F o CF_3.

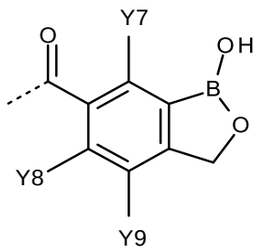
En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M2:



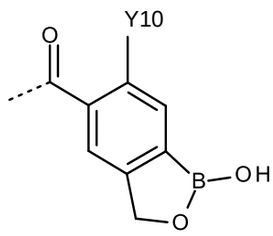
Fórmula M2 ,

en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W2 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-* o NH-$CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

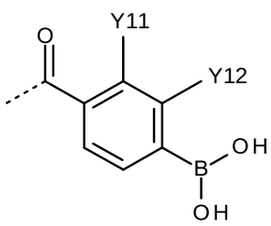
en donde R2 se selecciona de



Fórmula R2a , Fórmula R2b



y

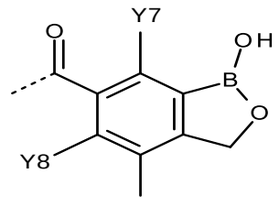


Fórmula R2c

en donde Y7, Y8, Y9, Y10, Y11 y Y12 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3.

En otra modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M2, en donde Y7 es H; Y8 es H, Cl, CHF_2 o CF3; Y9 es H, F o CF3; Y10 es F; Y11 es H; y Y12 es F; con la condición de que solo uno de Y8 y Y9 sea H.

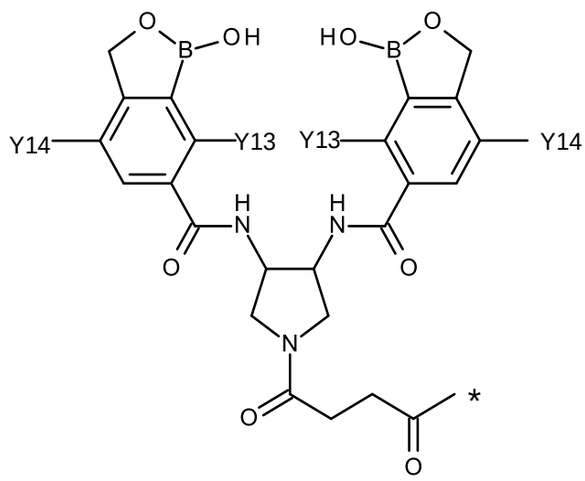
En otra modalidad más, el grupo modificador es de Fórmula M2, en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W2 representa la forma *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde R2 es de



Fórmula R2a ,

en donde Y7 y Y8 son H; y Y9 es Cl, CHF_2 o CF3.

En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M3:

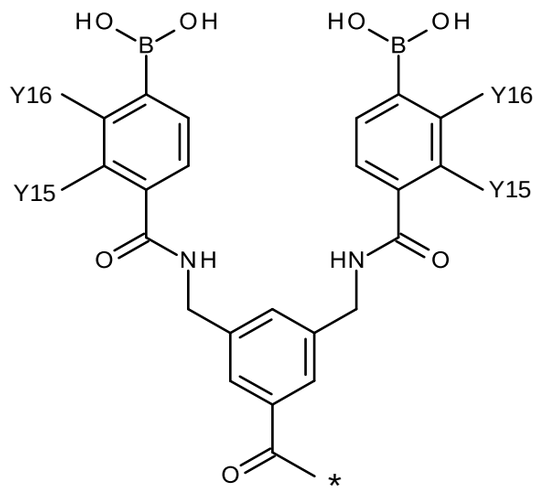


Fórmula M3 ,

que representa un estereoisómero *R,R o S,S o R,S* de la 3,4-diamino-pirrolidina; y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y13 y Y14 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3.

En otra modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M3, en donde Y13 es H o F; y Y14 es H o CF3; con la condición de que solo uno de Y13 y Y14 sea H.

En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M4:



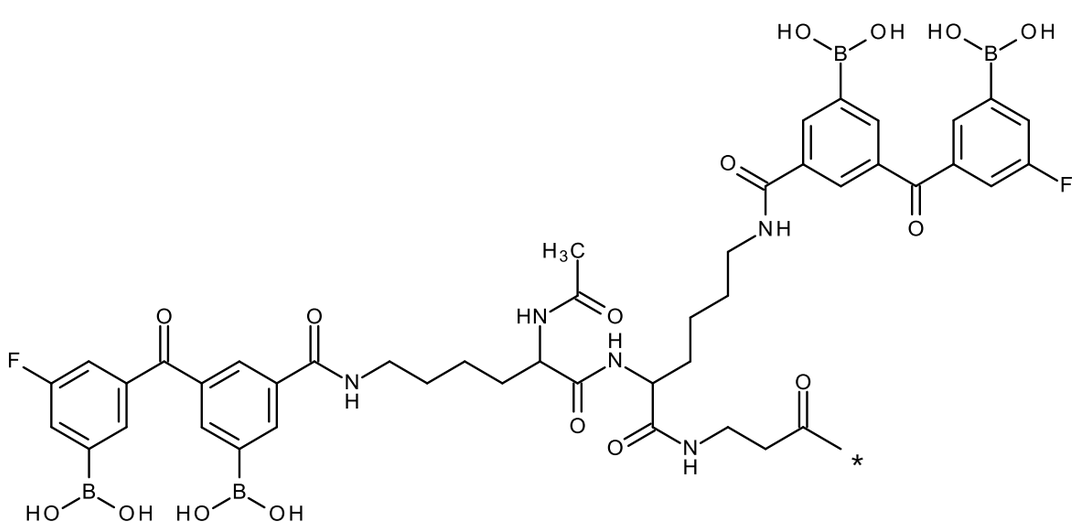
Fórmula M4 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde Y15 y Y16 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3.

En otra modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M4, en donde Y15 y Y16 se seleccionan independientemente de H y F.

En otra modalidad más, el grupo modificador es de Fórmula M4, en donde Y15 es H y Y16 es F.

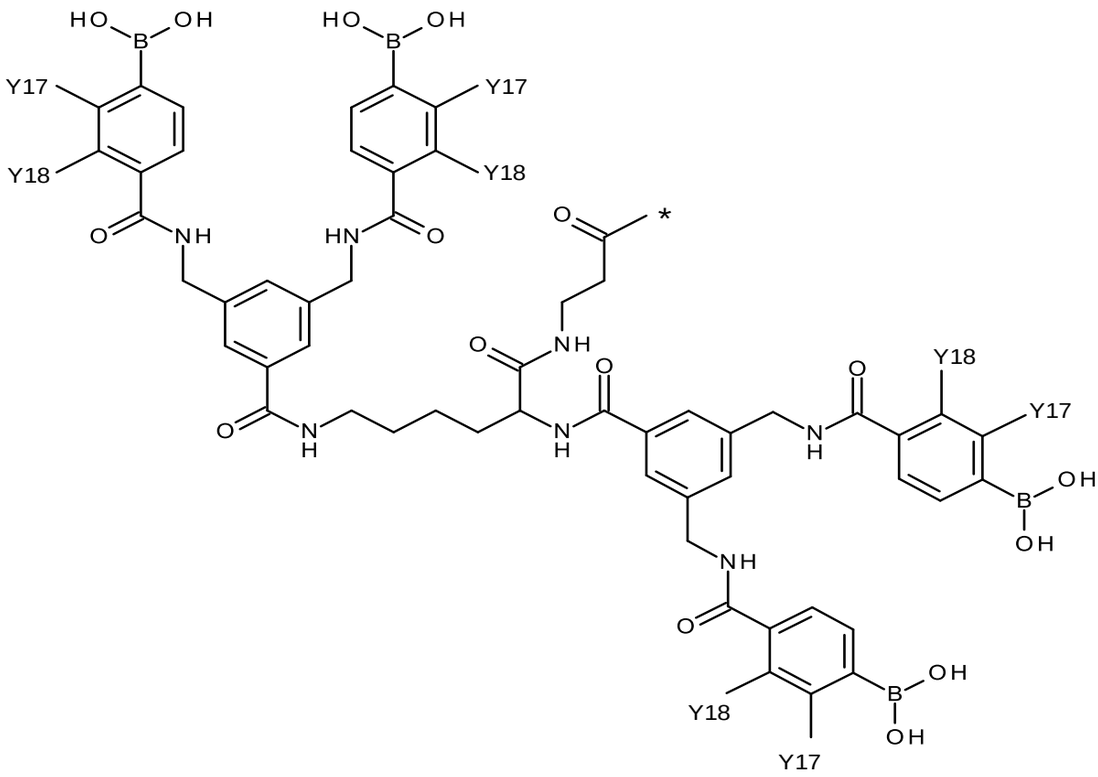
En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M5:



Fórmula M5

en donde cada uno de los residuos de aminoácidos representa independientemente la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M6:

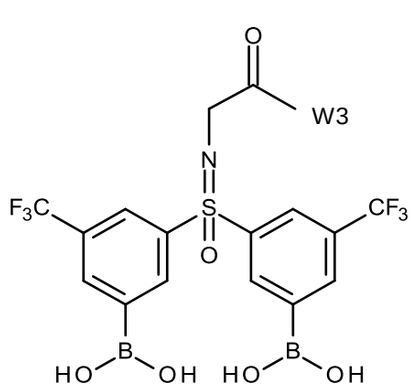


Fórmula M6

en donde el α–residuo de aminoácido representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y17 y Y18 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3.

En otra modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M6, en donde Y17 es H o F; y Y18 es H o F.

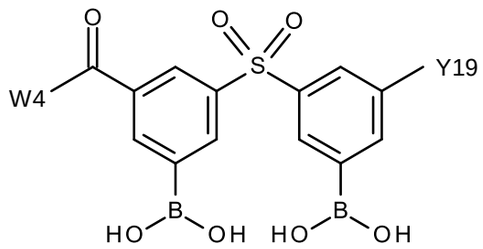
En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M7:



Fórmula M7 ,

en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana. En una modalidad, W3 representa la forma *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M8:



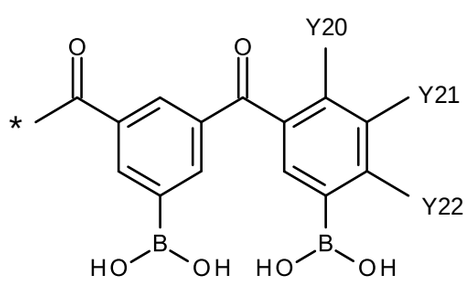
Fórmula M8 ,

en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es H, F, Cl, CHF_2 y CF_3 o SF_5.

En otra modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M8, en donde Y19 es CF_3 o SF_5.

En otra modalidad más, el grupo modificador es de Fórmula M8, en donde Y19 es CF3.

En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M9:

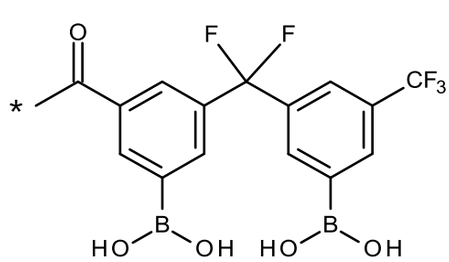


Fórmula M9 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3.

En otra modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M9, en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F.

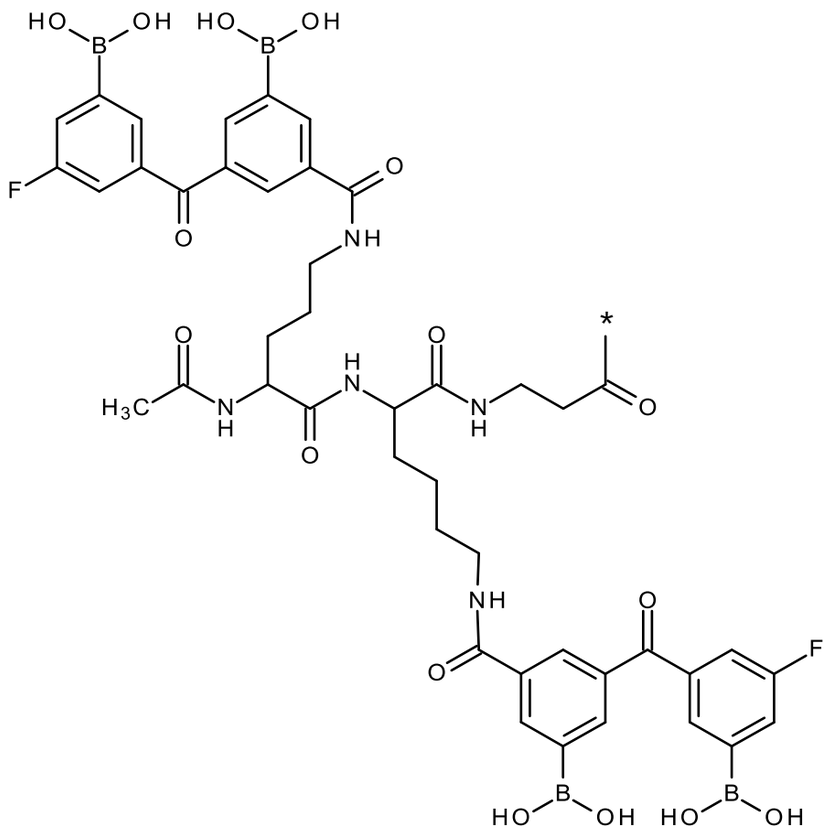
En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M10:



Fórmula M10 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, el grupo modificador es de Fórmula M11:



Fórmula M11

en donde cada uno de los residuos de aminoácidos representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

Compuestos de la presente invención

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende la insulina humana o un análogo de insulina humana; y uno o más grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo; y en donde cada uno de los uno o más grupos modificadores M está unido opcionalmente mediante un espaciador al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A o la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana o al grupo épsilon amino de una lisina en dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En otra modalidad, el compuesto de la invención comprende la insulina humana o un análogo de insulina humana; y 2 grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo; y en donde un primer grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B de dicho análogo de insulina humana, o al grupo épsilon amino de una lisina en un espaciador peptídico opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y un segundo grupo modificador está unido al grupo épsilon amino de

una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En otra modalidad, el compuesto de la invención comprende la insulina humana o un análogo de insulina humana; y 2 grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo; y en donde un primer grupo modificador M está unido al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y un segundo grupo modificador está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En otra modalidad, el compuesto de la invención comprende la insulina humana o un análogo de insulina humana; y 2 grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo; y en donde un primer grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana, o al grupo épsilon amino de la lisina en un espaciador peptídico opcional en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y un segundo grupo modificador está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En otra modalidad, el compuesto de la invención comprende la insulina humana o un análogo de insulina humana; y 1 grupo modificador M, en donde el grupo modificador M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo; y en donde el grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana, o al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

En una modalidad, la invención se refiere a compuestos que se seleccionan independientemente del grupo de compuestos de los ejemplos 181, 205, 210, 211, 227, 233, 234, 239, 240, 241, 272, 273, 280, 284, 285, 288, 291, 300, 301, 324, 327, 331, 333 y 335.

En una modalidad, la invención se refiere a compuestos que se seleccionan independientemente del grupo de compuestos de los ejemplos 181, 205, 210, 211, 227, 233, 234, 239, 240, 241, 272, 273, 280, 285, 288, 291, 300, 301, 327, 331, 333 y 335.

En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del Ejemplo 181. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 205. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 210. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 211. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 227. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 233. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 234. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 239. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 240. En una modalidad, el compuesto de la

invención es el compuesto del 241. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 272. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 273. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 280. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 284. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 285. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 288. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 291. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 300. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 301. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 324. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 327. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 331. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 333. En una modalidad, el compuesto de la invención es el compuesto del 335.

Productos intermedios

La invención proporciona además un producto intermedio en la forma de un nuevo análogo de insulina o un análogo de insulina que comprende un espaciador peptídico.

Por lo tanto, la invención también se refiere a productos intermedios que se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:

insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 16);

insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 17);

insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 18);

insulina humana A22K B22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 20);

insulina humana A21Q (GES)3K desB30 (SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A21Q (GES)6K desB30 (SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A21Q (GES)12K desB30 (SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 21);

insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 22);

insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 23);

insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 24);

insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 25);

insulina humana B1-GKPG desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 26);

insulina humana B1-GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 27); e

insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 28).

Función de la insulina

La afinidad de unión relativa de los análogos de insulina por el receptor de insulina humana (IR) puede determinarse por la unión competitiva en un ensayo de centelleo por proximidad (SPA) como se describe en el Ejemplo B.

En una modalidad, los compuestos de la invención tienen la capacidad de unirse al receptor de insulina. En una modalidad, los compuestos de la invención tienen mayor afinidad por el receptor de insulina en presencia de 20 mM de glucosa que cuando no hay glucosa presente.

El ensayo de fosforilación de AKT descrito en el Ejemplo C y el ensayo de lipogénesis descrito en el Ejemplo D pueden usarse como una medida de la actividad funcional (agonista) de un análogo de insulina.

Composición farmacéutica

La invención se refiere, además, a las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención, que incluye por ejemplo un análogo de la invención, o una sal, amida o éster farmacéuticamente aceptables de este y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Tales composiciones pueden prepararse como se conoce en la técnica.

El término "excipiente" se refiere, en un sentido amplio, a cualquier componente aparte del (de los) ingrediente(s) terapéutico(s) activo(s). El excipiente puede ser una sustancia inerte, una sustancia inactiva, y/o una sustancia no activa medicinalmente. El excipiente puede servir para diversos fines, por ejemplo como un portador, vehículo, diluyente, y/o para mejorar la administración y/o la absorción de la sustancia activa. Los ejemplos no limitantes de los excipientes son: disolventes, diluyentes, amortiguadores, conservantes, agentes reguladores de la tonicidad, agentes quelantes y estabilizadores. En la técnica se conoce la formulación de ingredientes farmacéuticamente activos con diversos excipientes, véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (por ejemplo, 21a edición (2005) y cualquiera de las últimas ediciones).

Una composición de la invención puede estar en la forma de una formulación líquida, es decir una formulación acuosa que comprende agua. Una formulación líquida puede ser una solución o una suspensión. Una composición de la invención puede ser para la administración parenteral, por ejemplo llevada a cabo mediante inyección subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa.

Los compuestos de aril boro generalmente tienen baja estabilidad en soluciones acuosas a pH cercano al valor neutro. El enlace C-B puede hidrolizarse para proporcionar el residuo fenilo y el borato libre, Ph-H + $B(OH)_3$, o el compuesto puede oxidarse para proporcionar el residuo fenólico + borato libre, Ph-OH + $B(OH)_3$. Se ha descubierto que determinados compuestos de diboro preferidos y conjugados de insulina y diboro de la invención son más estables que otros aril-boros de la invención y aril-boros en general. La estabilidad puede

evaluarse, por ejemplo, al medir la pureza de los derivados de insulina después de permanecer en solución acuosa a pH neutro a 25° o 37° Celsius por un período prolongado de tiempo, por ejemplo, una semana.

Indicaciones farmacéuticas

Diabetes

El término “diabetes” o “diabetes mellitus” incluye diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes gestacional (durante el embarazo) y otros estados que provocan hiperglucemia. El término se usa para un trastorno metabólico en el que el páncreas produce cantidades insuficientes de insulina, o en el que las células del cuerpo no responden adecuadamente a la insulina, lo que impide, por lo tanto, que las células absorban glucosa. Como resultado, la glucosa se acumula en la sangre.

La diabetes tipo 1, también llamada diabetes mellitus insulinodependiente (IDDM) y diabetes de comienzo juvenil, la provoca la destrucción de las células beta, lo que conduce usualmente a una deficiencia absoluta de insulina.

La diabetes tipo 2, también conocida como diabetes mellitus no insulinodependiente (NIDDM) y diabetes de comienzo en el adulto, se asocia con la resistencia predominante a la insulina y, por lo tanto, con la deficiencia relativa de insulina y/o con un defecto predominantemente en la secreción de insulina con resistencia a la insulina.

Otras indicaciones

En una modalidad, un compuesto de acuerdo con la invención se usa para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la hiperglucemia que incluye hiperglucemia inducida por estrés, diabetes tipo 2, intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 1.

En otra modalidad, un compuesto de acuerdo con la invención se usa como un medicamento para retrasar o impedir la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2.

En una modalidad de la invención, el compuesto es para su uso como un medicamento para el tratamiento o la prevención de la hiperglucemia que incluye hiperglucemia inducida por estrés, diabetes tipo 2, intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 1.

En una modalidad adicional, la invención se refiere a un método para el tratamiento o la prevención de la hiperglucemia que incluye hiperglucemia inducida por estrés, diabetes tipo 2, intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 1, el método comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz para el tratamiento de un compuesto de acuerdo con la invención.

Modo de administración

El término “tratamiento” pretende incluir tanto la prevención como la reducción al mínimo de la enfermedad, trastorno o afección a la que se hace referencia (es decir, "tratamiento" se refiere a la administración tanto profiláctica como terapéutica de un compuesto de la

presente invención o una composición que comprende un compuesto de la presente invención a menos que se indique de otra forma o claramente se contradiga por el contexto).

La vía de administración puede ser cualquier vía que transporta eficazmente un compuesto de esta invención al lugar deseado o adecuado en el cuerpo, tal como por vía parenteral, por ejemplo, por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa.

Para la administración parenteral, un compuesto de esta invención se formula de forma análoga a la formulación de las insulinas conocidas. Además, para la administración parenteral, un compuesto de esta invención se administra de forma análoga a la administración de las insulinas conocidas y los médicos están familiarizados con este procedimiento.

La cantidad de un compuesto de esta invención a administrar, la determinación de con qué frecuencia administrar un compuesto de esta invención y la elección de qué compuesto o compuestos de esta invención administrar, opcionalmente junto con otro compuesto antidiabético, se decide en consulta con un profesional que esté familiarizado con el tratamiento de la diabetes.

Aunque determinadas características de la invención se han ilustrado y descrito en la presente descripción, muchas modificaciones, sustituciones, cambios y equivalentes serán evidentes para los expertos en la técnica. Por lo tanto, debe entenderse que las modalidades adjuntas se destinan a cubrir todas estas modificaciones y cambios ya que caen dentro del verdadero espíritu de la invención.

MODALIDADES

La invención se describe adicionalmente mediante las siguientes modalidades no limitantes de la invención:

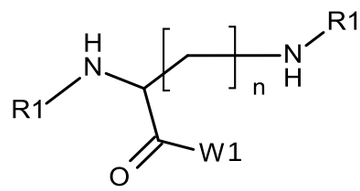
1 Un compuesto que comprende

i). insulina humana o un análogo de insulina humana; y

ii). uno o más grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M comprende dos restos arilo, en donde un átomo de boro está unido a cada uno de los dos restos arilo; y

en donde cada uno de los uno o más grupos modificadores M está unido, opcionalmente mediante un espaciador, al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A o la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana o al grupo épsilon amino de una lisina en dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

2 El compuesto de acuerdo con la modalidad 1, en donde cada uno de los grupos modificadores M se selecciona independientemente del grupo de



Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y

en donde n representa un número entero en el intervalo de 1 a 4;

en donde W1 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W1 representa

$NH\text{-}CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

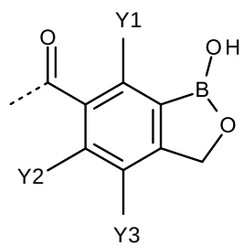
la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

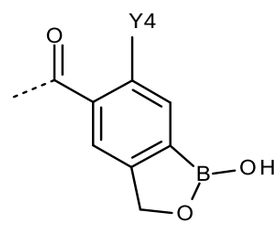
la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$, o

$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}(CH_2)_2\text{-}O\text{-}(CH_2)_2\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}*$,

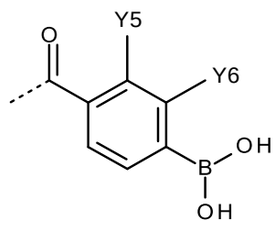
en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R1 se selecciona de



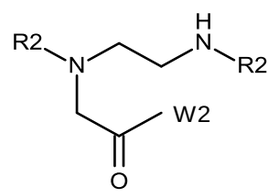
Fórmula R1a , 

Fórmula R1b y



Fórmula R1c ,

en donde Y1, Y2, Y3, Y4, Y5 y Y6 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3;

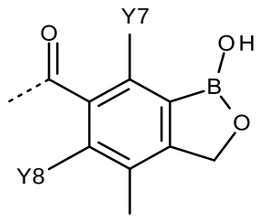


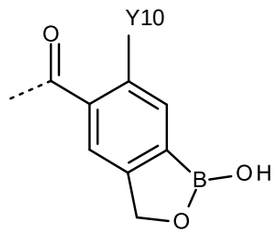
Fórmula M2

en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W2 representa la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}$

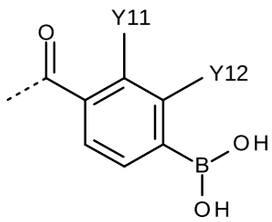
C(=O)-* o NH-$CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R2 se selecciona de

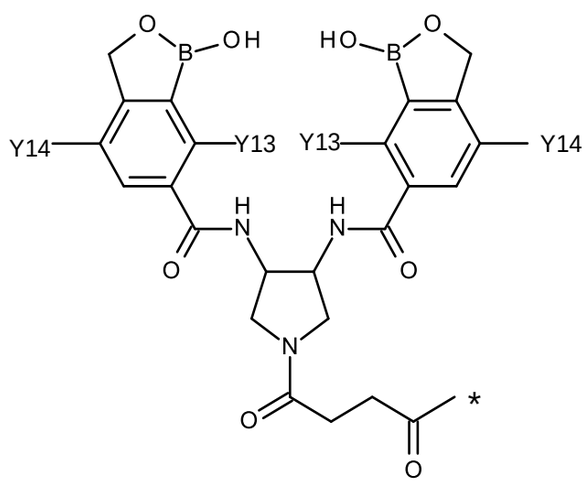
Fórmula R2a 

, Fórmula R2b 

y

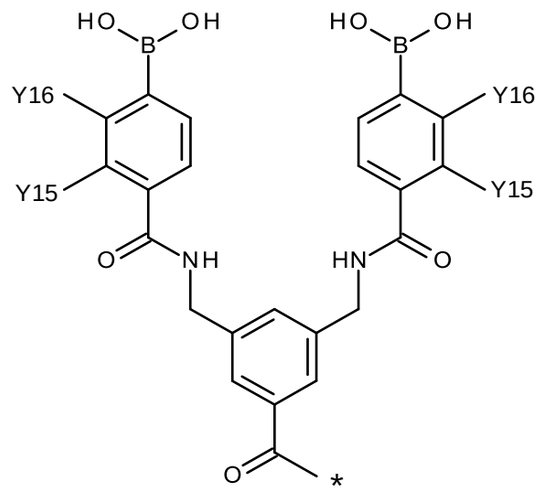
Fórmula R2c 

en donde Y7, Y8, Y9, Y10, Y11 y Y12 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3;

Fórmula M3 

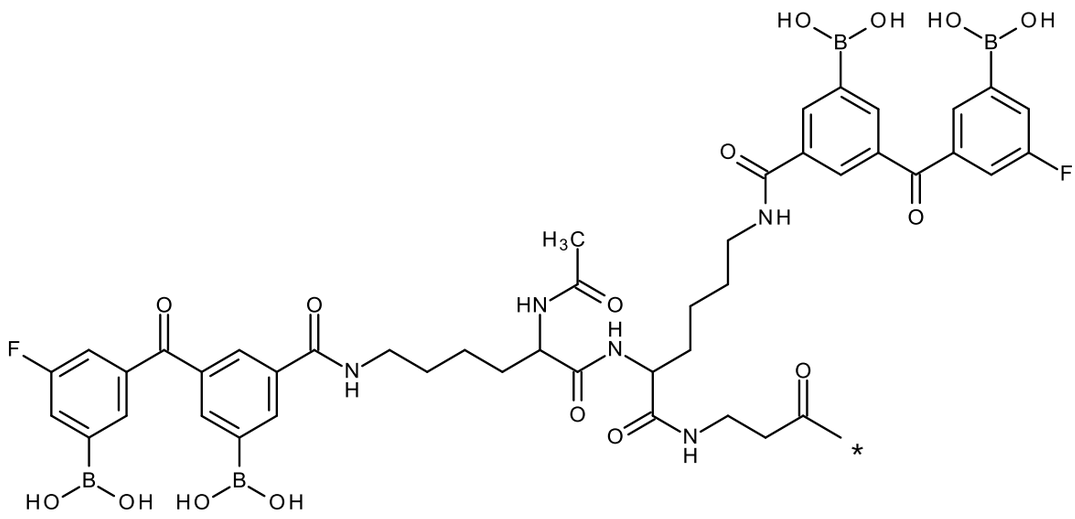
,

que representa un estereoisómero *R,R o S,S o R,S* de la 3,4-diamino-pirrolidina; y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y13 y Y14 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3;



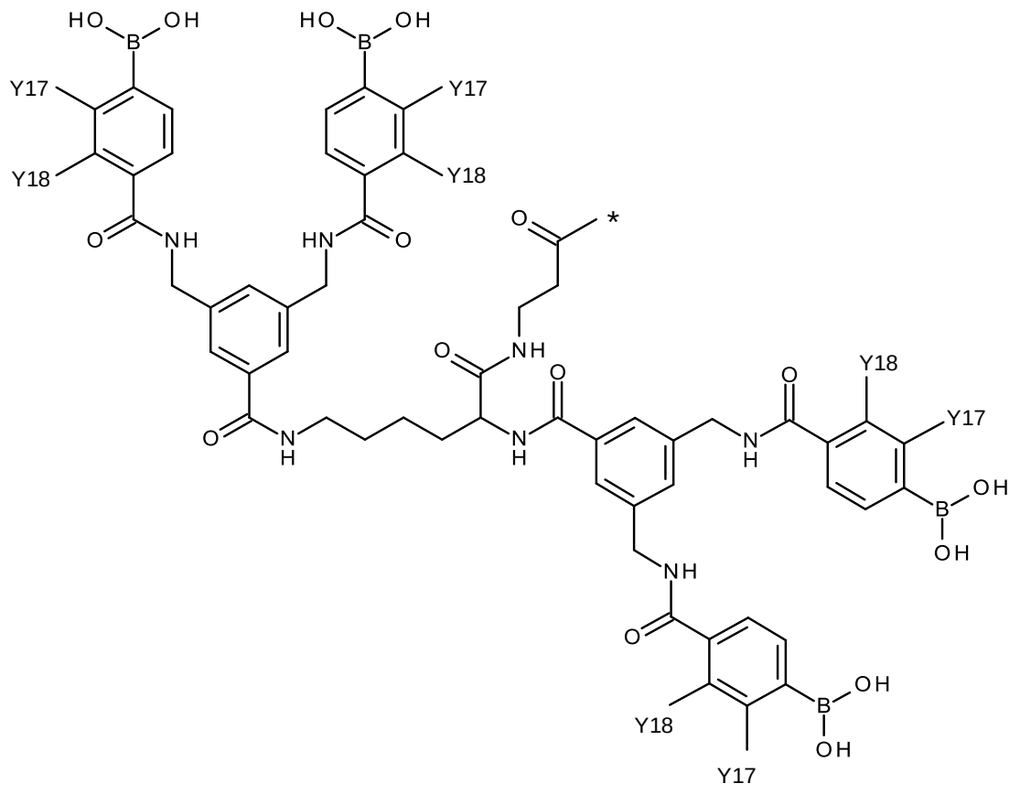
Fórmula M4 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde Y15 y Y16 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3;



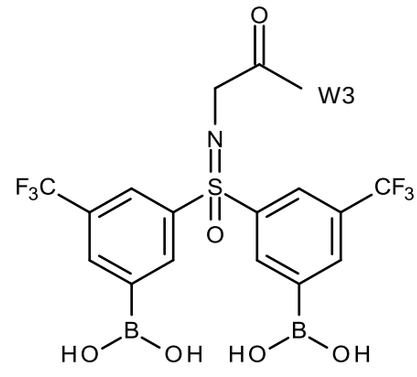
Fórmula M5,

en donde cada uno de los residuos de aminoácidos representa independientemente la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;



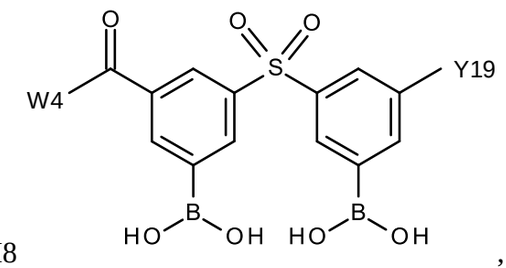
Fórmula M6,

en donde el α–residuo de aminoácido representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y17 y Y18 se seleccionan independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3;



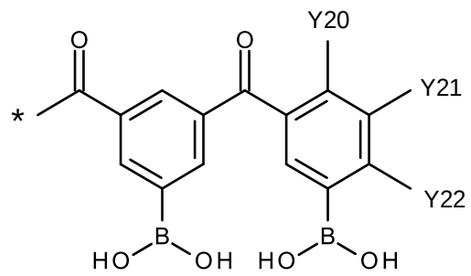
Fórmula M7 ,

en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;



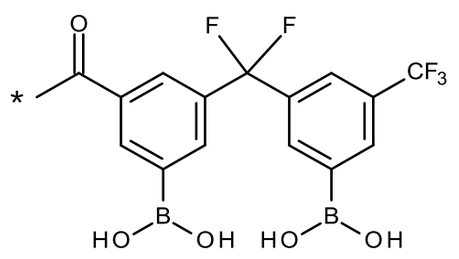
Fórmula M8 ,

en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es H, F, Cl, CHF_2 y CF_3 o SF_5;

Fórmula M9 

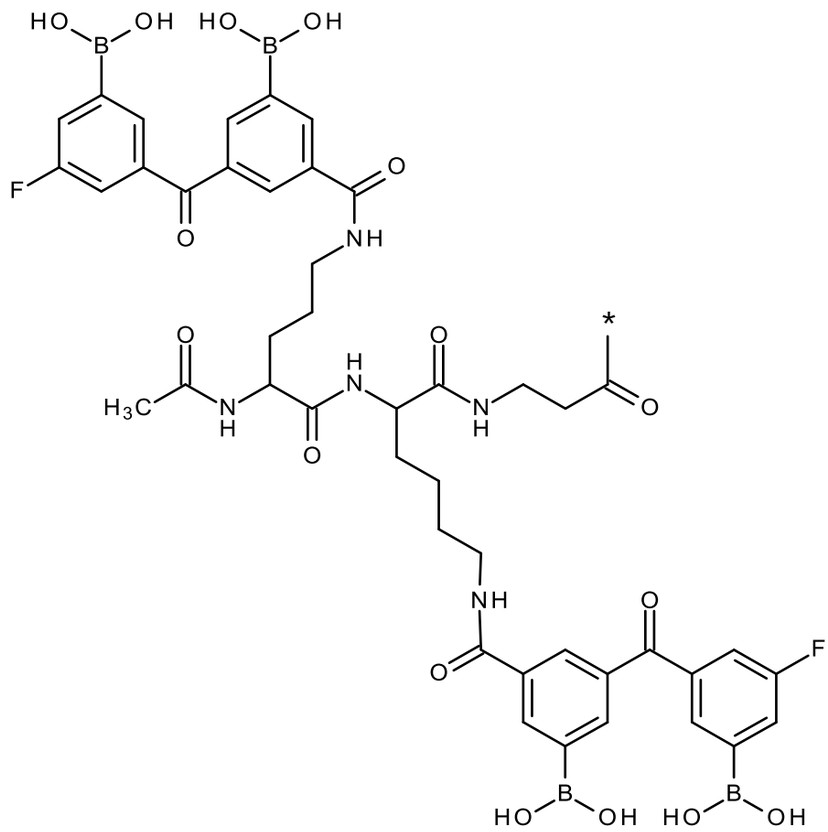
,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H, F, Cl, CHF_2 y CF_3;

Fórmula M10 

,

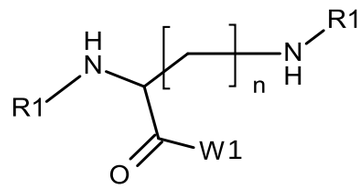
en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y



Fórmula M11,

en donde cada uno de los residuos de aminoácidos representa independientemente la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

3 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 2, en donde cada uno de los grupos modificadores M se selecciona independientemente del grupo de



Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y

en donde n representa un número entero en el intervalo de 1 a 4;

en donde W1 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W1 representa

$NH\text{-}CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

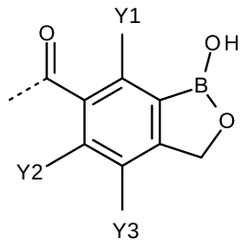
la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

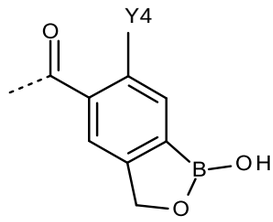
la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$, o

$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}(CH_2)_2\text{-}O\text{-}(CH_2)_2\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}*$,

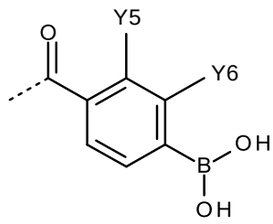
en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R1 se selecciona de



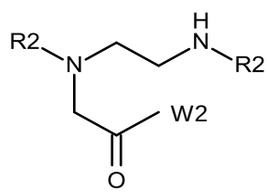
Fórmula R1a , Fórmula R1b 

y



Fórmula R1c ,

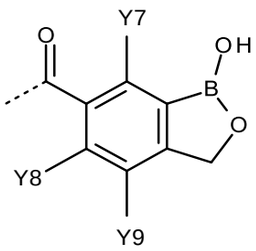
en donde Y1 y Y2 son H, y Y3 es F o CF_3; Y4 es H o F; y Y5 es H y Y6 es F;

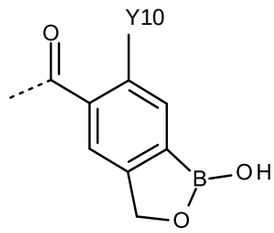


Fórmula M2 ,

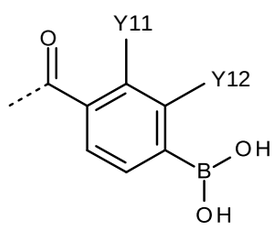
en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W2 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-* o NH-$CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R2 se selecciona de



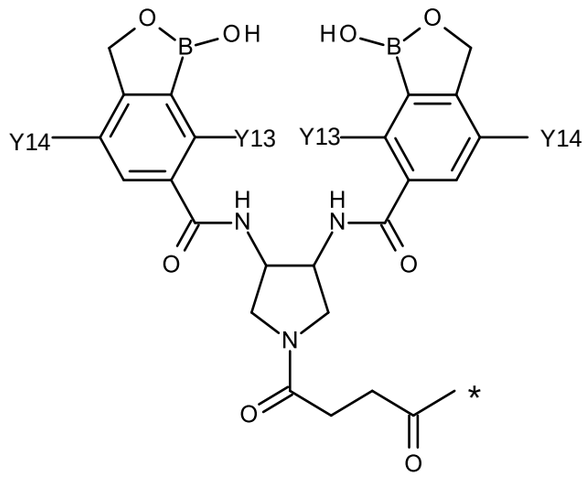
Fórmula R2a , Fórmula R2b 

y



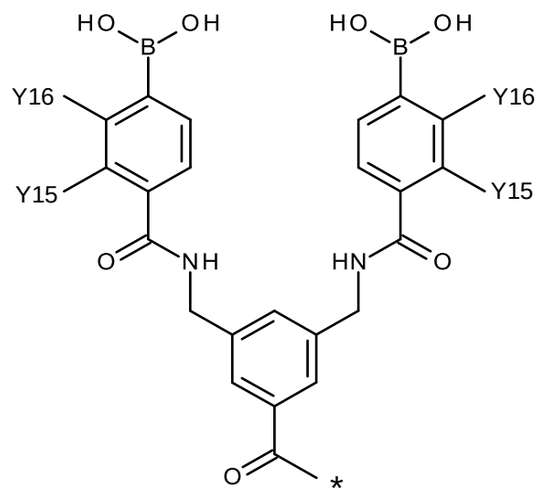
Fórmula R2c ,

en donde Y7 es H; Y8 es H, Cl, CHF_2 o CF3; Y9 es H, F o CF3; Y10 es F; Y11 es H; y Y12 es F; con la condición de que solo uno de Y8 y Y9 sea H;



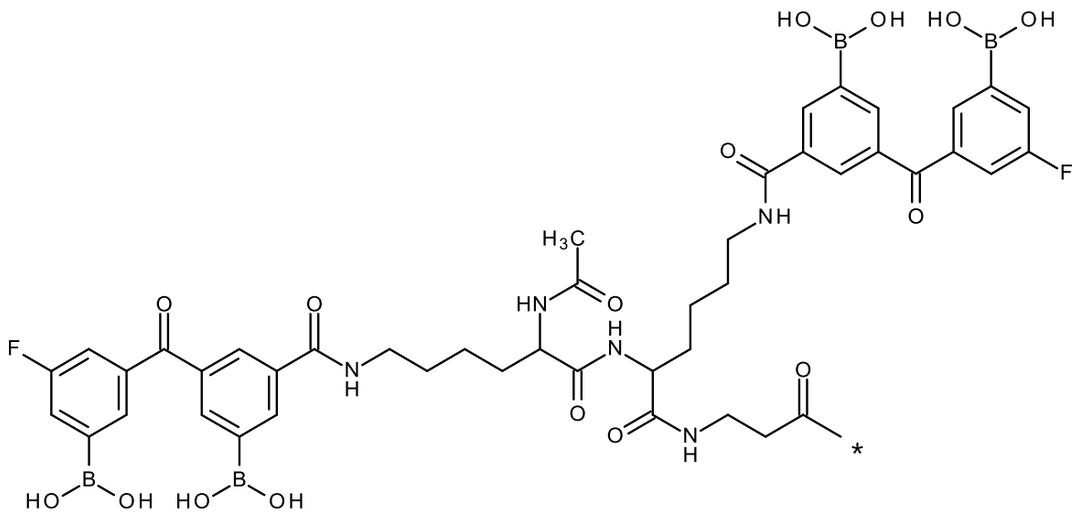
Fórmula M3 ,

que representa un estereoisómero *R,R o S,S o R,S* de la 3,4-diamino-pirrolidina; y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y13 es H o F; y Y14 es H o CF3; con la condición de que solo uno de Y13 y Y14 sea H;



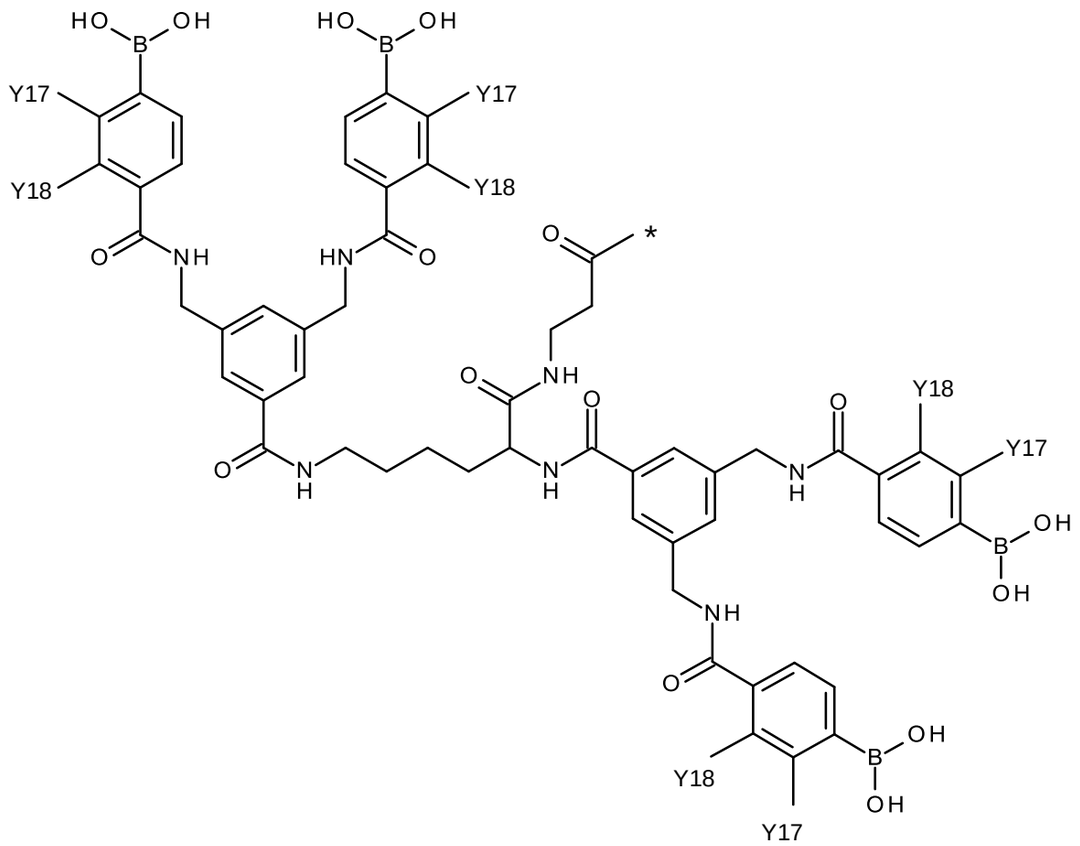
Fórmula M4 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde Y15 y Y16 se seleccionan independientemente de H y F;



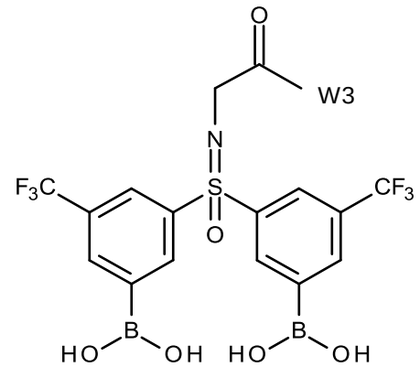
Fórmula M5,

que representa las formas de *D*- o *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;



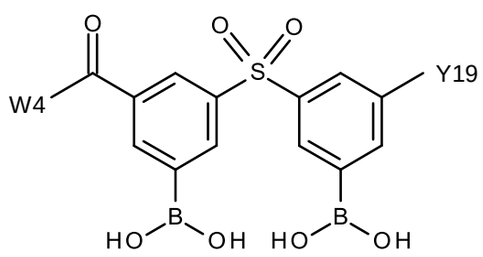
Fórmula M6,

en donde el residuo de α-aminoácido representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y17 es H o F; y Y18 es H o F;

Fórmula M7 

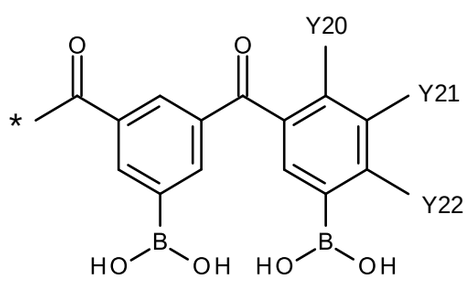
,

en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

Fórmula M8 

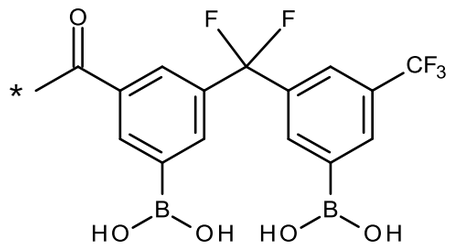
,

en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es CF_3 o SF_5;

Fórmula M9 

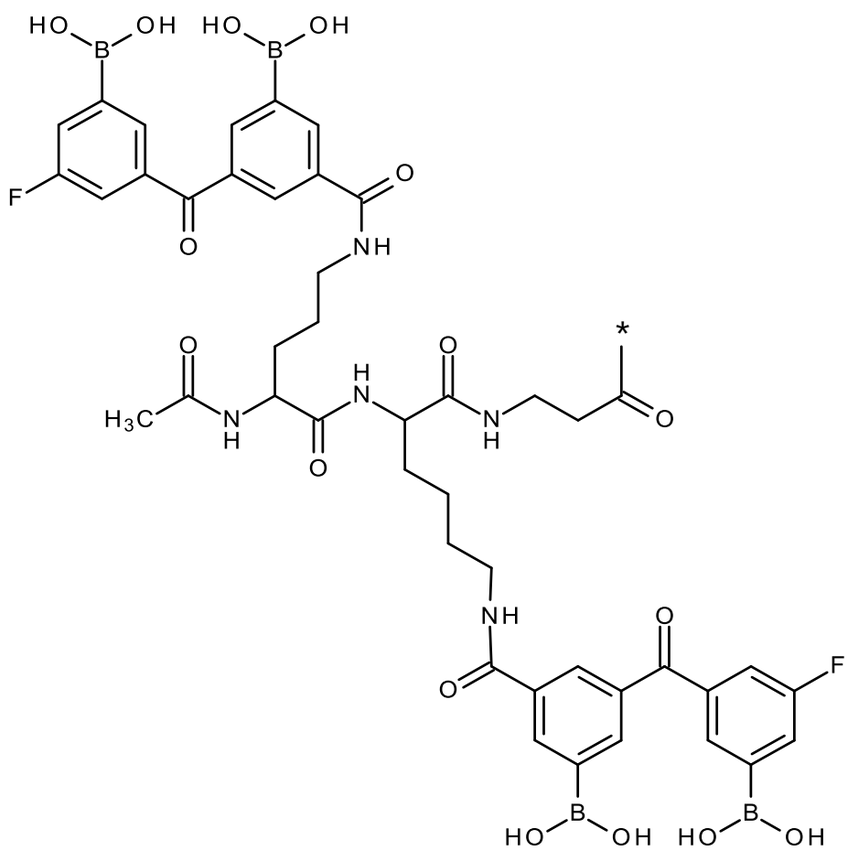
,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F;



Fórmula M10 ,

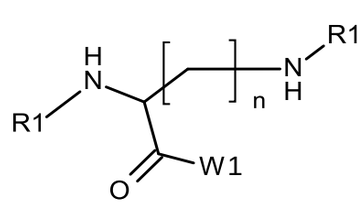
en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y



Fórmula M11,

en donde cada uno de los residuos de α-aminoácidos representa independientemente la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

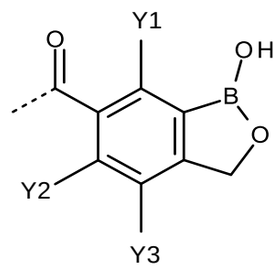
4 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 3, en donde cada uno de los grupos modificadores M se selecciona independientemente del grupo de



Fórmula M1 ,

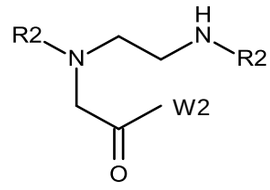
que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde n es 1;

W1 representa NH-CH_2CH_2-C(=O)-* o la forma *D*- o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

R1 es de Fórmula R1a 

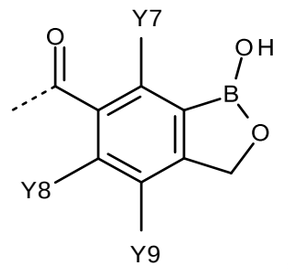
,

en donde Y1 y Y2 son H; y Y3 es F o CF_3;

Fórmula M2 

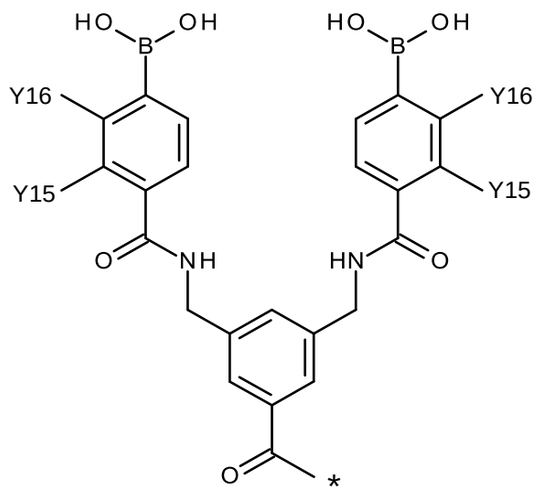
,

en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W2 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R2 es de Fórmula R2a 

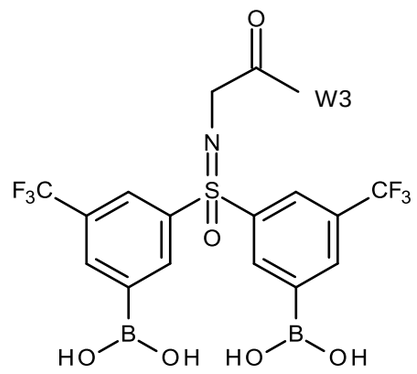
,

en donde Y7 y Y8 son H; y Y9 es Cl, CHF_2 o CF3;

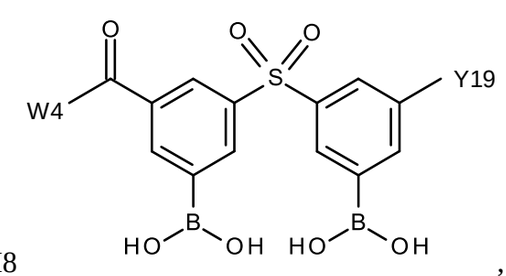
Fórmula M4 

,

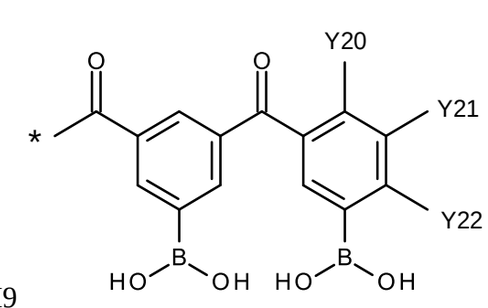
en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde Y15 es H y Y16 es F;

Fórmula M7  ,

en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

Fórmula M8  ,

en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es CF3; y

Fórmula M9  ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F.

5. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 4, en donde los grupos modificadores M son idénticos.

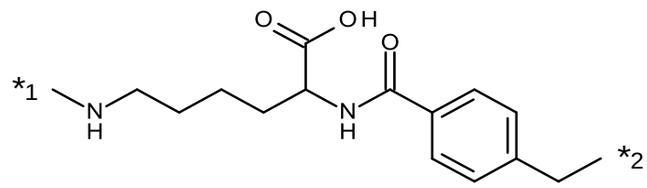
6. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 5, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana comprende opcionalmente un espaciador que se selecciona del grupo de

a) un espaciador peptídico en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana, en donde dicho espaciador peptídico comprende $(GES)_pK$, en donde p es un número entero de 3 a 12; o

b) un espaciador peptídico o un enlazador L en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

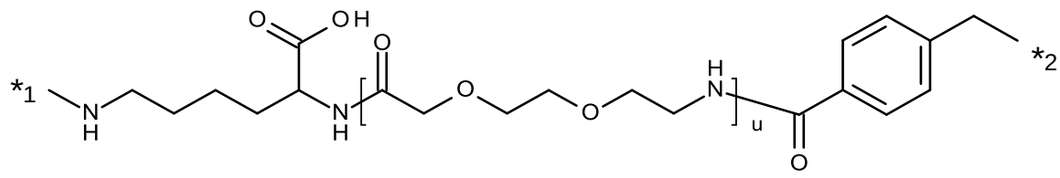
en donde dicho espaciador peptídico comprende GKPG, $GKP(G_4S)_q$, $KP(G_4S)_r$, $GKPRGFFYTP(G_4S)_s$ o $TYFFGRKPD(G_4S)_t$, en donde cada uno de q, r, s y t se selecciona independientemente de un número entero de 1 a 5; y

en donde dicho enlazador L se selecciona de



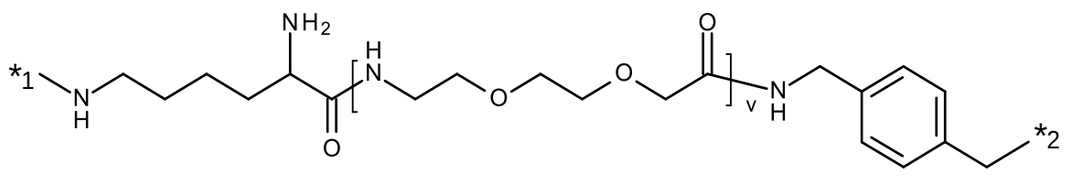
Fórmula L1

en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador M y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;



Fórmula L2

en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador M y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde u es 1, 2 o 3; y



Fórmula L3

en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador M y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde v es 2 o 3.

7 El compuesto de acuerdo con la modalidad 6, en donde q es un número entero que se selecciona de 1 a 3; r es 3; s es 2; y t es 3.

8 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 7, en donde los aminoácidos quirales están en la forma L.

9 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 8, en donde cada grupo modificador M está unido a un punto de unión que se selecciona de uno de los siguientes grupos:

a) el grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

b) el grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana; o

el grupo épsilon amino de la lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

c) el grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

el grupo épsilon amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B de dicho análogo de insulina humana;

el grupo épsilon amino de una lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; o

el grupo amino distal marcado con *1 en dicho enlazador L opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

d) el grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

10 El compuesto de acuerdo con la modalidad 9, en donde no más de un grupo modificador M está unido a un punto de unión dentro de cada uno de los grupos a), b), c) y d).

11 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 10, que tiene exactamente uno, dos, tres o cuatro grupos modificadores M.

12 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 10, que comprende al menos dos grupos modificadores M.

13 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 10, que tiene exactamente dos, tres o cuatro grupos modificadores M.

14 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 10, que tiene exactamente dos grupos modificadores M.

15 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 14, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana es un análogo de insulina humana que comprende desB30.

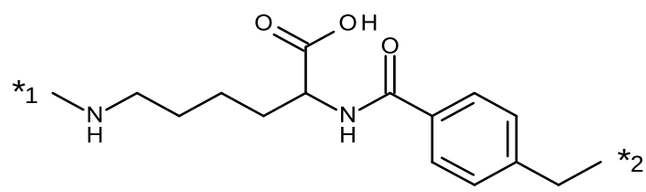
16 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 15, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana es un análogo de insulina humana que se selecciona del grupo de
insulina humana desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 11);
insulina humana A21Q desB30 (SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 11);
insulina humana A14E B25H desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 12);
insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 13);
insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 14);
insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 15);
insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 16);
insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 17);
insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 18);
insulina humana A22K desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 11);
insulina humana A22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 19);
insulina humana A22K B22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 20); e
insulina humana A-2K A-1P desB30 (SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 11).

17 Un compuesto de acuerdo con la modalidad 1, que comprende

i) insulina humana o un análogo de insulina humana, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana comprende opcionalmente un espaciador que se selecciona de un espaciador peptídico o un enlazador L en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

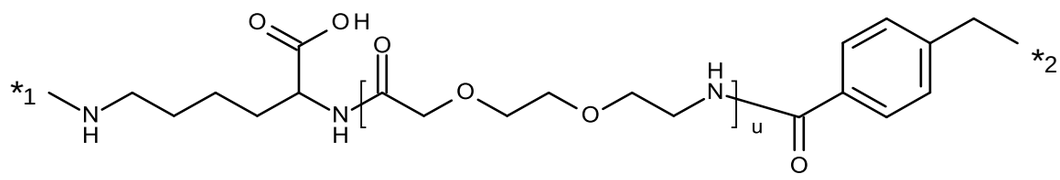
en donde dicho espaciador peptídico comprende GKPG, GKP$(G_4S)_q$, KP$(G_4S)_r$, GKPRGFFYTP$(G_4S)_s$ o TYFFGRKPD$(G_4S)_t$, en donde cada uno de q, r, s y t se selecciona independientemente de un número entero de 1 a 5; y

en donde dicho enlazador L se selecciona de



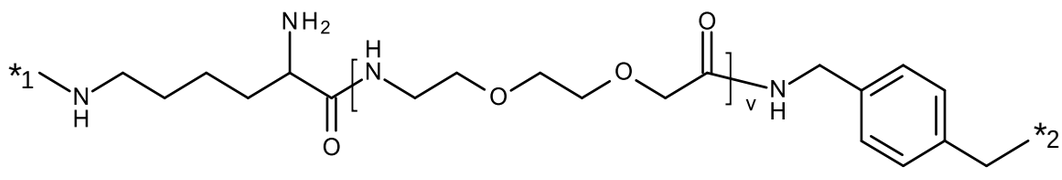
Fórmula L1,

en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador M y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;



Fórmula L2,

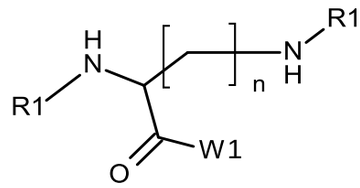
en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador M y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde u es 1, 2 o 3; y



Fórmula L3,

en donde *1 denota el punto de unión al grupo modificador M y *2 denota el punto de unión al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde v es 2 o 3;

ii) dos, tres o cuatro grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M se selecciona independientemente del grupo de



Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y

en donde n representa un número entero en el intervalo de 1 a 4;

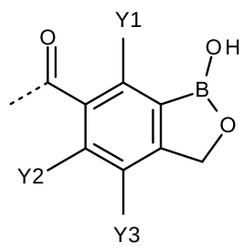
en donde W1 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W1 representa

NH-CH_2CH_2-C(=O)-*,

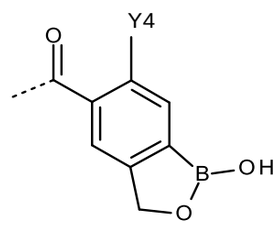
la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

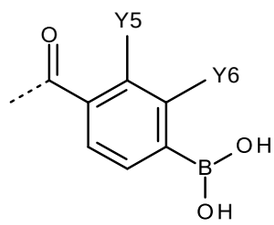
en donde R1 se selecciona de



Fórmula R1a ,

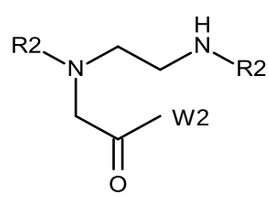


Fórmula R1b y



Fórmula R1c ,

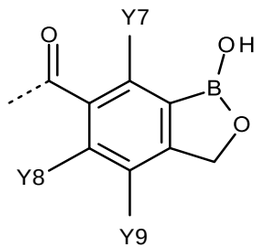
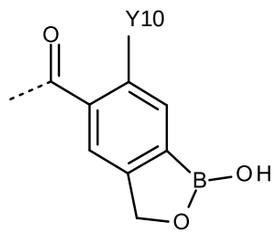
en donde Y1 y Y2 es H, y Y3 es F o CF_3; Y4 es F; y Y5 es H y Y6 es F;

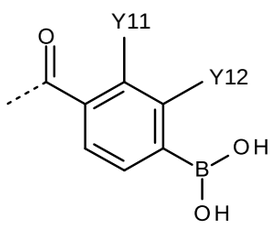


Fórmula M2

en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W2 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

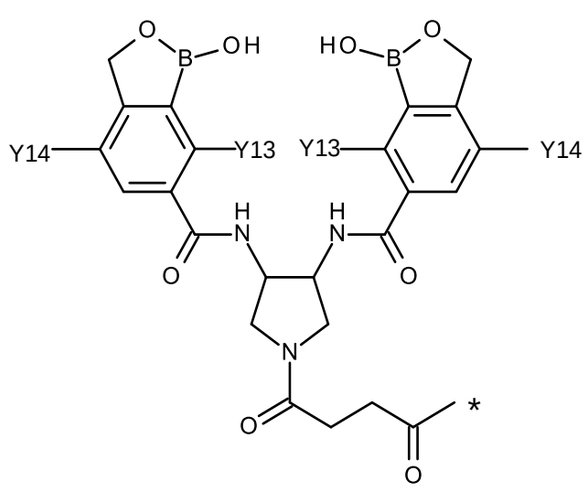
en donde R2 se selecciona de

Fórmula R2a  , Fórmula R2b  y



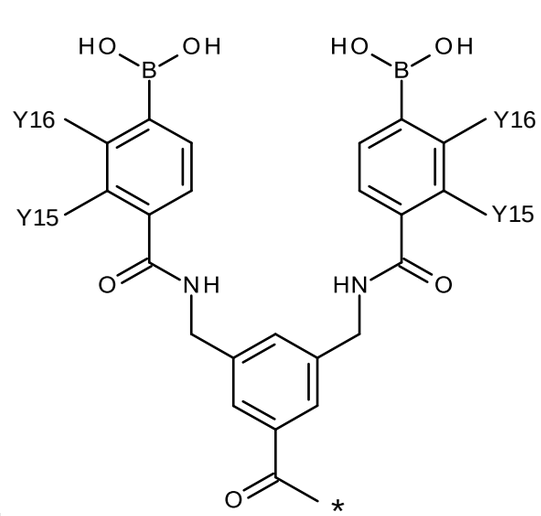
Fórmula R2c ,

en donde Y7 es H; Y8 es H, Cl, CHF_2 o CF3; Y9 es H, F o CF3; Y10 es F; Y11 es H; y Y12 es F; con la condición de que solo uno de Y8 y Y9 sea H;



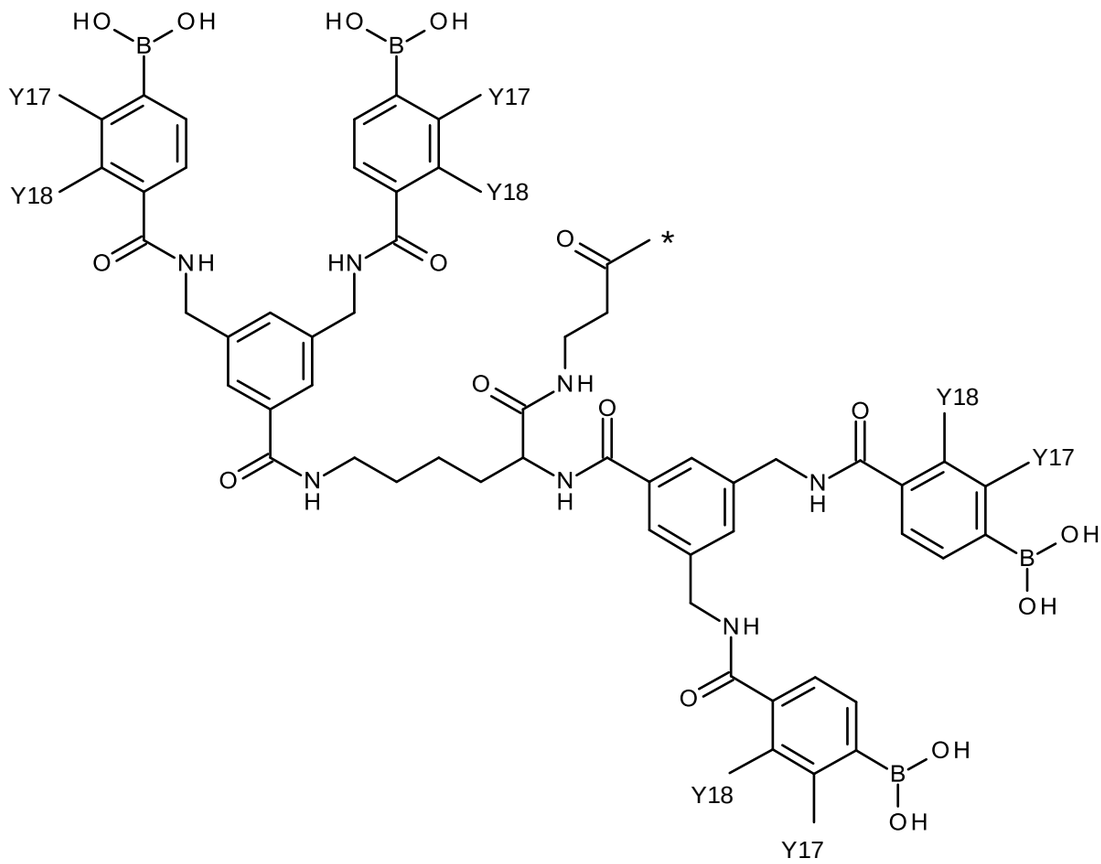
Fórmula M3 ,

que representa un estereoisómero *R,R o S,S o R,S o* de la 3,4-diamino-pirrolidina; y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y13 es H o F; y Y14 es H o CF3; con la condición de que solo uno de Y13 y Y14 sea H;



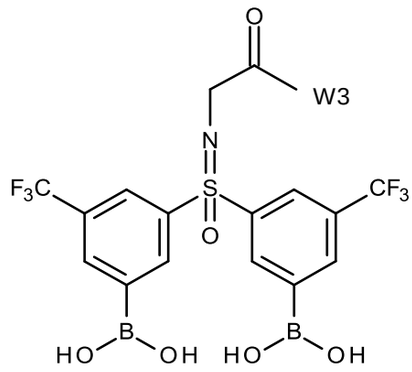
Fórmula M4 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde Y15 es H y Y16 es F;



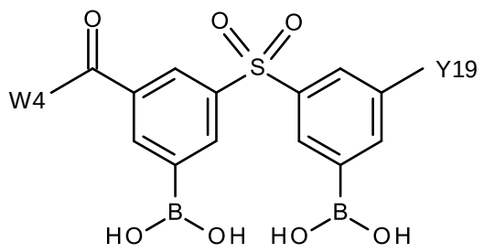
Fórmula M6,

en donde el residuo de α-aminoácido representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y17 es F; y Y18 es H;

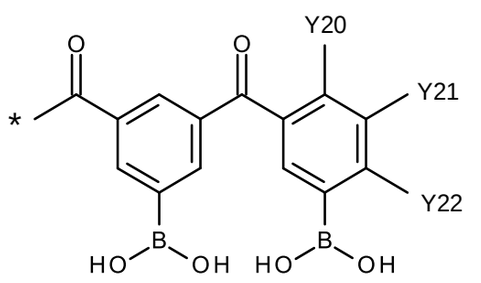
Fórmula M7 

,

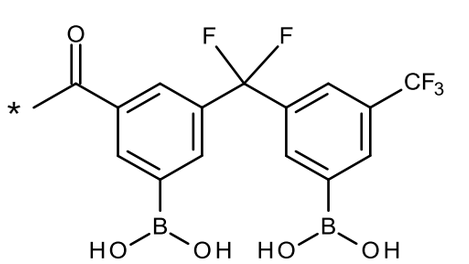
en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

Fórmula M8  ,

en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es CF_3 o SF_5;

Fórmula M9  ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F; y

Fórmula M10  ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde cada grupo modificador M está unido a un punto de unión que se selecciona de uno de los siguientes grupos:

a) el grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

b) el grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana; o

el grupo épsilon amino de la lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

c) el grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

el grupo épsilon amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B de dicho análogo de insulina humana;

el grupo épsilon amino de una lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; o

el grupo amino distal marcado con *1 en dicho enlazador L opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

d) el grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana,

en donde un grupo modificador M está unido a uno de los puntos de unión c) y un grupo modificador M está unido al punto de unión d).

18 Un compuesto de acuerdo con la modalidad 17, en donde no más de un grupo modificador M está unido a un punto de unión dentro de cada uno de los grupos a), b), c) y d).

19 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 18, en donde el compuesto tiene exactamente dos grupos modificadores M, en donde un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y un grupo modificador M está unido al

grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

el grupo épsilon amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B de dicho análogo de insulina humana;

el grupo épsilon amino de una lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; o

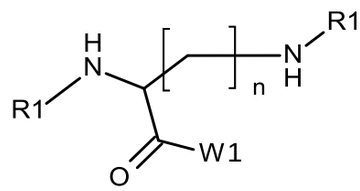
el grupo amino distal marcado con *1 en dicho enlazador L opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

20 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 19, que comprende

i) insulina humana o un análogo de insulina humana, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana comprende opcionalmente un espaciador peptídico en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

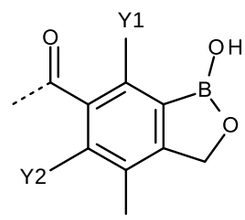
en donde dicho espaciador peptídico comprende GKPG, $GKP(G_4S)_q$, $KP(G_4S)_r$, $GKPRGFFYTP(G_4S)_s$ o $TYFFGRKPD(G_4S)_t$, en donde q es un número entero de 1 a 3; r es 3; s es 2 y t es 3;

ii) dos grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M se selecciona independientemente del grupo de



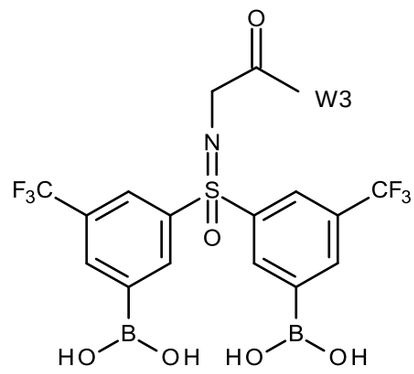
Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde n es 1; W1 representa NH-CH_2CH_2-C(=O)-*, o la forma D o L de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y
en donde R1 es de



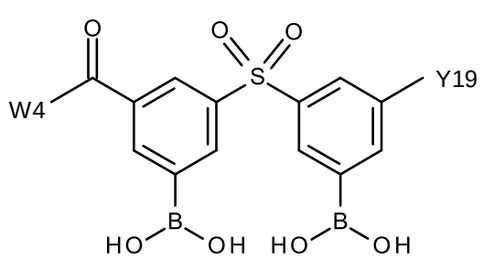
Fórmula R1a ,

en donde Y1 y Y2 es H, y Y3 es CF_3;



Fórmula M7 ,

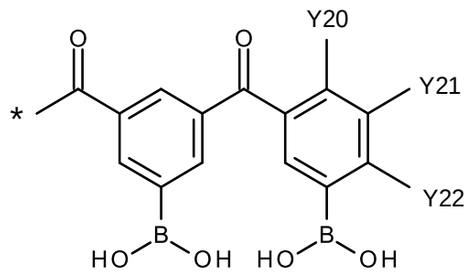
en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;



Fórmula M8 ,

en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el

punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es CF_3;



Fórmula M9 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F; y

en donde un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y un grupo modificador M está unido al

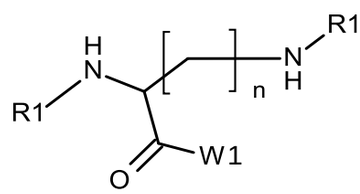
grupo épsilon amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B de dicho análogo de insulina humana; o

el grupo épsilon amino de una lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

21 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 20, que comprende

i) un análogo de insulina humana, en donde dicho análogo de insulina humana comprende un espaciador peptídico en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; en donde dicho espaciador peptídico comprende $GKP(G_4S)_q$ o $KP(G_4S)_r$, en donde q es un número entero de 1 a 3; y r es 3;

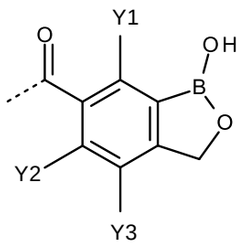
ii) dos grupos modificadores M, que se seleccionan independientemente del grupo de



Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde n es 1; W1 representa $NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$, o la forma D o L de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R1 es de



Fórmula R1a ,

en donde Y1 y Y2 es H, y Y3 es CF_3;

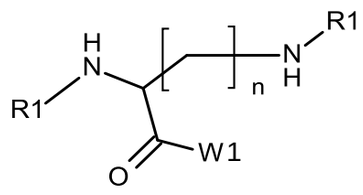
en donde un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de la lisina en dicho espaciador peptídico; y un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

22 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17-21, que consiste en

i) un análogo de insulina humana, en donde dicho análogo de insulina humana comprende opcionalmente un espaciador peptídico en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

en donde dicho espaciador peptídico comprende GKPG, $GKP(G_4S)_q$, $KP(G_4S)_r$, $GKPRGFFYTP(G_4S)_s$ o $TYFFGRKPD(G_4S)_t$, en donde q es un número entero de 1 a 3; r es 3; s es 2 y t es 3;

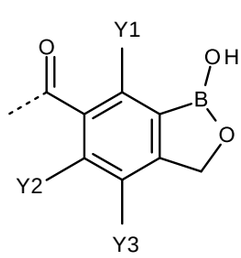
ii) dos grupos modificadores M, en donde cada uno de los grupos modificadores M se selecciona independientemente del grupo de



Fórmula M1 ,

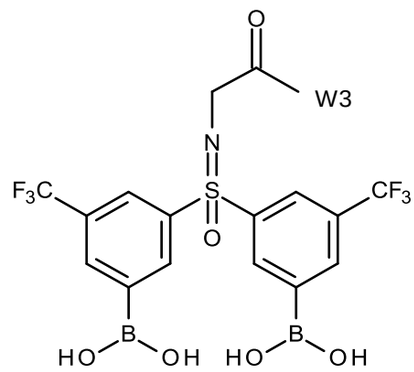
que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde n es 1; W1 representa NH-CH_2CH_2-C(=O)-*, o la forma D o L de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R1 es de



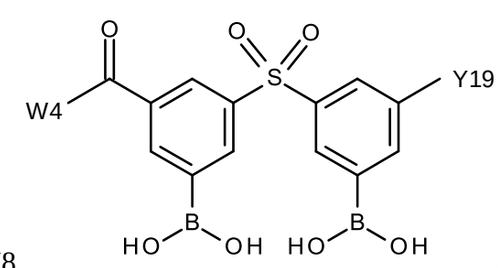
Fórmula R1a ,

en donde Y1 y Y2 es H, y Y3 es CF_3;



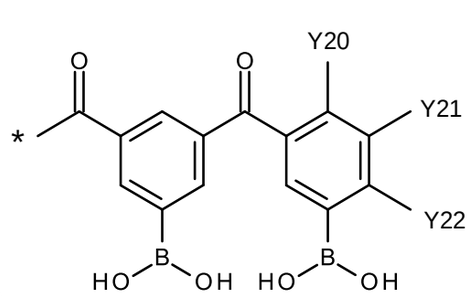
Fórmula M7 ,

en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;



Fórmula M8 ,

en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es CF_3;



Fórmula M9 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F; y

en donde un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

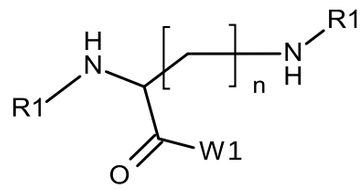
un grupo modificador M está unido a:

el grupo épsilon amino de un residuo de lisina en la posición 1 o la posición 4 de la cadena B de dicho análogo de insulina humana, o
el grupo épsilon amino de una lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

23 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 22, que consiste en

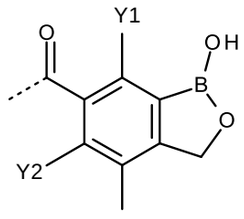
i) un análogo de insulina humana, en donde dicho análogo de insulina humana tiene un espaciador peptídico en el extremo N de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; en donde dicho espaciador peptídico es $GKP(G_4S)_q$ o $KP(G_4S)_r$, en donde q es un número entero de 1 a 3; y r es 3;

ii) dos grupos modificadores M, que se seleccionan independientemente del grupo de



Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde n es 1; W1 representa NH-CH_2CH_2-C(=O)-*, o la forma D o L de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y
en donde R1 es de



Fórmula R1a ,

en donde Y1 y Y2 es H, y Y3 es CF_3;

en donde un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de la lisina en dicho espaciador peptídico; y un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

24. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 23, en donde los aminoácidos quirales están en la forma L.

25 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 24, en donde el compuesto tiene exactamente 2 grupos modificadores M.

26 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 25, en donde los grupos modificadores M son idénticos.

27 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 26, en donde dicho análogo de insulina humana comprende desB30.

28 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 27, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana es un análogo de insulina humana que se selecciona del grupo de
insulina humana desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 11);
insulina humana A14E B25H desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 12);
insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 13);
insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 16);
insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 17);
insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 18);
insulina humana A22K desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 11);
insulina humana A22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 19); y
insulina humana A22K B22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 20).

29. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 28, en donde dicho análogo de insulina humana que comprende dicho espaciador se selecciona del grupo de
insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 21);
insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 22);
insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 23);
insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 24); e
insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 25).

30. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 29, en donde el compuesto se selecciona del grupo de:
El compuesto del Ejemplo 280; el compuesto del Ejemplo 284; el compuesto del Ejemplo 285; el compuesto del Ejemplo 288; el compuesto del Ejemplo 291; el compuesto del Ejemplo 300; el compuesto del Ejemplo 301; el compuesto del Ejemplo 324; el compuesto

del Ejemplo 327; el compuesto del Ejemplo 331; el compuesto del Ejemplo 333; y el compuesto del Ejemplo 335.

31 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 30, en donde el compuesto se selecciona del grupo de:

El compuesto del Ejemplo 280; el compuesto del Ejemplo 285; el compuesto del Ejemplo 288; el compuesto del Ejemplo 291; el compuesto del Ejemplo 300; el compuesto del Ejemplo 301; el compuesto del Ejemplo 327; el compuesto del Ejemplo 331; el compuesto del Ejemplo 333; y el compuesto del Ejemplo 335.

32 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 280.

33 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 284.

34 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 285.

35 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 288.

36 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 291.

37 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 300.

38 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 301.

39 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 324.

40 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 327.

41 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 331.

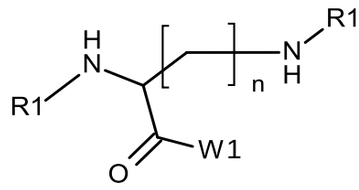
42 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 333.

43 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 17 a 31, en donde el compuesto es el compuesto del Ejemplo 335.

44 Un compuesto de acuerdo con la modalidad 1, que comprende

i) insulina humana o un análogo de insulina humana;

ii) dos grupos modificadores M, que se seleccionan independientemente del grupo de



Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y

en donde n representa un número entero en el intervalo de 1 a 4;

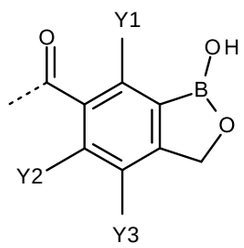
en donde W1 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W1 representa

$NH\text{-}CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

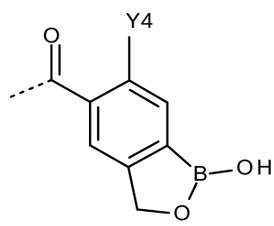
$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

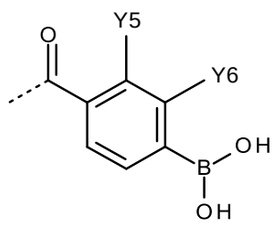
en donde R1 se selecciona de



Fórmula R1a ,

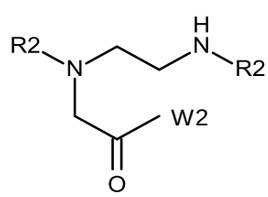


Fórmula R1b y



Fórmula R1c ,

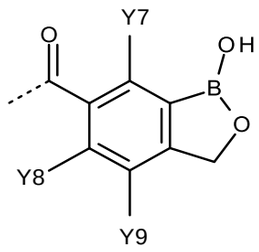
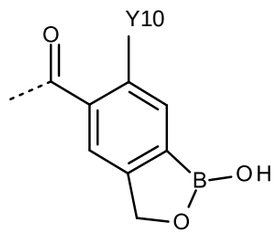
en donde Y1 y Y2 son H, y Y3 es F o CF_3; Y4 es H o F; y Y5 es H y Y6 es F;

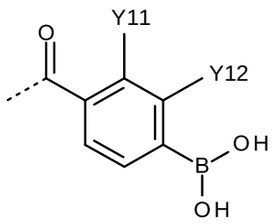


Fórmula M2

en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

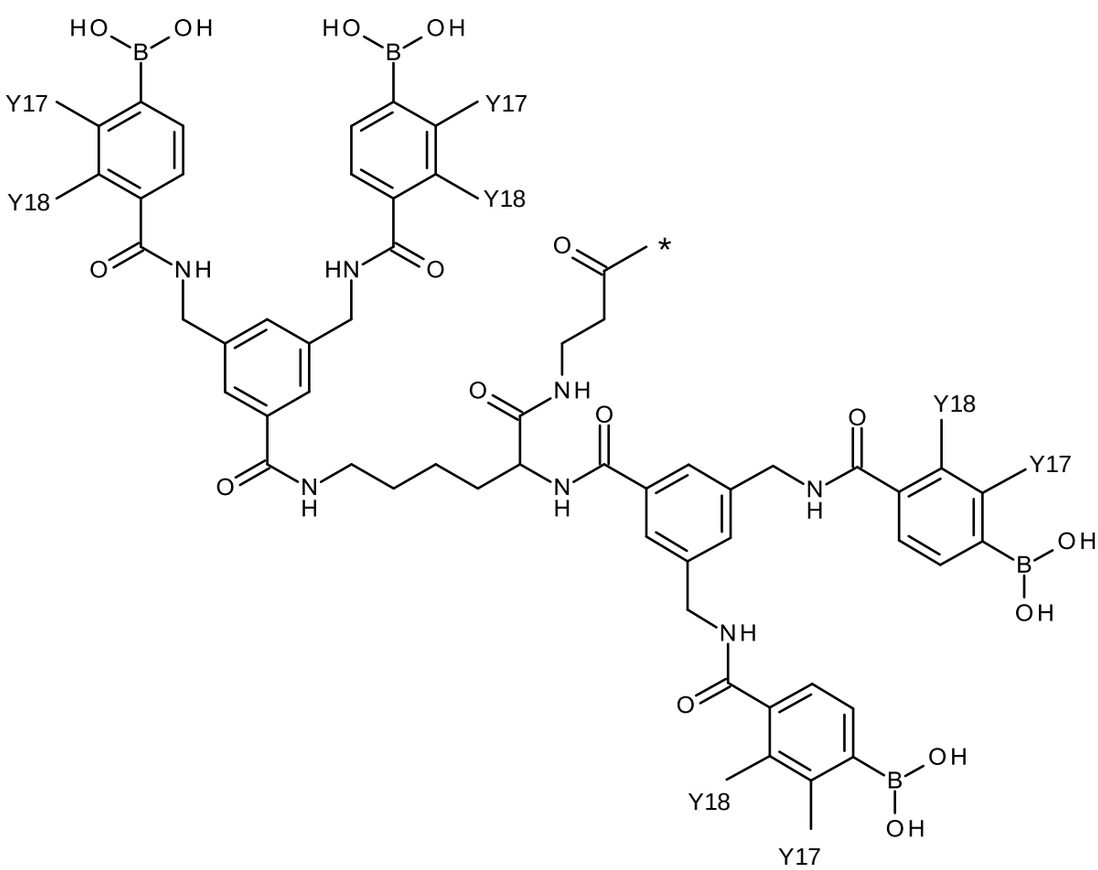
en donde R2 se selecciona de

Fórmula R2a  , Fórmula R2b  y



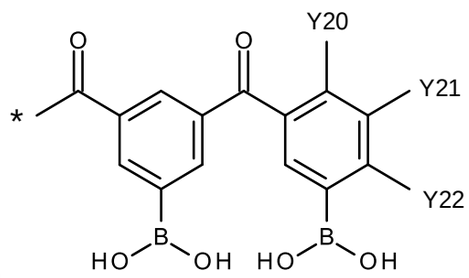
Fórmula R2c ,

en donde Y7 es H; Y8 es H, Cl, CHF_2 o CF3; Y9 es H, F o CF3; Y10 es F; Y11 es H; y Y12 es F; con la condición de que solo uno de Y8 y Y9 sea H;



Fórmula M6

en donde el residuo de α-aminoácido representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y17 es H o F; y Y18 es H o F; y

Fórmula M9  ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F; y

en donde un grupo modificador M está unido al grupo amino del residuo de aminoácido en el extremo N de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

45 El compuesto de acuerdo con la modalidad 44, en donde los grupos modificadores M son idénticos.

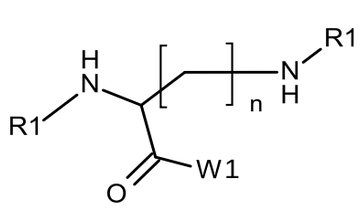
46 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades de 44 a 45, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana es un análogo de insulina humana que comprende desB30.

47 El compuesto de acuerdo con la modalidad 46, en donde dicho análogo de insulina humana es insulina humana desB30.

48 Un compuesto de acuerdo con la modalidad 1, que comprende

i) insulina humana o un análogo de insulina humana, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana comprende opcionalmente un espaciador peptídico en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana, en donde dicho espaciador peptídico comprende $(GES)_pK$, en donde p es un número entero de 3 a 12;

ii) dos grupos modificadores M, que se seleccionan independientemente del grupo de

Fórmula M1  ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y

en donde n representa un número entero en el intervalo de 1 a 4;

en donde W1 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W1 representa

$NH\text{-}CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

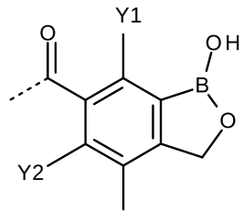
la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$,

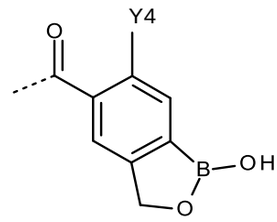
la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$, o

$NH\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}(CH_2)_2\text{-}O\text{-}(CH_2)_2\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}*$,

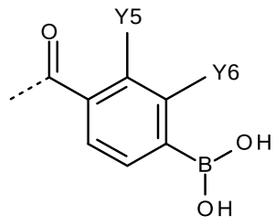
en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R1 se selecciona de



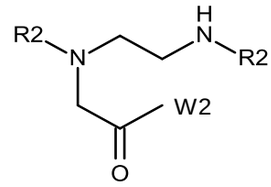
Fórmula R1a , Fórmula R1b 

y



Fórmula R1c ,

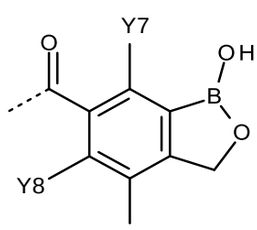
en donde Y1 y Y2 son H, y Y3 es F o CF_3; Y4 es H o F; y Y5 es H y Y6 es F;

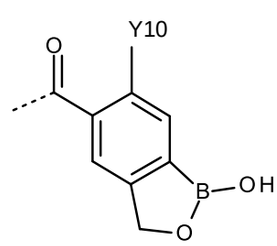


Fórmula M2

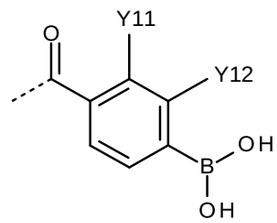
en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W2 representa la forma *D* o *L* de $NH\text{-}CH(COOH)\text{-}CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$ o $NH\text{-}CH_2CH_2CH_2\text{-}C(=O)\text{-}*$, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde R2 se selecciona de



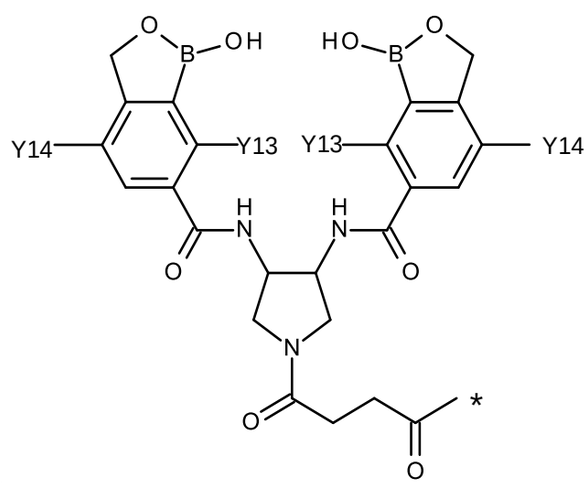
Fórmula R2a , Fórmula R2b 

y



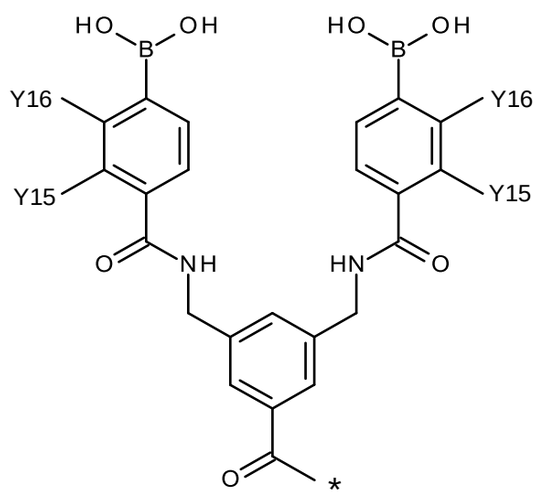
Fórmula R2c ,

en donde Y7 es H; Y8 es H, Cl, CHF_2 o CF3; Y9 es H, F o CF3; Y10 es F; Y11 es H; y Y12 es F; con la condición de que solo uno de Y8 y Y9 sea H;



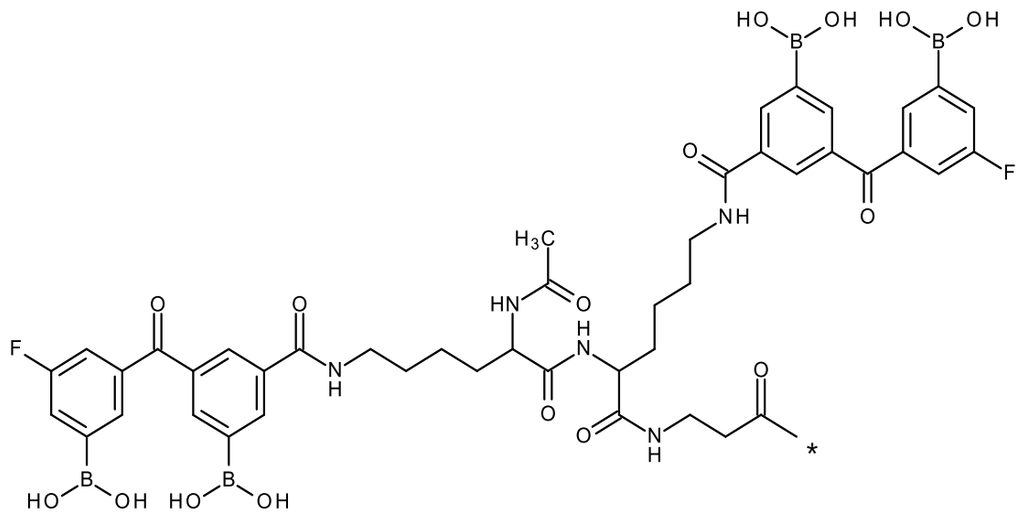
Fórmula M3 ,

que representa un estereoisómero *R,R o S,S o R,S* de la 3,4-diamino-pirrolidina; y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y13 es H o F; y Y14 es H o CF3; con la condición de que solo uno de Y13 y Y14 sea H;



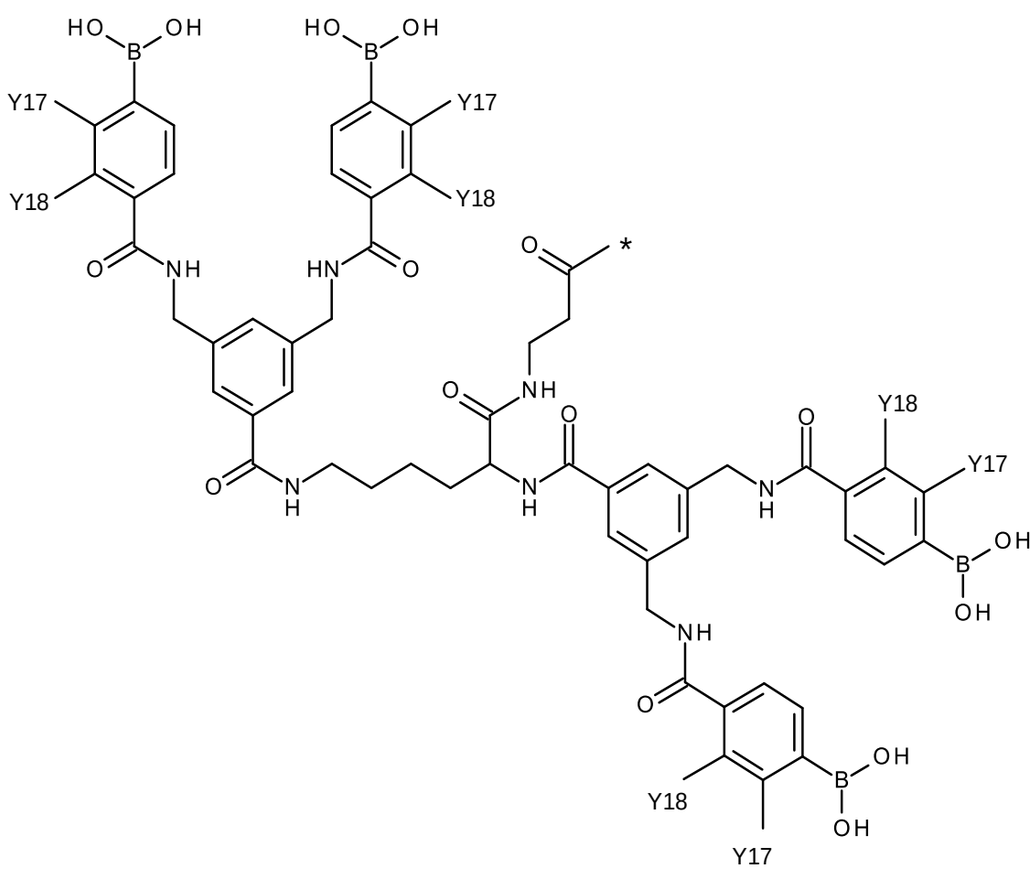
Fórmula M4 ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, y en donde Y15 y Y16 se seleccionan independientemente de H y F;



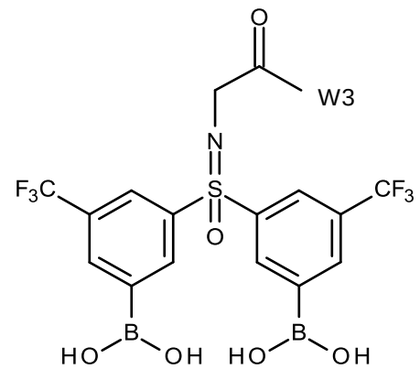
Fórmula M5,

en donde cada uno de los residuos de aminoácidos representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

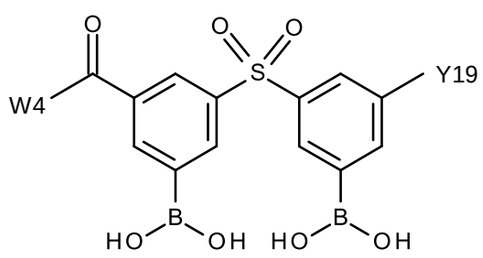


Fórmula M6,

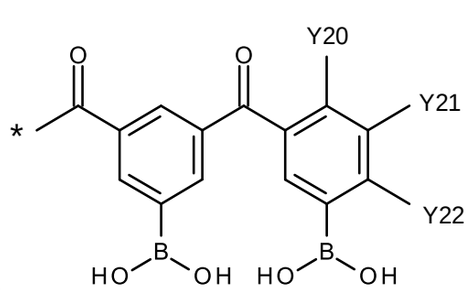
en donde el residuo de α-aminoácido representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y17 es H o F; y Y18 es H o F;

Fórmula M7  ,

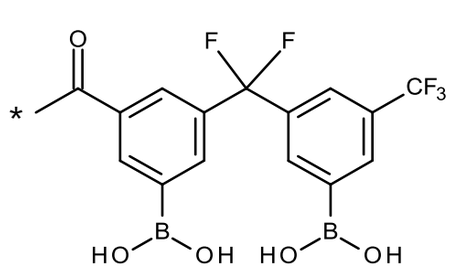
en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

Fórmula M8  ,

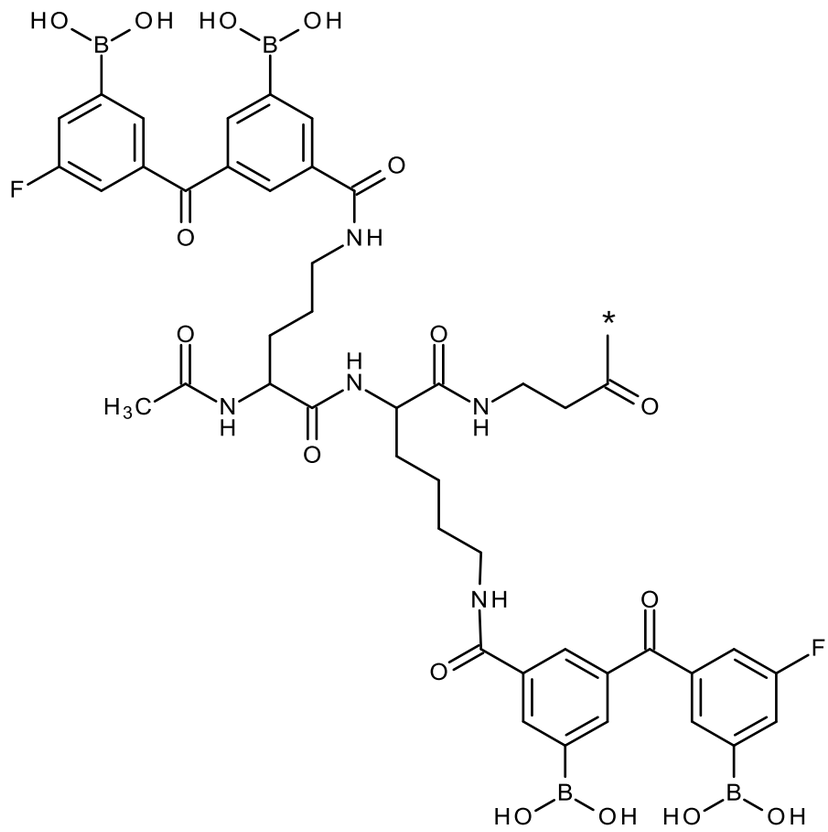
en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es CF_3 o SF_5;

Fórmula M9  ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F;

Fórmula M10  ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y



Fórmula M11,

en donde cada uno de los residuos de aminoácidos representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde un grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y un grupo modificador M está unido a:

el grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana; o

el grupo épsilon amino de la lisina en dicho espaciador peptídico opcional en el extremo C de la cadena A de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

49 El compuesto de acuerdo con la modalidad 48, en donde los aminoácidos quirales están en la forma L.

50 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades de 48 a 49, en donde los grupos modificadores M son idénticos.

51 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades de 48 a 51, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana es un análogo de insulina humana que comprende desB30.

52 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades de 48 a 51, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana se selecciona del grupo de:

insulina humana A21Q desB30 (SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 14);

insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 15);

insulina humana A22K desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 11); y

insulina humana A22K B22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 20).

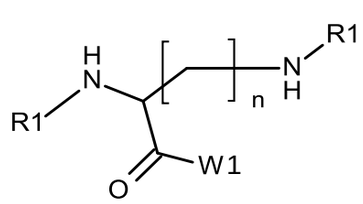
53 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades de 48 a 52, en donde el compuesto se selecciona del grupo de:

El compuesto del Ejemplo 227; el compuesto del Ejemplo 239; el compuesto del Ejemplo 240; el compuesto del Ejemplo 241; y el compuesto del Ejemplo 272.

54 Un compuesto de acuerdo con la modalidad 1, que comprende

i) insulina humana o un análogo de insulina humana;

ii) un grupo modificador M, que se selecciona del grupo de



Fórmula M1 ,

que representa la forma de un *D*- o un *L*-aminoácido, y

en donde n representa un número entero en el intervalo de 1 a 4;

en donde W1 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W1 representa

NH-CH_2-C(=O)-*,

NH-CH_2CH_2-C(=O)-*,

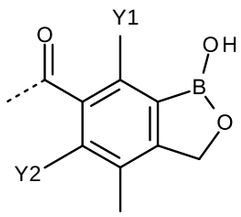
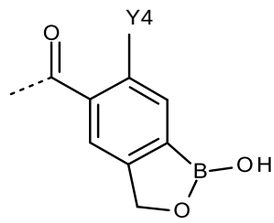
la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*,

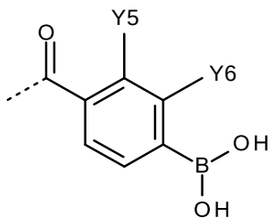
la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2-C(=O)-*, o

NH-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-*,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

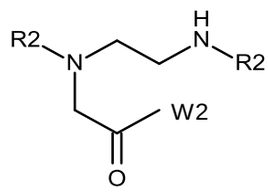
en donde R1 se selecciona de

Fórmula R1a  , Fórmula R1b  y



Fórmula R1c ,

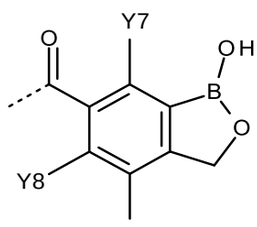
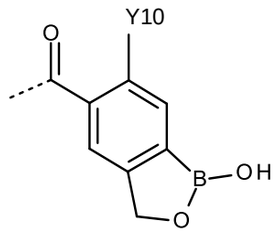
en donde Y1 y Y2 son H, y Y3 es F o CF_3; Y4 es H o F; y Y5 es H y Y6 es F;

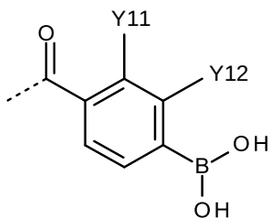


Fórmula M2

en donde W2 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W2 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-* o NH-$CH_2CH_2CH_2$-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

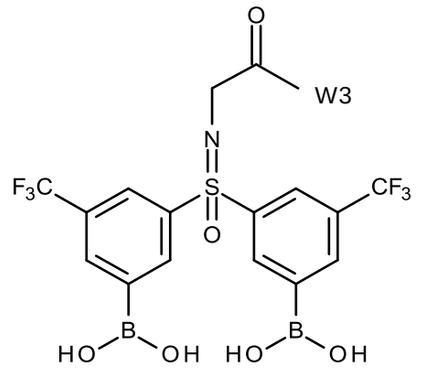
en donde R2 se selecciona de

Fórmula R2a  , Fórmula R2b  y

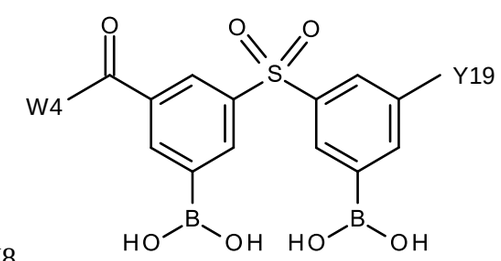


Fórmula R2c

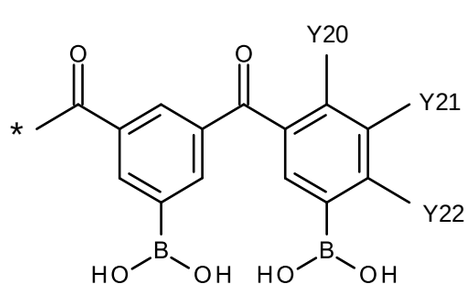
en donde Y7 es H; Y8 es H, Cl, CHF_2 o CF3; Y9 es H, F o CF3; Y10 es F; Y11 es H; y Y12 es F; con la condición de que solo uno de Y8 y Y9 sea H;

Fórmula M7  ,

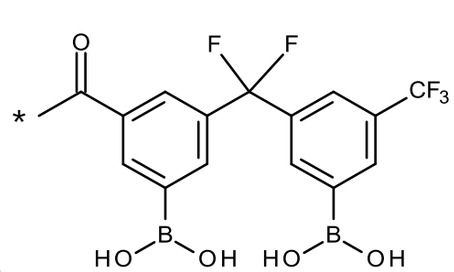
en donde W3 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W3 representa la forma *D* o *L* de NH-CH(COOH)-CH_2CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana;

Fórmula M8  ,

en donde W4 está ausente y representa el punto de unión * a dicha insulina humana o análogo de insulina humana, o W4 representa NH-CH_2-C(=O)-*, en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde Y19 es CF_3 o SF_5;

Fórmula M9  ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y en donde cada uno de Y20, Y21 y Y22 se selecciona independientemente de H y F; con la condición de que cuando Y21 es F, entonces Y20 y Y22 son H; y cuando Y21 es H, entonces Y20 y Y22 son F;

Fórmula M10  ,

en donde * representa el punto de unión a dicha insulina humana o análogo de insulina humana; y

en donde el grupo modificador M está unido al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 de la cadena A de dicho análogo de insulina humana o al grupo épsilon amino de una lisina en la posición 22 o la posición 29 de la cadena B de dicha insulina humana o análogo de insulina humana.

55 El compuesto de acuerdo con la modalidad 54, en donde dicha insulina humana o análogo de insulina humana es un análogo de insulina humana que comprende A22K y desB30.

56 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 55, en donde el compuesto tiene la capacidad de unirse al receptor de insulina.

57 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 55, en donde el compuesto tiene mayor afinidad por el receptor de insulina en presencia de 20 mM de glucosa que cuando no hay glucosa presente.

58 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 55, en donde el compuesto tiene una afinidad por el receptor de insulina al menos 3 veces mayor en presencia de 20 mM de glucosa que cuando no hay glucosa presente.

59 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 55, en donde el compuesto tiene una afinidad por el receptor de insulina al menos 10 veces mayor en presencia de 20 mM de glucosa que cuando no hay glucosa presente.

60 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 55, en donde el compuesto tiene una afinidad por el receptor de insulina al menos 15 veces mayor en presencia de 20 mM de glucosa que cuando no hay glucosa presente.

61 Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-55.

62 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-55, para su uso como un medicamento.

63 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-55, para su uso en la prevención o el tratamiento de la diabetes, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, intolerancia a la glucosa, hiperglucemia y síndrome metabólico (síndrome metabólico X, síndrome de resistencia a la insulina).

64 El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-55 o la composición de acuerdo con la modalidad 61, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la diabetes, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, intolerancia a la glucosa, hiperglucemia y síndrome metabólico (síndrome metabólico X, síndrome de resistencia a la insulina).

65 Un método para el tratamiento o la prevención de la diabetes, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, intolerancia a la glucosa, hiperglucemia y síndrome metabólico (síndrome metabólico X, síndrome de resistencia a la insulina), cuyo método comprende la administración a un sujeto que lo necesita de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-55 o la composición de acuerdo con la modalidad 61.

EJEMPLOS

Materiales y métodos

Lista de abreviaturas

AIBN	2,2’-azobisisobutironitrilo
AKT	alias PKB, proteína quinasa B
ALP	proteasa de Achromobacter lyticus
Ar	arilo
ARS	rojo de alizarina sódica
C18	octadecanilo (columna de HPLC)
CV	volumen de columna
DAST	trifluoruro de dietilaminoazufre
DBU	1,8-diazabiciclo(5.4.0)undec-7-eno
DCM:	diclorometano
DIC	*N*,*N*-diisopropilcarbodiimida
DMF	*N*,*N*-dimetilformamida
DIPEA	*N*,*N*-diisopropiletilamina
EDC.HCl	Clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
EtOAc	acetato de etilo
FFC	Adipocitos libres (r, ratas)
Fmoc-OSu	carbonato de 9-fluorenilmetil *N*-succinimidilo
HATU	3-óxido de hexafluorofosfato de 1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridina
HBTU	hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico
HIR	receptor de insulina humano (A = isoforma A, B = isoforma B)

HOBt	1-hidroxibenzotriazol
HONSU	*N*-hidroxisuccinimida
HRMS	espectrometría de masas de alta resolución
HSA	albúmina sérica humana
Kd	constante de desplazamiento
LCMS	cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas
MeCN	acetonitrilo
mM	milimolar
NBS	*N*-bromosuccinimida
N.D.	No detectable
NMM	*N*-metil-morfolina
RMN	resonancia magnética nuclear
NMP	*N*-metil-pirrolidona
OEG	ácido 2-(2-aminoetoxi)etoxi-acético (aminoácido oligoetilenglicol)
OXYMA	cianohidroxiiminoacetato de etilo
RP-HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa
Ph	fenilo
SPA	ensayo de proximidad por centelleo
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
THPTA	tris(3-hidroxipropiltriazolilmetil)amina
TSTU	tetrafluoroborato de succinimidil-tetrametiluronio
UPLC	cromatografía líquida de ultra rendimiento
WGA	aglutinina de germen de trigo

Preparación de variantes de insulina

Ejemplo 1: Expresión de variantes de insulina en levadura y transformación con ALP etc

Los análogos de insulina se expresaron en levadura mediante el uso de técnicas bien conocidas

por ejemplo, como se describe en el documento núm. WO2017/032798. Más específicamente, los análogos de insulina se expresaron como precursores de cadena sencilla, que se aislaron mediante captura de intercambio iónico y se escindieron en los análogos de insulina de 2 cadenas mediante el tratamiento con ALP como se describe más abajo.

Captura del precursor en SP Sepharose BB:

El sobrenadante de levadura se aplicó con un flujo de 10-20 CV/h en una columna empaquetada con SP

Sepharose BB. Se realizó un lavado con ácido cítrico 0,1 M pH 3,5 y un lavado con 40 %

de EtOH. El análogo se eluyó con acetato de sodio 0,2 M, pH 5,5/EtOH al 35 %.

Digestión con ALP:

La solución del precursor de cadena sencilla se ajustó a pH 9 y se añadió la enzima ALP 1:100 (p/p). La reacción se siguió en UPLC. La mezcla de escisión por ALP se ajustó a pH 2,5 y se diluyó 2 veces para prepararla para la purificación por RP-HPLC.

Purificación por RP-HPLC:

La purificación se realizó por RP-HPLC en C18 de la siguiente manera:

Columna: 15 um C18 50x250 mm 200 Å

Amortiguadores:

A: ácido fórmico al 0,2 %, EtOH al 5 %,

B: ácido fórmico al 0,2 %, EtOH al 50 %

El gradiente: 20-55 % de amortiguador B.

Gradiente: 20 CV

Flujo 20 CV/h

Carga en g ~ 5 g/l de resina

Las fracciones se analizaron por UPLC, se mezclaron y se liofilizaron.

Análogos de insulina preparados y usados en los ejemplos más abajo:

insulina humana desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 13);

insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 14);

insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 15);

insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 16);

insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 17);

insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 18);

insulina humana A22K desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 19);

insulina humana A22K B22K B29R desB30 (SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 20);

insulina humana A-2K A-1P desB30 (SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A21Q (GES)3K desB30 (SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A21Q (GES)6K desB30 (SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana A21Q (GES)12K desB30 (SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11);

insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 21);

insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 (SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 22);

insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 23);

insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 24);

insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 25);

insulina humana B1-GKPG desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 26);

insulina humana B1-GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 27); e

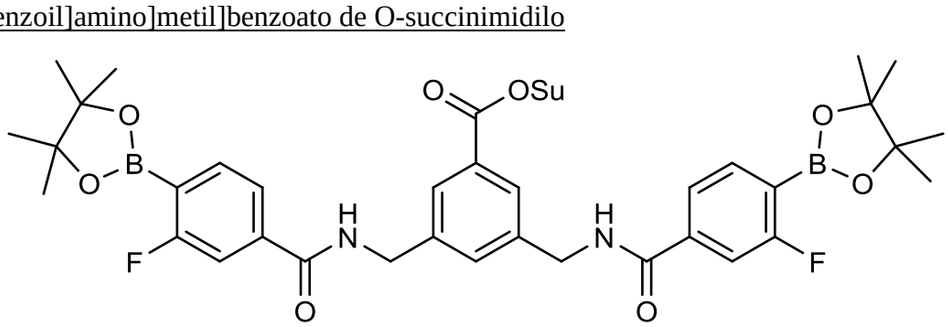
insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 28).

insulina humana B1-GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS desB30 significa insulina humana desB30 extendida a partir de B1 con GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS (escrito desde el nuevo G en el extremo N con S en el extremo C conectado a B1 de la insulina humana desB30). Insulina humana A21Q (GES)3K desB30 significa insulina extendida a partir de A21Q con GESGESGESK (escrito desde el nuevo G en el extremo N conectado a A21Q en el extremo C). Similar para los otros análogos de insulina extendidos a partir de B1 y A21. B-1 significa la posición en el extremo N respecto a B1, por ejemplo, B-1G significa la extensión en el extremo N del B1 de la insulina con G.

Preparación de componentes básicos

Los productos intermedios y finales reciben números dentro de cada ejemplo para facilitar la lectura. Los mismos números se usan en todos los ejemplos, pero los números son inequívocos dentro de cada ejemplo.

Ejemplo 2: 3,5-bis[[[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil]amino]metil]benzoato de O-succinimidilo



Una mezcla de ácido 2-fluoro-4-carboxifenilborónico (1, 8,44 g, 45,9 mmol), pinacol (5,42 g, 45,9 mmol) y sulfato de magnesio (60 g) en tetrahidrofurano (110 ml) se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de celite, el filtrado se evaporó y se secó al vacío para producir ácido 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico (2) como un polvo beige. Rendimiento: 10,4 g (85 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,93-7,80 (m, 2 H); 7,75 (d, J=9,4 Hz, 1 H); 1,39 (s, 12 H).

El ácido carboxílico 2 (10,3 g, 38,6 mmol) se disolvió en diclorometano (130 ml). Se añadió 1-hidroxipirrolidino-2,5-diona (HOSu, 8,89 g, 77,2 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 14,8 g, 77,2 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se distribuyó entre acetato de etilo (130 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (130 ml). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (3 x 120 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (40 ml) y se precipitó mediante la adición de ciclohexano (130 ml). El producto se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para producir 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de succinimidilo (3) como un polvo blanco. Rendimiento: 13,9 g (99 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,93-7,84 (m, 2 H); 7,77 (d, J=9,4 Hz, 1 H); 2,92 (s, 4 H); 1,39 (s, 12 H).

El ácido 3,5-dimetilbenzoico 4 827,6 g, 18,4 mmol) se suspendió en metanol (80 ml) y se trató con ácido sulfúrico concentrado (8 ml). La mezcla se sometió a reflujo durante 2 días. Después de la neutralización con carbonato de sodio (50 g), la mezcla se disolvió en agua (250 ml) y se extrajo con éter dietílico (2 x 300 ml). Las fases orgánicas se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron hasta la sequedad para proporcionar 3,5-dimetilbenzoato de metilo (5) como un aceite amarillo pálido. Rendimiento: 29,3 g (97 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,67 (s, 2 H); 7,19 (s, 1 H); 3,91 (s, 3 H); 2,37 (s, 6 H).

Una mezcla de 3,5-dimetilbenzoato de metilo 5 (29,3 g, 178 mmol), *N*-bromosuccinimida (NBS, 111 g, 623 mmol) y una espátula de azobisisobutironitrilo en formiato de metilo (450 ml) se irradió con luz visible mientras se calentaba a reflujo durante 20 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en diclorometano (200 ml). La succinimida precipitada se separó por filtración y el filtrado se lavó con una solución acuosa saturada de sulfito de sodio (2 x 150 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: hexano/acetato de etilo 15:1). El producto se cristalizó a partir de una mezcla de acetato de etilo/ciclohexano para dar 3,5-bis(bromometil)benzoato de metilo (6) como un sólido blanco. Rendimiento: 25,6 g (45 %). RF (SiO_2, hexanos/acetato de etilo 9:1): 0,50. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,02-7,95 (m, 2 H); 7,62 (s, 1 H); 4,51 (s, 4 H); 3,94 (s, 3 H).

Una suspensión del bromuro 6 anterior (25,3 g, 78,6 mmol) y diformilamida de sodio (20,9 g, 220 mmol) en acetonitrilo seco (350 ml) se sometió a reflujo durante 4 horas. Después de la eliminación de un sólido blanco por filtración, el disolvente se evaporó. La recristalización a partir de una mezcla de acetato de etilo/ciclohexano proporcionó 3,5-bis((*N*-formilformamido)metil)benzoato de metilo (7) como un polvo blanco.
Rendimiento: 21,0 g (88 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,08 (s, 4 H); 7,72 (s, 2 H); 7,44 (s, 1 H); 4,70 (s, 4 H); 3,84 (s, 3 H).

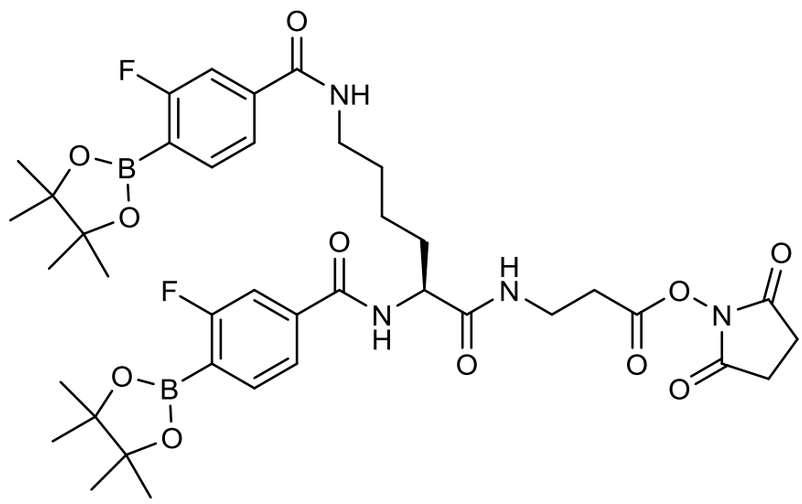
El benzoato 7 (20,9 g, 68,5 mmol) se disolvió en una mezcla de 1,4-dioxano (220 ml) y ácido clorhídrico concentrado (280 ml) y se calentó durante 2 horas a reflujo. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se hizo pasar un flujo de aire a través de la solución. El producto comenzó a precipitar. Después de 1 hora, el disolvente se evaporó y el producto se recristalizó a partir de una mezcla de metanol/éter dietílico para proporcionar diclorhidrato de ácido 3,5-bis(aminometil)benzoico (8) como un polvo blanco. Rendimiento: 17,1 g (98 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,26 (bs, 1 H); 8,65 (bs, 6 H); 8,10 (s, 2 H); 7,88 (s, 1 H); 4,08 (s, 4 H).

El diclorhidrato 8 (2,08 g, 8,20 mmol) se disolvió en agua (20 ml). Posteriormente se añadió *N*,*N*-diisopropiletilamina (5,73 ml, 32,9 mmol), *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) y éster activado (3, 5,97 g, 16,4 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente; después se acidificó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M. El disolvente se evaporó tres veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano/tolueno (1:1, 100 ml) y se trató con pinacol (1,40 g, 11,8 mmol). La mezcla se evaporó tres veces a partir del tolueno. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se lavó con agua (3 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y el producto comenzó a precipitar. Se añadió ciclohexano (170 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para dar ácido 3,5-bis((3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoico (9) como un polvo blanco. Rendimiento: 4,18 g (75 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,96 (bs, 1 H); 9,27 (t, J=5,9 Hz, 2 H); 7,82-7,67 (m, 6 H); 7,64-7,56 (m, 2 H); 7,53 (s, 1 H); 4,58-4,44 (m, 4 H); 1,31 (s, 24 H).

El ácido 9 anterior (4,17 g, 6,20 mmol) se disolvió en una mezcla de acetonitrilo/*N*,*N*-dimetilformamida (4:1, 100 ml). Se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 0,85 g, 7,40 mmol). La mezcla se enfrió hasta 0 °C seguido de la adición de *N*,*N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 1,53 g, 7,40 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos a 0 °C y durante la noche a temperatura ambiente. El subproducto insoluble se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se

lavó con agua (2 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y el producto comenzó a precipitar. Se añadió ciclohexano (170 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para dar 3,5-bis[[[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil]amino]metil]benzoato de O-succinimidilo (10) como un polvo blanco. Rendimiento: 4,62 g (97 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,31 (t, J=5,7 Hz, 2 H); 7,93 (s, 2 H); 7,79-7,68 (m, 5 H); 7,63-7,56 (m, 2 H); 4,60-4,50 (m, 4 H); 2,87 (s, 4 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 773,4 $(M+H)^{+}$, calculada 773,4.

Ejemplo 3: O-succinimidil *N*,*N*-*bis(*3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido-Lys-beta-Ala



7

La resina de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,8 mmol/g 1 (53,3 g, 96,0 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (350 ml) durante 20 minutos. Después la resina se filtró y se lavó con diclorometano seco (300 ml). Después de eso, la solución de Fmoc-Ala-OH (24,9 g, 80,0 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (55,7 ml, 320 mmol) en diclorometano seco (250 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. Después de eso, la resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (50 ml) en una mezcla de metanol/diclorometano (4:1, 2 x 5 min, 2 x 250 ml). Después la resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml), diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con una solución al 20 % de piperidina en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 30 min, 2 x 250 ml). Después de eso, la resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml), diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml). Después de eso, la solución de Fmoc-L-Lys(Boc)-OH (56,2 g, 120 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1*H*-benzo[d][1,2,3]triazol-3-óxido (TCTU, 42,7 g, 120 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (34,8 ml, 200 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (180 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 3 horas. Después de eso, la resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml), diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con una

solución al 20 % de piperidina en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 30 min, 2 x 300 ml). Después la resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 300 ml), diclorometano (2 x 300 ml), metanol (2 x 300 ml) y diclorometano (10 x 300 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con 2,2,2-trifluoroetanol (300 ml) durante la noche. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (2 x 200 ml), 2-propanol (2 x 200 ml) y diclorometano (2 x 200 ml). El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se trituró en éter dietílico (2 x 300 ml). Después de la filtración y el secado se obtuvo L-Lys(Boc)-beta-Ala (2) como un polvo blanquecino. Rendimiento: 13,3 g (56 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d_4, δ_H): 4,20 (t, J=7,1 Hz, 1 H); 3,66-3,46 (m, 2 H); 3,17-3,00 (m, 2 H); 2,65 (t, J=6,4 Hz, 2 H); 1,97-1,80 (m, 2 H); 1,60-1,30 (m, 13 H).

Se añadió una solución acuosa al 95 % de ácido trifluoroacético (60 ml) a la suspensión de 2 (13,2 g, 41,6 mmol) en diclorometano (50 ml) y la mezcla completa se agitó durante 2 horas. Después el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se secó al vacío para dar la sal de TFA de L-Lys-beta-Ala (3) como un aceite pardo. Rendimiento: 18,5 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d_4, δ_H): 4,24 (t, J=6,7 Hz, 1 H); 3,71-3,46 (m, 2 H); 3,09 (t, J=7,5 Hz, 2 H); 2,66 (t, J=6,6 Hz, 2 H); 2,01-1,89 (m, 2 H); 1,85-1,68 (m, 2 H); 1,60-1,46 (m, 2 H).

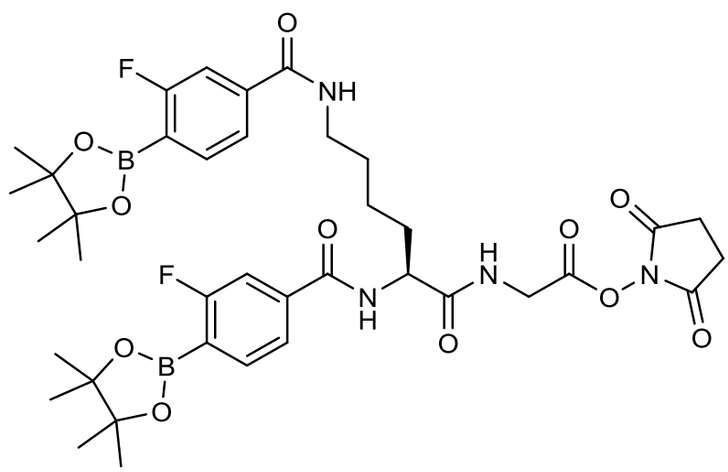
Se añadió trietilamina (14,1 ml, 101 mmol) a la solución de 3 (15,0 g, 33,7 mmol) en acetonitrilo para dar un precipitado blanquecino. Después de la filtración y el secado se obtuvo L-Lys-beta-Ala (4) como un polvo higroscópico blanco. Rendimiento: 7,30 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d_4, δ_H): 4,21 (t, J=6,4 Hz, 1 H); 3,72-3,45 (m, 2 H); 3,08 (t, J=7,4 Hz, 2 H); 2,65 (t, J=6,0 Hz, 2 H); 2,00-1,88 (m, 2 H); 1,83-1,66 (m, 2 H); 1,59-1,43 (m, 2 H).

Se añadió 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de succinimidilo 5 (5,00 g, 13,8 mmol) a la suspensión de 4 (3,00 g, 13,8 mmol) y trietilamina (7,74 ml, 55,5 mmol) en acetonitrilo seco (80 ml) y la mezcla completa se agitó durante la noche. Después el disolvente se eliminó a presión reducida y se evaporó tres veces junto con el tolueno. Después de eso se añadió el acetato de etilo (70 ml) y la mezcla se lavó con agua (3 x 50 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (2 ml) y se añadió gota a gota a ciclohexano agitado vigorosamente (100 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para dar *N*,*N*-bis(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido-Lys-beta-Ala (6) como un polvo blanco. Rendimiento: 2,31 g (47 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d_4, δ_H): 7,83-7,73 (m, 2 H); 7,71-7,45 (m,

4 H); 4,77 (t, J=7,2 Hz, 1 H); 3,61-3,39 (m, 4 H); 2,64 (t, J=6,2 Hz, 2 H); 2,00-1,80 (m, 2 H); 1,77-1,47 (m, 4 H); 1,37 (s, 24 H).

Se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 0,97 g, 8,41 mmol) a la solución de 6 (2,00 g, 2,80 mmol) en acetonitrilo seco (70 ml). La mezcla se enfrió hasta 0 ^{o}C seguido de la adición de *N*,*N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 0,87 g, 4,20 mmol). Después de 30 minutos la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El subproducto insoluble se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (3 x 70 ml), agua (70 ml) y salmuera (70 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se evaporó cinco veces junto con pinacol en tolueno. Después el residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,1 M (70 ml), agua (70 ml) y salmuera (70 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (3 ml) y se añadió gota a gota a una mezcla agitada vigorosamente de ciclohexano/éter dietílico (10:1, 110 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío. El ciclohexano residual se eliminó por evaporación junto con diclorometano cinco veces. Después de secar el O-succinimidilo *N*,*N*-bis(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido-Lys-beta-Ala (7) se obtuvo como una espuma blanquecina. Rendimiento: 1,12 g (48 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δ_H): 7,83-7,71 (m, 2 H); 7,62-7,40 (m, 4 H); 7,19 (d, J=7,7 Hz, 1 H); 7,02 (t, J=6,1 Hz, 1 H); 6,68 (t, J=5,6 Hz, 1 H); 4,67 (m, 1 H); 3,73-3,62 (m, 2 H); 3,44 (q, J=6,2 Hz, 2 H); 2,90-2,78 (m, 6 H); 2,07-1,60 (m, 4 H); 1,53-1,30 (m, 26 H). LC-MS: 810,5 $(M+H)^{+}$, calculada 810,4.

Ejemplo 4: O-succinimidil *N*,*N*-bis(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido-Lys-Gly



6

Una mezcla de ácido 2-fluoro-4-carboxifenilborónico 1 (4,95 g, 27,0 mmol), pinacol (3,21 g, 27,2 mmol) y sulfato de magnesio (450 g) en tetrahidrofurano (90 ml) se agitó durante la

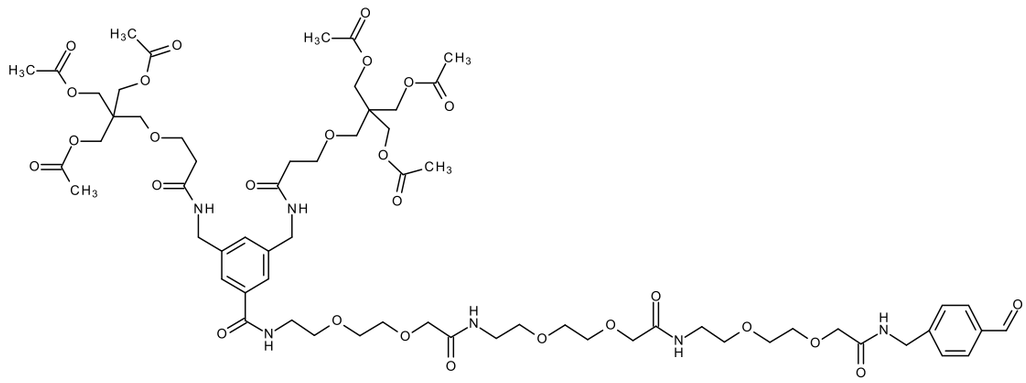
noche a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de celite, el filtrado se evaporó y se secó al vacío para producir ácido 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico (2) como un polvo amarillo. Rendimiento: 7,06 g (98 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δ_H): 7,93-7,80 (m, 2 H); 7,76 (d, J=9,4 Hz, 1 H); 1,39 (s, 12 H).

El ácido carboxílico 2 (7,05 g, 26,5 mmol) se disolvió en diclorometano (100 ml). Se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 6,10 g, 53,0 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 10,2 g, 53,0 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se distribuyó entre acetato de etilo (110 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,1 M (110 ml). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,1 M (2 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (20 ml) y se precipitó mediante la adición de ciclohexano (120 ml). El producto se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para producir 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de succinimidilo (3) como un polvo blanco. Rendimiento: 9,60 g (99 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6, δ_H): 7,96-7,89 (m, 2 H); 7,79 (d, J=9,4 Hz, 1 H); 2,91 (s, 4 H); 1,33 (s, 12 H).

La sal de TFA de L-Lys-Gly 4 (2,67 g, 6,20 mmol) se disolvió en agua (20 ml). Posteriormente se añadieron *N*,*N*-diisopropiletilamina (4,32 ml, 24,8 mmol), *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) y 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (3, 4,50 g, 12,4 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente; después se acidificó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M. El disolvente se evaporó tres veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano/tolueno (1:1, 100 ml) y se trató con pinacol (1,00 g, 8,46 mmol). La mezcla se evaporó tres veces a partir del tolueno. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se lavó con agua (3 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y se añadió gota a gota a un ciclohexano frío (200 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío. El sólido se disolvió en diclorometano (10 ml). Se añadió éter dietílico (10 ml) y ciclohexano (150 ml). El disolvente se decantó, el residuo se secó al vacío para producir *N,N'*-bis(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-L-lisilglicina (5) como un sólido beige. Rendimiento: 1,60 g (37 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δ_H): 7,91-7,79 (m, 2 H); 7,78-7,64 (m, 2 H); 7,58-7,34 (m, 4 H); 7,19-7,07 (m, 1 H); 4,86-4,72 (m, 1 H); 4,15-3,88 (m, 2 H); 3,47-3,25 (m, 2 H); 2,00-1,74 (m, 2 H); 1,66-1,52 (m, 2 H); 1,50-1,37 (m, 2 H); 1,34 (s, 24 H). LC-MS: 699,3 $(M+H)^+$, 617,2 $(M+H\text{-pinacol})^+$, 535,0 $(M+H\text{-2 x pinacol})^+$.

El ácido 5 anterior (1,59 g, 2,30 mmol) se disolvió en diclorometano (70 ml). Se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 0,31 g, 2,70 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 0,65 g, 3,40 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 5 horas a temperatura ambiente. La mezcla se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,1 M (2 x 80 ml) y salmuera (1 x 80 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó hasta sequedad para dar O-succinimidil *N*,*N*-bis(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido-Lys-Gly (6) como un sólido beige. Rendimiento: 1,29 g (70 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6, δ_H): 8,73-8,53 (m, 3 H); 7,78-7,61 (m, 5 H); 7,54 (d, J=10,4 Hz, 1 H); 4,52-4,40 (m, 1 H); 4,36-4,17 (m, 2 H); 3,29-3,17 (m, 2 H); 2,81 (s, 4 H); 1,87-1,68 (m, 2 H); 1,59-1,47 (m, 2 H); 1,46-1,36 (m, 2 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 796,4 $(M+H)^+$, calculada 796,4.

Ejemplo 5: 2-((23-(3,5-bis((3-(3-acetoxi-2,2-bis(acetoximetil)propoxi)propanamido)metil)benzamido)-7,16-dioxo-3,9,12,18,21-pentaoxa-6,15-diazatricosil)oxi)-*N*-(4-formilbenzil)acetamidb



Una mezcla de pentaeritritol (136 g, 1,00 mol), hidróxido de sodio (8,00 g, 200 mmol), dimetilsulfóxido (200 ml) y agua (18 ml) se calentó a 80 °C hasta que se formó una solución transparente (durante la noche). Se añadió acrilato de *terc*-butilo (2, 174 ml, 1,20 mol) y la mezcla resultante se calentó a 80 °C durante 24 horas; después se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con agua (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 400 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (400 ml) y salmuera (100 ml). Como los lavados acuosos contenían el producto (3), se combinaron y se volvieron a extraer con acetato de etilo (2 x 200 ml). Todas las fracciones de acetato de etilo se combinaron, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron hasta la sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: diclorometano/metanol 99:1-90:10) para dar 3-(3-hidroxi-2,2-bis(hidroximetil)propoxi)propanoato de terc-butilo (3) como un aceite incoloro.

Rendimiento: 39,7 g (15 %). RF (SiO2, diclorometano/metanol 9:1): 0,30.

Espectro de 1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 3,67 (t, J=5,6 Hz, 2 H); 3,65 (s, 6 H); 3,52 (s, 2 H); 2,73 (bs, 3 H); 2,49 (t, J=5,7 Hz, 2 H); 1,46 (s, 9 H). LC-MS: 287,2 (M+Na)+.

Se añadió anhídrido acético (95,6 ml, 350 mmol) a una solución del 3-(3-hidroxi-2,2-bis(hidroximetil)propoxi)propanoato de *terc*-butilo anterior (3, 74,5 g, 281 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (88,1 ml, 506 mmol) en diclorometano seco (600 ml) a 0 °C. El baño de enfriamiento se retiró y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los componentes volátiles se eliminaron al vacío; el residuo se redisolvió en acetato de etilo (2 l) y se lavó con agua (600 ml), ácido clorhídrico acuoso 0,5 M (1,2 l), agua (600 ml), solución acuosa de hidrogenocarbonato de potasio al 10 % (600 ml), agua (600 ml) y salmuera (230 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó hasta la sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 9:1-8:2) para proporcionar diacetato de 2-(acetoximetil)-2-((3-(*terc*-butoxi)-3-oxopropoxi)metil)propano-1,3-diilo (4) como un aceite incoloro.

Rendimiento: 86,7 g (79 %). RF (SiO_2, hexanos/acetato de etilo 3:2): 0,40. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 4,11 (s, 6 H); 3,65 (t, J=6,2 Hz, 2 H); 3,44 (s, 2 H); 2,45 (t, J=6,3 Hz, 2 H); 2,06 (s, 9 H); 1,46 (s, 9 H). LC-MS: 413,2 (M+Na)+.

Se añadió ácido trifluoroacético (300 ml) a una solución de diacetato de 2-(acetoximetil)-2-((3-(terc-butoxi)-3-oxopropoxi)metil)propano-1,3-diilo anterior (4, 86,0 g, 220 mmol) en diclorometano (100 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, después se evaporó hasta la sequedad y el residuo se evaporó a partir de tolueno (3 x 150 ml). El residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: diclorometano/metanol 10:0-9:1), las fracciones que contenían el producto se evaporaron para dar el compuesto del título (5) como un aceite pardo claro.

Rendimiento: 70,4 g (96 %). RF (SiO_2, hexanos/acetato de etilo 1:1): 0,25. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 4,10 (s, 6 H); 3,69 (t, J=6,1 Hz, 2 H); 3,46 (s, 2 H); 2,60 (t, J=6,1 Hz, 2 H); 2,06 (s, 9 H). LC-MS: 357,2 (M+Na)+.

La resina de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,5 mmol/g (10,7 g, 16,0 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (100 ml) durante 20 minutos. Una solución de ácido {2-[2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-etoxi]-etoxi}-acético (Fmoc-OEG-OH, 4,12 g, 10,7 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (7,07 ml, 40,6 mmol) en diclorometano seco (20 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 16 horas. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (3,72 ml, 21,4 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (2:8, 2 x 5 min, 2 x 50 ml). Después la resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 10 min, 1 x 30 min, 3 x 50 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), 2-propanol (2 x 50 ml) y diclorometano (2 x 50 ml). Una solución de ácido {2-[2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-etoxi]-etoxi}-acético

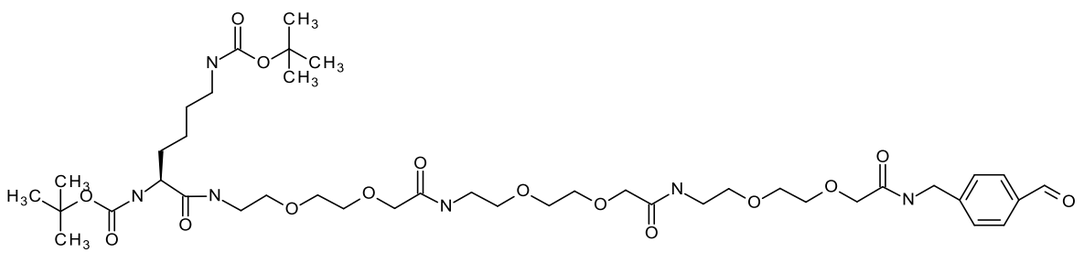
(Fmoc-OEG-OH, 6,17 g, 16,0 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 5,70 g, 16,0 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (5,02 ml, 28,8 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (50 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 1 hora. Después la resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 10 min, 1 x 30 min, 3 x 50 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), 2-propanol (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml). Una solución de ácido {2-[2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-etoxi]-etoxi}-acético (Fmoc-OEG-OH, 6,17 g, 16,0 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 5,70 g, 16,0 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (5,02 ml, 28,8 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (50 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 1 hora. Después la resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 10 min, 1 x 30 min, 3 x 50 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), 2-propanol (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml). Una solución de ácido 3,5-bis(((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)metil)benzoico (10,0 g, 16,0 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 5,70 g, 16,0 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (5,02 ml, 28,8 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (50 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 1 hora. Después la resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 10 min, 1 x 30 min, 3 x 50 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), 2-propanol (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml). Una solución de ácido 3-(3-acetoxi-2,2-bis(acetoximetil)propoxi)propanoico (5, 10,7 g, 32,0 mmol), etil ciano-glioxilato-2-oxima (OXYMA, 4,55 g, 32,0 mmol), 2,4,6-colidina (7,68 ml, 6,99 mmol) y *N*,*N*-diisopropilcarbodiimida (DIC, 4,96 g, 32,0 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 1 hora. La resina se filtró y lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 50 ml), diclorometano (4 x 50 ml), metanol (4 x 50 ml) y diclorometano (7 x 50 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con una mezcla de ácido trifluoroacético/diclorometano (1:1, 50 ml) durante la noche. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (2 x 50 ml). El disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: diclorometano/metanol 100:0 a 90:10) para dar el compuesto (8) contaminado con metil éster y productos parcialmente desacetilados. El compuesto (8) se disolvió en dioxano y se añadió una solución de hidróxido de litio (3,42 g, 81,5 mmol) en agua (160 ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos, después se neutralizó con ácido clorhídrico 1 M (80 ml) y se liofilizó. El compuesto 8 desacetilado se disolvió en una

mezcla de diclorometano (50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (10 ml), después se añadió piridina (50 ml) y anhídrido acético (30,5 ml). La mezcla se agitó durante 72 horas y después se evaporó varias veces a partir de *N*,*N*-dimetilformamida para dar el compuesto 8 deseado como un aceite pardo.

Rendimiento: 13,2 g (99 %). LC-MS: 1249 (M+H)+.

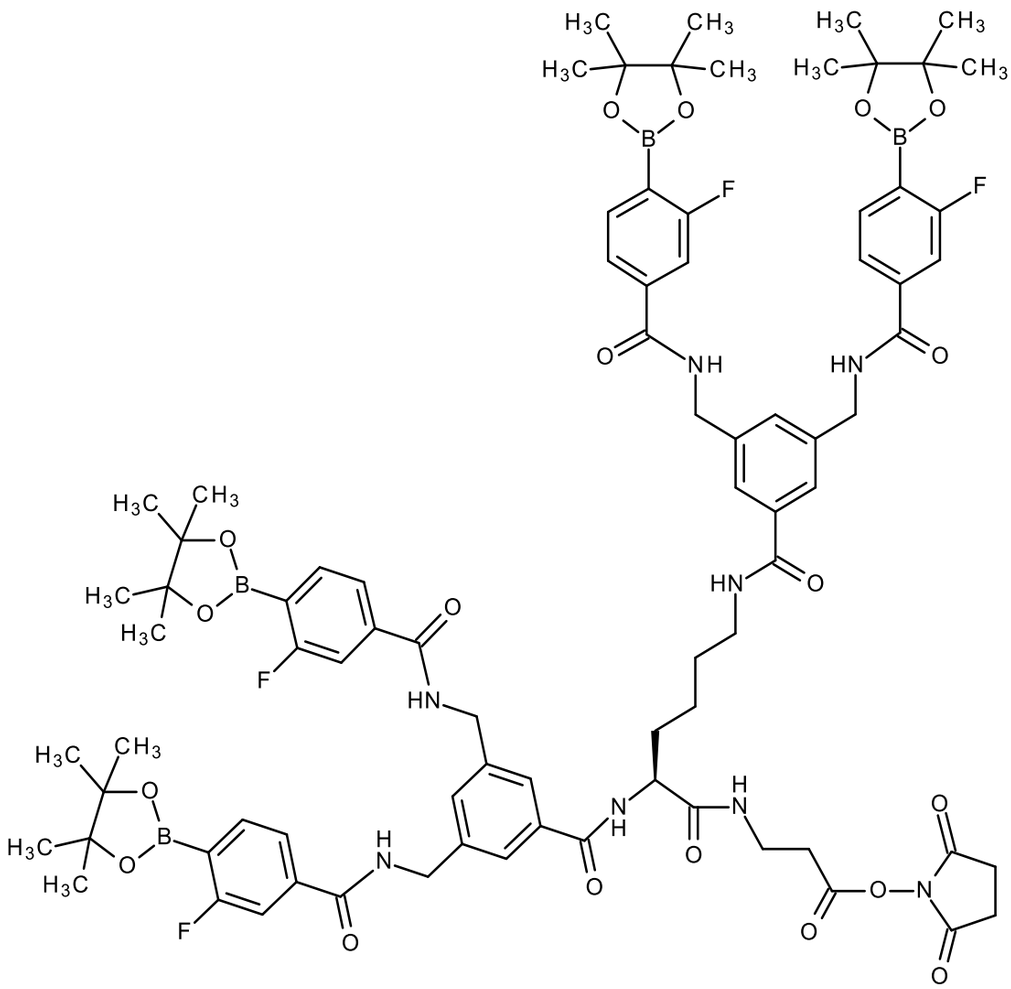
El compuesto anterior (8, 15,6 g, 12,5 mmol), 2,4,6-colidina (14,9 ml, 113 mmol), [1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-1-ol (HOAt, 5,10 g, 37,6 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDCHCl, 7,89 g, 41,3 mmol) se disolvieron en diclorometano (170 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (20 ml). Se añadió cloruro de 4-formil-bencil-amonio (7,08 g, 41,3 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas y se evaporó al vacío. El residuo se purificó por HPLC (Deltapak, C18, 5 m, 50 x 500 mm, acetonitrilo/agua, de 15:85 a 25:75, durante 30 min, de 25:75 a 50:50, durante 170 min + TFA al 0,05 %) para dar el compuesto del título 10 como un aceite parduzco. Rendimiento: 1,96 g (12 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 9,98 (s, 1 H); 7,84 (d, J=8,1 Hz, 2 H); 7,56-7,41 (m, 3 H); 7,39-7,33 (m, 1 H); 7,25-7,14 (m, 2 H); 7,09-7,00 (m, 1 H); 4,56 (d, J=6,2 Hz, 2 H); 4,46-4,40 (m, 4 H); 4,09-3,96 (m, 16 H); 3,91 (s, 2 H); 3,73-3,56 (m, 20 H); 3,52 (t, J=5,1 Hz, 4 H); 3,45-3,32 (m, 8 H); 2,49 (t, J=5,8 Hz, 4 H); 2,05 (s, 18 H). LC-MS: 1366 (M+H)+.

Ejemplo 6: Boc-Lys(Boc)-OEG3-benzaldehído



El compuesto del Ejemplo 6 se preparó de manera similar al compuesto del Ejemplo 5 a partir de Boc-Lys (Boc).

Ejemplo 7: bis(bis(4-borono-3-fluorobenzoil)-3,5-aminometilbenzoato-epsilon,alfa-Lys-*N*-beta-Ala-OSu = (S)-3-(2,6-bis(3,5-bis((3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzamido)hexanamido)propanoato



13

Se suspendió ácido 3,5-dimetilbenzoico (1, 45,1 g, 18,4 mmol) en metanol (130 ml) y se trató con ácido sulfúrico concentrado (13 ml). La mezcla se sometió a reflujo durante 2 días. Después de la neutralización con carbonato de sodio (80 g), la mezcla se disolvió en agua (250 ml) y se extrajo con éter dietílico (2 x 300 ml). Las fases orgánicas se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron hasta la sequedad para proporcionar 3,5-dimetilbenzoato de metilo (2) como un aceite amarillo pálido. Rendimiento: 46,8 g (95 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,67 (s, 2 H); 7,19 (s, 1 H); 3,91 (s, 3 H); 2,37 (s, 6 H).

Una mezcla de 3,5-dimetilbenzoato de metilo anterior (2, 46,7 g, 284 mmol), *N*-bromosuccinimida (NBS, 177 g, 994 mmol) y una espátula de azobisisobutironitrilo en formiato de metilo (550 ml) se irradió con luz visible mientras se calentaba a reflujo durante 20 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en diclorometano (300 ml). La succinimida precipitada se separó por filtración y el filtrado se lavó con una solución acuosa saturada de sulfito de sodio (2 x 250 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: hexano/acetato de etilo 15:1). El producto se cristalizó a partir de una mezcla de acetato de etilo/ciclohexano (1:5, 360 ml) para dar 3,5-bis(bromometil)benzoato de metilo (3) como un sólido blanco.

Rendimiento: 46,5 g (51 %). RF (SiO2, hexanos/acetato de etilo 9:1): 0,50. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,03-7,97 (m, 2 H); 7,62 (s, 1 H); 4,50 (s, 4 H); 3,94 (s, 3 H).

Una suspensión del bromuro anterior (3, 35,2 g, 109 mmol) y diformilamida de sodio (29,1 g, 306 mmol) en acetonitrilo seco (200 ml) se sometió a reflujo durante 4 horas. Después de la eliminación de un sólido blanco por filtración, el disolvente se evaporó. La recristalización a partir de una mezcla de acetato de etilo/ciclohexano proporcionó 3,5-bis((*N*-formilformamido)metil)benzoato de metilo (4) como un polvo blanco.
Rendimiento: 32,7 g (98 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,08 (s, 4 H); 7,72 (s, 2 H); 7,44 (s, 1 H); 4,70 (s, 4 H); 3,84 (s, 3 H).

El benzoato (4, 32,7 g, 107 mmol) se disolvió en una mezcla de 1,4-dioxano (340 ml) y ácido clorhídrico concentrado (430 ml) y se calentó durante 2 horas a reflujo. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se hizo pasar un flujo de aire a través de la solución. El producto comenzó a precipitar. Después de 1 hora, el disolvente se evaporó y el producto se recristalizó a partir de una mezcla de metanol/éter dietílico (300 ml) para proporcionar diclorhidrato de ácido 3,5-bis(aminometil)benzoico (5) como un polvo blanco. Rendimiento: 22,2 g (82 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, D2O, δH): 8,08 (s, 2 H); 7,72 (s, 1 H); 4,26 (s, 4 H).

El diclorhidrato (5, 6,33 g, 25,0 mmol) se disolvió en agua (110 ml). Posteriormente se añadió *N*,*N*-diisopropiletilamina (17,4 ml, 100 mmol), *N*,*N*-dimetilformamida (110 ml) y 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (6, 18,2 g, 50,0 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente; después se neutralizó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M. El disolvente se evaporó tres veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano/tolueno (1:1, 100 ml) y se trató con pinacol (0,60 g, 5,00 mmol). La mezcla se evaporó tres veces a partir del tolueno. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se lavó con agua (3 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (50 ml) y el producto comenzó a precipitar. Se añadió ciclohexano (170 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y éter dietílico y se secó al vacío para dar ácido 3,5-bis((3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoico (7) como un polvo blanco. Rendimiento: 14,5 g (86 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,96 (bs, 1 H); 9,33-9,23 (m, 2 H); 7,83-7,67 (m, 6 H); 7,64-7,57 (m, 2 H); 7,54 (s, 1 H); 4,55-4,46 (m, 4 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 512,0 (M+H-2 x pinacol)+.

El ácido anterior (7, 14,4 g, 21,3 mmol) se disolvió en una mezcla de acetonitrilo/*N*,*N*-dimetilformamida (4:1, 100 ml). Posteriormente se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 2,95 g, 25,6 mmol) y *N*,*N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 5,28 g, 25,6 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El subproducto insoluble se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se lavó con agua (2 x 150 ml) y salmuera (1 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en acetonitrilo (100 ml). La *N*,*N*-diciclohexilurea residual se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en tetrahidrofurano (150 ml) y se trató con pinacol (0,60 g, 5,00 mmol) y tamices moleculares durante la noche. La mezcla se filtró a través de almohadilla de celite y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (40 ml). El producto precipitó mediante la adición de ciclohexano (150 ml). El precipitado se filtró, se lavó con ciclohexano y éter dietílico y se secó al vacío para dar 3,5-bis((3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (8) como un polvo blanco. Rendimiento: 13,3 g (75 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,34-9,21 (m, 2 H); 7,94 (s, 2 H); 7,79-7,66 (m, 5 H); 7,65-7,56 (m, 2 H); 4,62-4,50 (m, 4 H); 2,88 (s, 4 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 773,4 (M+H)+, 691,2 (M+H-pinacol)+, 609,1 (M+H-2 x pinacol)+.

La resina de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,8 mmol/g (9, 10,9 g, 19,7 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (140 ml) durante 20 minutos. Una solución de ácido 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-bAla-OH, 4,08 g, 13,1 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (8,68 ml, 49,9 mmol) en diclorometano seco (120 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (4,57 ml, 26,2 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (1:4, 10 min, 140 ml). Después la resina se lavó con diclorometano (2 x 130 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 130 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 15 min, 2 x 130 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 130 ml), 2-propanol (2 x 130 ml), diclorometano (2 x 130 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 130 ml). Una solución de N2,N6-bis(*terc*-butoxicarbonil)-L-lisina (Boc-Lys(Boc)-OH, 9,09 g, 26,2 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 9,33 g, 26,2 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (8,23 ml, 47,2 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (110 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 3 horas. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 130 ml) y diclorometano (10 x 130 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con 2,2,2-trifluoroetanol (220 ml) durante la noche. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (2 x 200 ml). Las soluciones se combinaron; el disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-063 mm; eluyente: diclorometano/metanol 90:10) para proporcionar ácido (S)-3-(2,6-

bis((terc-butoxicarbonil)amino)hexanamido)propanoico (10) como un sólido blanco. Rendimiento: 4,30 g (78 %). RF (SiO2, diclorometano/metanol 90:10): 0,40.
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d4, δH): 4,27-3,99 (m, 1 H); 3,65-3,44 (m, 2 H); 3,17-3,00 (m, 2 H); 2,70-2,56 (m, 2 H); 1,86-1,58 (m, 2 H); 1,57-1,26 (m, 22 H). LC-MS: 417,5 (M+H)+.

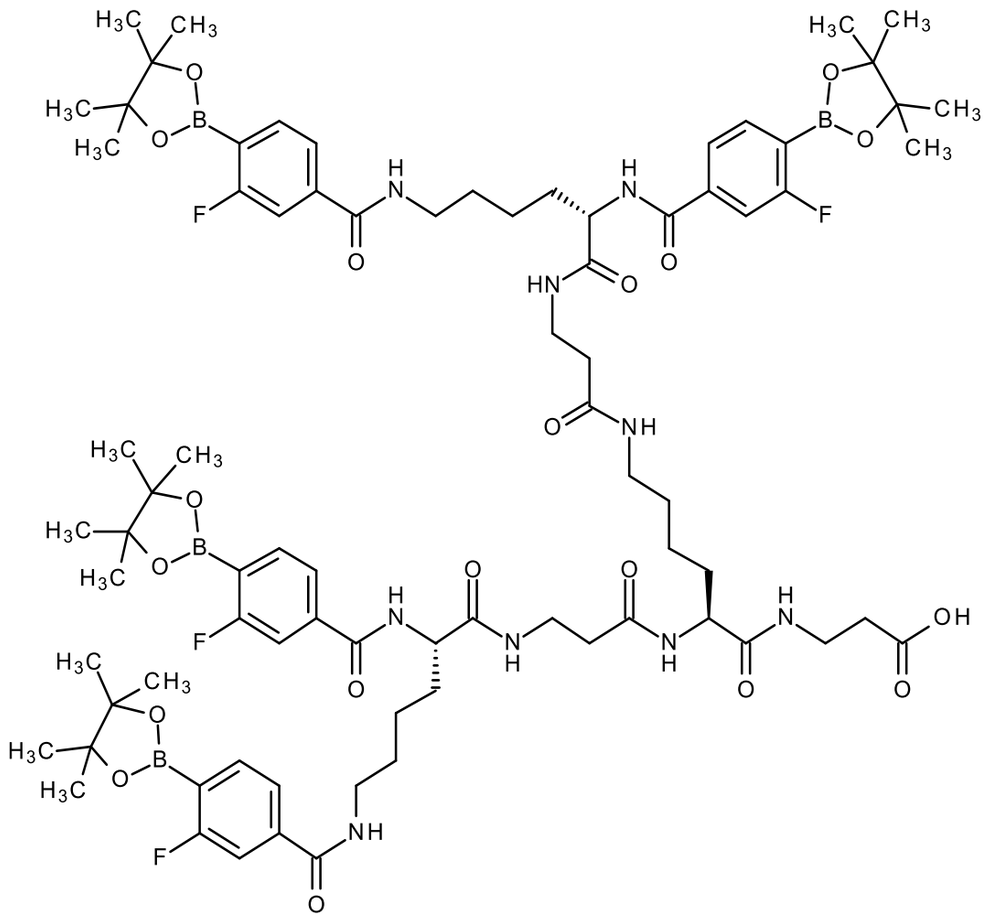
El compuesto anterior (10, 4,30 g, 10,3 mmol) se disolvió en ácido trifluoroacético (50 ml) y se dejó reposar durante 1,5 horas. El disolvente se evaporó. Se añadió éter dietílico (100 ml) y la mezcla se agitó durante la noche. El disolvente se decantó y el residuo se secó al vacío para producir 2,2,2-trifluoroacetato de (S)-6-((2-carboxietil)amino)-6-oxohexano-1,5-diaminio (11) como un aceite duro. Rendimiento: 4,50 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 8,58 (t, J=5,4 Hz, 1 H); 8,18 (bs, 2 H); 7,87 (bs, 2 H); 3,77-3,62 (m, 1 H); 3,34-3,18 (m, 2 H); 2,83-2,65 (m, 2 H); 1,74-1,60 (m, 2 H); 1,60-1,44 (m, 2 H); 1,37-1,19 (m, 2 H). LC-MS: 217,2 (M+H)+.

La sal anterior (11, 2,70 g, 6,06 mmol) se disolvió en *N*,*N*-dimetilformamida (100 ml). Posteriormente se añadieron *N*,*N*-diisopropiletilamina (5,30 ml, 30,3 mmol), agua (50 ml) y éster activado (8, 9,36 g, 12,1 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente; después se neutralizó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M. El disolvente se evaporó tres veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano/tolueno (1:1, 100 ml) y se trató con pinacol (0,50 g, 4,23 mmol). La mezcla se evaporó tres veces a partir del tolueno. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se lavó con agua (1 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. Se observó una escisión parcial del éster de pinacol por análisis de RMN. El material se trató con pinacol (0,04 g, 0,34 mmol) y sulfato de magnesio (20,0 g) en tetrahidrofurano (110 ml) durante la noche. La mezcla se filtró y el filtrado se evaporó. El producto se cristalizó a partir de una mezcla de diclorometano/ciclohexano (1:5, 180 ml) para proporcionar ácido 3,5-bis((3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzamido)hexanamido)propanoico (12) como un polvo pardo pálido. Rendimiento: 5,86 g (63 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,31-9,13 (m, 4 H); 8,53-8,43 (m, 1 H); 8,43-8,35 (m, 1 H); 8,11-7,98 (m, 1 H); 7,78-7,55 (m, 16 H); 7,48-7,38 (m, 2 H); 4,55-4,43 (m, 8 H); 4,43-4,33 (m, 1 H); 3,31-3,13 (m, 4 H); 2,38 (t, J=6,4 Hz, 2 H); 1,79-1,64 (m, 2 H); 1,57-1,44 (m, 2 H); 1,42-1,21 (m, 50 H).

El ácido carboxílico (12, 5,46 g, 3,57 mmol) se disolvió en acetonitrilo (50 ml). Se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 0,70 g, 6,07 mmol) y *N*,*N*-diciclohexilcarbodiimida (1,47 g, 7,14 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El subproducto se eliminó por filtración. El filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en

acetato de etilo (150 ml) y se lavó con agua (1 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (60 ml) y se trató con pinacol (0,06 g, 0,50 mmol) y tamices moleculares durante la noche. La mezcla se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (10 ml) y precipitó después de la adición de éter dietílico (90 ml). El producto se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó al vacío para producir el compuesto del título (13) como un polvo pardo pálido. El producto contiene trazas de *N*,*N*-diciclohexilurea. Rendimiento: 1,55 g (27 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,28-9,17 (m, 3 H); 8,52-8,33 (m, 2 H); 8,25-8,15 (m, 1 H); 7,80-7,51 (m, 16 H); 7,48-7,35 (m, 2 H); 4,58-4,32 (m, 9 H); 3,49-3,35 (m, 2 H); 3,25-3,09 (m, 2 H); 2,91-2,72 (m, 6 H); 1,81-1,65 (m, 2 H); 1,57-1,42 (m, 2 H); 1,41-1,12 (m, 50 H). LC-MS: 1631,9 (M+H)+, 1549,0 (M-pinacol+H)+, 715,0 (M-2 x H2O-2 x pinacol /2+H)+, 1384,5 (M-3 x pinacol+H)+, 1302,3 (M-4 x pinacol+H)+.

Ejemplo 8: Ácido (7S,18S)-18-(3-((S)-2,6-bis(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)hexanamido)propanamido)-7-(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)-1-(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)-1,8,12,19-tetraoxo-2,9,13,20-tetraazatricosan-23-oico



7

Una mezcla de ácido 2-fluoro-4-carboxifenilborónico (1, 15,1 g, 82,0 mmol), pinacol (9,81 g, 83,0 mmol) y sulfato de magnesio (150 g) en tetrahidrofurano (400 ml) se agitó durante

el fin de semana a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de celite, el filtrado se evaporó y se secó al vacío para producir ácido 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico (2) como un polvo amarillo pálido. Rendimiento: 21,5 g (98 %). Espectro de ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6, δH): 7,95-7,42 (m, 3 H); 1,30 (s, 12 H).

El ácido carboxílico (2, 21,4 g, 81,9 mmol) se disolvió en diclorometano (300 ml). Se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 18,8 g, 163 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 31,3 g, 163 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (1 x 200 ml), agua (1 x 200 ml) y salmuera (1 x 200 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (60 ml) y se precipitó mediante la adición de ciclohexano (250 ml). El producto se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para producir 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (3) como un polvo beige. Rendimiento: 27,8 g (93 %). Espectro de ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6, δH): 7,98-7,87 (m, 2 H); 7,80 (dd, J=9,2 Hz, 1 H); 2,90 (s, 4 H); 1,33 (s, 12 H).

La resina de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,8 mmol/g (4, 16,4 g, 29,5 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (230 ml) durante 20 minutos. Una solución de ácido 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-bAla-OH, 6,13 g, 19,7 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (13,0 ml, 74,8 mmol) en diclorometano seco (180 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (6,86 ml, 39,4 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (1:4, 10 min, 200 ml). Después la resina se lavó con diclorometano (2 x 200 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 15 min, 2 x 200 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml), 2-propanol (2 x 200 ml), diclorometano (2 x 200 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml). Una solución de N2,N6-bis(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-lisina (Fmoc-Lys(Fmoc)-OH, 23,3 g, 39,4 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 14,0 g, 39,4 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (12,3 ml, 70,9 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (180 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 2,5 horas. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml), diclorometano (2 x 200 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 15 min, 2 x 200 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml), 2-propanol (2 x 200 ml), diclorometano (2 x 200 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml).

Una solución de ácido 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-bAla-OH, 24,5 g, 78,7 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 28,0 g, 78,7 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (24,7 ml, 142 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (230 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 3 horas. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml), diclorometano (2 x 200 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 15 min, 2 x 200 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml), 2-propanol (2 x 200 ml), diclorometano (2 x 200 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml). Una solución de N2,N6-bis(terc-butoxicarbonil)-L-lisina (Boc-Lys(Boc)-OH, 27,3 g, 78,7 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 28,0 g, 78,7 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (24,7 ml, 142 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (230 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 3 horas. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml), diclorometano (2 x 200 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 15 min, 2 x 200 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml), 2-propanol (2 x 200 ml), diclorometano (2 x 200 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 200 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con 2,2,2-trifluoroetanol (350 ml) durante la noche. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (2 x 300 ml). Las soluciones se combinaron; el disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-063 mm; eluyente: diclorometano/metanol 85:15) para proporcionar ácido (10S,21S)-21-(3-((S)-2,6-bis((terc-butoxicarbonil)amino)hexanamido)propanamido)-10-((terc-butoxicarbonil)amino)-2,2-dimetil-4,11,15,22-tetraoxo-3-oxa-5,12,16,23-tetraazahexacosan-26-oico (5) como un sólido blanco. Rendimiento: 11,3 g (56 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d4, δH): 4,52-4,43 (m, 1 H); 4,22-3,98 (m, 2 H); 3,64-3,44 (m, 6 H); 3,27-3,16 (m, 2 H); 3,15-3,03 (m, 4 H); 2,69-2,48 (m, 6 H); 1,84-1,59 (m, 6 H); 1,58-1,28 (m, 48 H). LC-MS: 1016,2 (M+H)+.

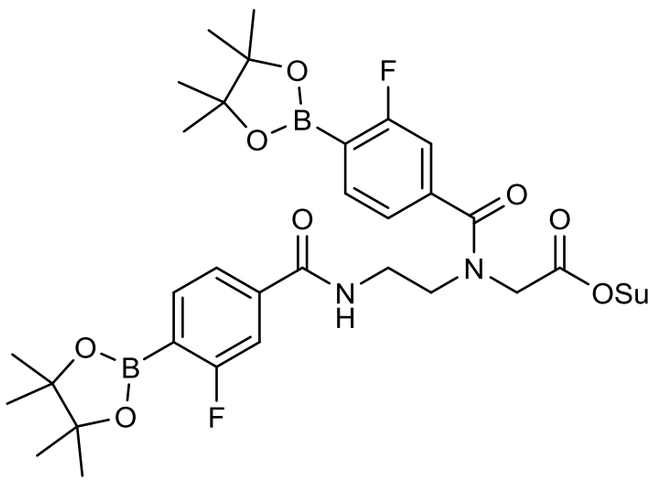
El compuesto anterior (5, 11,3 g, 11,1 mmol) se disolvió en ácido trifluoroacético (200 ml) y se dejó reposar durante 1,5 horas. Después la mezcla se concentró y se añadió éter dietílico (200 ml). Después de agitar durante la noche, el precipitado se filtró, se lavó con éter dietílico y se secó al vacío para producir 2,2,2-trifluoroacetato de (5S,12S,23S)-12-((2-carboxietil)carbamoil)-6,10,18,22-tetraoxo-7,11,17,21-tetraazaheptacosano-1,5,23,27-tetraaminio (6) como un polvo blanco. Rendimiento: 9,25 g (99 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 8,56-8,44 (m, 2 H); 8,27-7,72 (m, 11 H); 4,22-4,08 (m, 1 H);

3,78-3,60 (m, 2 H); 3,39-3,17 (m, 6 H); 3,07-2,92 (m, 2 H); 2,82-2,66 (m, 4 H); 2,42-2,19 (m, 6 H); 1,77-1,43 (m, 10 H); 1,42-1,14 (m, 8 H).

La sal anterior (6, 7,91 g, 9,37 mmol) se disolvió en *N*,*N*-dimetilformamida (170 ml). Posteriormente se añadió *N*,*N*-diisopropiletilamina (14,7 ml, 84,3 mmol), agua (0,50 ml) y éster activado (3, 13,6 g, 37,5 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente; después se acidificó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M. El disolvente se evaporó tres veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano/tolueno (1:1, 100 ml) y se trató con pinacol (1,00 g, 8,46 mmol). La mezcla se evaporó tres veces a partir del tolueno. El residuo se disolvió en acetato de etilo (150 ml) y se lavó con agua (1 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró hasta 1/3 del volumen. Se añadió ciclohexano (150 ml); el precipitado se filtró y se lavó con ciclohexano. El sólido se suspendió en una mezcla de acetonitrilo/éter dietílico (1:1, 150 ml). El precipitado se filtró, se lavó con acetonitrilo y se secó al vacío para producir el compuesto del título (7) como un sólido blanco. Rendimiento: 4,10 g (27 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 8,67-8,43 (m, 4 H); 8,05-7,83 (m, 4 H); 7,82-7,47 (m, 13 H); 4,46-4,27 (m, 2 H); 4,20-4,05 (m, 1 H); 3,42-3,13 (m, 10 H); 3,05-2,90 (m, 2 H); 2,42-2,27 (m, 4 H); 2,27-2,17 (m, 2 H); 1,84-1,66 (m, 4 H); 1,63-1,10 (m, 62 H). LC-MS: 1226,4 (M-3 x H2O-4 x pinacol+H)+.

Ejemplo 9: 2,5-dioxopirrolidin-1-il *N*-(2-(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)etil)-*N*-(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)glicinato



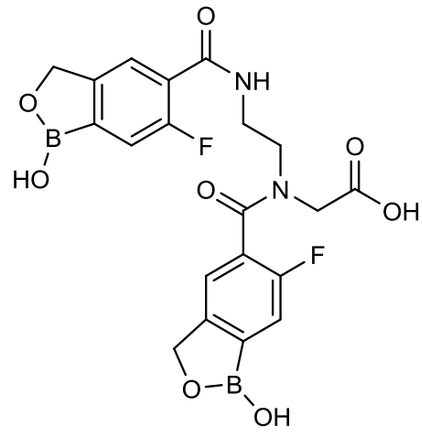
Se disolvió ácido 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico (2, 8,85 g, 33,3 mmol) en diclorometano (100 ml) seguido de la adición de hexafluorofosfato de 1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridina 3-óxido (V) (HATU, 12,3 g, 32,4 mmol), *N*,*N*-diisopropiletilamina (14,5 ml, 83,2 mmol) y clorhidrato de (2-aminoetil)glicinato de terc-butilo (1, 4,11 g, 16,6 mmol). La mezcla de reacción se

agitó durante 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (2 x 100 ml), agua (1 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto crudo se disolvió en tetrahidrofurano seco (50 ml) y se añadió 2,3-dimetil-2,3-butanodiol (3,70 g, 31,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después la mezcla de reacción se evaporó y el producto crudo se purificó por cromatografía rápida (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: diclorometano/acetato de etilo 5:2) para proporcionar *N*-(2-(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)etil)-*N*-(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)glicinato de terc-butilo (3) como una espuma blanca. Rendimiento: 8,13 g (73 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 8,78-8,55 (m, 1 H); 7,79-7,44 (m, 4 H); 7,12-6,88 (m, 2 H); 4,18-3,90 (m, 2 H); 3,67-3,47 (m, 2 H); 3,45-3,29 (m, 2 H); 1,44 (s, 9 H); 1,30 (s, 24 H).

El compuesto preparado anterior (3, 8,13 g, 12,1 mmol) se disolvió en ácido trifluoroacético (100 ml) y se dejó reposar durante 2,5 horas. Después el disolvente se evaporó y se evaporó dos veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en diclorometano (30 ml) y se añadió ciclohexano (250 ml). El producto se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para producir *N*-(2-(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)etil)-*N*-(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)glicina (4) como un polvo blanco. Rendimiento: 6,91 g (93 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, 80 C, δH): 8,49-8,38 (m, 1 H); 7,76-7,68 (m, 1 H); 7,67-7,59 (m, 2 H); 7,57-7,45 (m, 1 H); 7,16-7,09 (m, 1 H); 7,04-6,94 (m, 1 H); 4,20-4,03 (m, 2 H); 3,59-3,40 (m, 4 H); 1,33 (s, 24 H). LC-MS: 449,9 (M-2 x pinacol+H)+, 532,1 (M-pinacol+H)+, 614,2 (M+H)+.

El ácido (4, 6,90 g, 11,2 mmol) se disolvió en una mezcla de diclorometano/tetrahidrofurano (1:1, 100 ml) seguido de la adición de *N*-hidroxisuccinimida (1,36 g, 11,8 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (2,26 g, 11,8 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (150 ml) y se lavó con agua (2 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto precipitó a partir de una mezcla de diclorometano/ciclohexano (25 ml/250 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para producir el compuesto del título (5) como un polvo blanco. Rendimiento: 7,62 g (96 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, 80 C, δH): 8,51-8,38 (m, 1 H); 7,77-7,57 (m, 3 H); 7,55-7,45 (m, 1 H); 7,18-7,10 (m, 1 H); 7,06-6,97 (m, 1 H); 4,62 (bs, 2 H); 3,67-3,41 (m, 4 H); 2,84 (s, 4 H); 1,33 (s, 24 H). LC-MS: 547,0 (M-2 x pinacol+H)+, 629,1 (M-pinacol+H)+, 711,3 (M+H)+.

Ejemplo 10: *N*-(6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carbonil)-*N*-(2-(6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carboxamido)etil)glicina



4

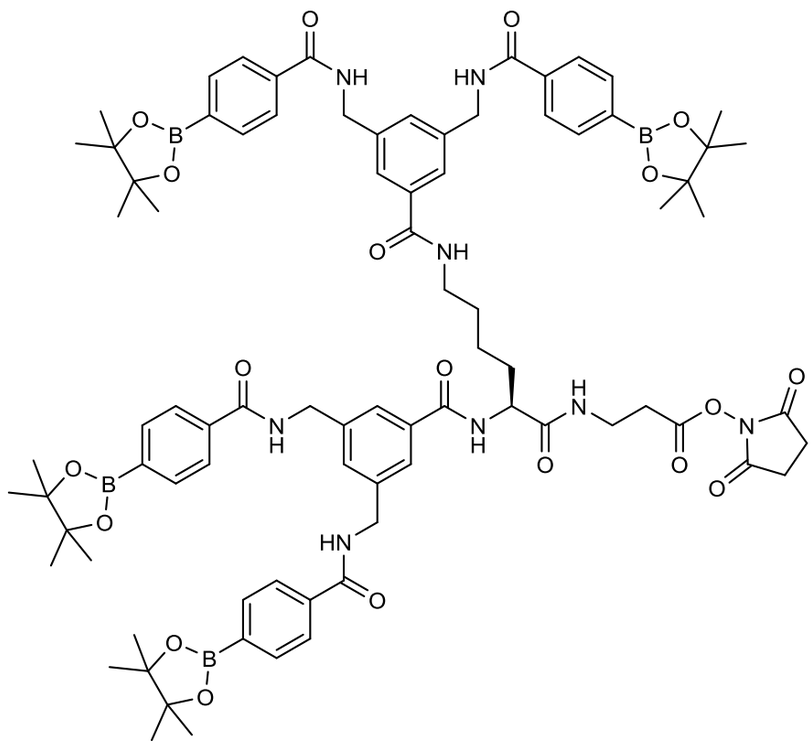
Se disolvió ácido 6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carboxílico (1, 10,0 g, 51,0 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml). Se añadieron *N*,*N*-dimetilformamida (15 ml), *N*-hidroxisuccinimida (6,46 g, 56,1 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (10,8 g, 56,1 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 2 horas, los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida y el residuo se redisolvió en acetato de etilo (400 ml) y se lavó con ácido clorhídrico acuoso 1 M (2 x 100 ml). La parte orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro. Los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida para dar 6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2) como un sólido blanco. Rendimiento: 13,8 g (92 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,65 (s, 1 H); 8,11 (d, J=5,9 Hz, 1 H); 7,71 (d, J=10,1 Hz, 1 H); 5,08 (s, 2 H); 2,90 (s, 4 H). LC-MS: 294,4 (M+H)+.

Se disolvió (2-aminoetil)glicina (3, 1,81 g, 15,4 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml), se añadieron trietilamina (12,8 ml, 92,1 mmol) y 6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2, 9,00 g, 30,7 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 16 horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se calentó hasta 40 °C y se agitó durante otras 72 horas. Después los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida y el residuo se redisolvió en acetato de etilo (400 ml) y se lavó con ácido clorhídrico acuoso 1 M (100 ml). La parte orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro. Los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida y el producto se precipitó a partir de una mezcla de acetonitrilo/agua, se recogió por centrifugación y se liofilizó para proporcionar *N*-(6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carbonil)-*N*-(2-(6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carboxamido)etil)glicina 4 como un sólido blanquecino.

Rendimiento: 1,99 g (27 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,87 (bs, 1 H); 9,50-9,37 (m, 2 H); 8,52-8,22 (m, 1 H); 7,69-7,30 (m, 4 H); 5,08-4,70 (m, 4 H); 4,27-3,96 (m, 2 H); 3,74-3,35 (m, 4 H). LC-MS: 475,5 (M+H)+.

Ejemplo 11: (S)-3-(2,6-bis(3,5-bis((4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzamido)hexanamido)propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



4

La resina de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,5 mmol/g (1, 21,0 g, 31,5 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (300 ml) durante 20 minutos. Una solución de ácido 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-bAla-OH, 6,54 g, 21,0 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (13,9 ml, 79,8 mmol) en diclorometano seco (250 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante el fin de semana. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (7,32 ml, 42,0 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (1:4, 1 x 15 min, 250 ml). Después la resina se lavó con diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 10 min, 1 x 20 min, 2 x 250 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml), 2-propanol (2 x 250 ml), diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml). Una solución de N2,N6-bis(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-lisina (Fmoc-Lys(Fmoc)-OH, 18,6 g, 31,5 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 11,2 g, 31,5 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (9,87 ml, 56,7 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (250 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml) y diclorometano (3 x 250 ml).

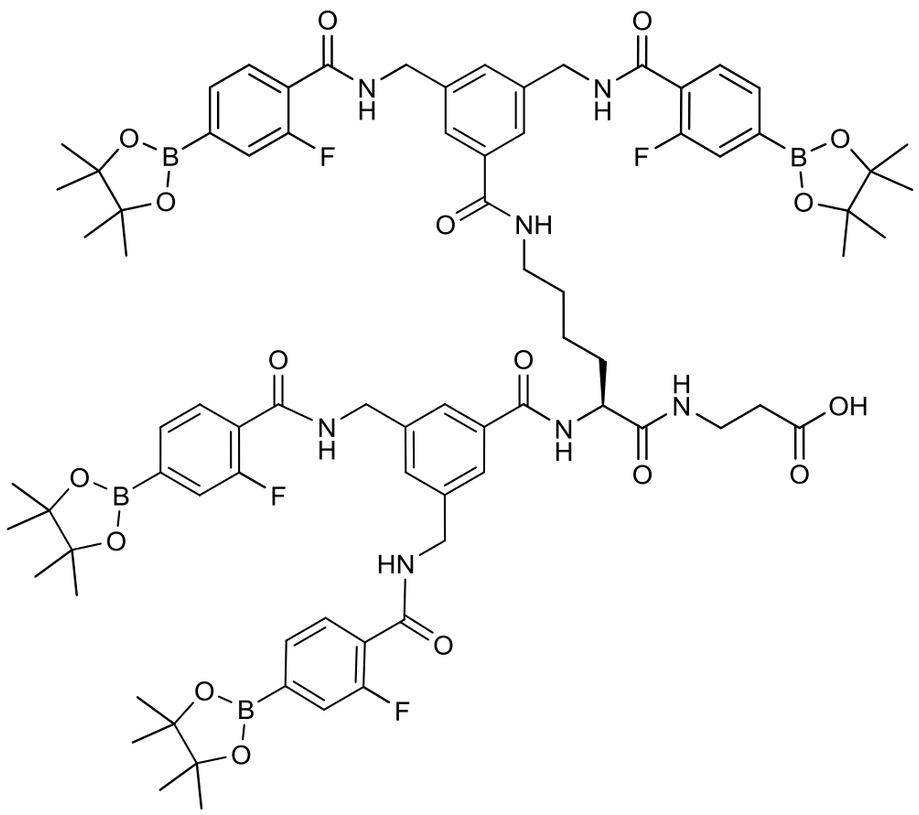
Se eliminó parte de la resina (2,00 mmol). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 10 min, 1 x 30 min, 3 x 30 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (4 x 30 ml), diclorometano (4 x 30 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (4 x 30 ml). Se añadió 3,5-bis((4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2, 3,65 g, 4,72 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (1,40 ml, 8,00 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (30 ml) a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (4 x 30 ml), diclorometano (4 x 30 ml), *N*,*N*-dimetilformamida (4 x 30 ml) y diclorometano (10 x 30 ml).

El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con una mezcla de 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol/diclorometano (1:2, 30 ml) durante 2 horas. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (3 x 30 ml). Las soluciones se combinaron y el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (5 ml) y se precipitó después de la adición de ciclohexano (25 ml). El producto se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para dar ácido (S)-3-(2,6-bis(3,5-bis((4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzamido)hexanamido)propanoico (3). Rendimiento: 1,53 g (52 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,20-9,03 (m, 4 H); 8,52-8,42 (m, 1 H); 8,39-8,32 (m, 1 H); 8,06-7,99 (m, 1 H); 7,94-7,80 (m, 10 H); 7,78-7,65 (m, 10 H); 7,48-7,39 (m, 2 H); 4,56-4,43 (m, 8 H); 4,43-4,32 (m, 1 H); 3,27-3,14 (m, 4 H); 2,40-2,29 (m, 2 H); 1,78-1,64 (m, 2 H); 1,56-1,430 (m, 3 H) 1,37-1,21 (s, 49 H).

El ácido carboxílico (3, 1,53 g, 1,00 mmol) se disolvió en diclorometano (40 ml). Se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 148 mg, 1,30 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 242 mg, 1,30 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con agua (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y se precipitó después de la adición de ciclohexano (50 ml). El producto se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y éter dietílico y se secó al vacío para producir el compuesto del título (4) como un polvo blanco. Rendimiento: 1,16 g (71 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,23-9,01 (m, 4 H); 8,50-8,42 (m, 1 H); 8,41-8,35 (m, 1 H); 8,23-8,16 (m, 1 H); 7,91-7,81 (m, 9 H); 7,77-7,70 (m, 9 H); 7,70-7,64 (m, 2 H); 7,47-7,40 (m, 2 H); 4,55-4,43 (m, 8 H); 4,40-4,34 (m, 1 H) 3,50-3,38 (m, 2 H); 3,26-3,12 (m, 2 H); 2,88-2,77 (m, 6 H); 1,82-1,63 (m, 2 H); 1,60-1,43 (m, 4 H); 1,31 (s, 48 H). LC-MS: 1631,9 (M+H)+, 1549,0 (M-pinacol+H)+, 715,0 (M-2 x H2O-2 x pinacol /2+H)+, 1384,5 (M-3 x pinacol+H)+, 1302,3 (M-4 x pinacol+H)+.

Ejemplo 12: Ácido (S)-3-(2,6-bis(3,5-bis((2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzamido)hexanamido)propanoico



13

Se suspendió ácido 3,5-dimetilbenzoico (1, 300 g, 2,00 mol) en metanol (900 ml) y se trató con ácido sulfúrico concentrado (90 ml). La mezcla se agitó durante 3 días. Después de la neutralización con carbonato de sodio (480 g) el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en agua (1 l) y se extrajo con éter dietílico (3 x 1 l). Las fases orgánicas se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron hasta la sequedad para proporcionar 3,5-dimetilbenzoato de metilo (2) como un aceite amarillo pálido. Rendimiento: 309 g (94 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,65 (s, 2 H); 7,16 (s, 1 H); 3,88(s, 3 H); 2,34 (s, 6 H).

Una mezcla de 3,5-dimetilbenzoato de metilo anterior (2, 307 g, 1,87 mol), *N*-bromosuccinimida (1,17 kg, 6,55 mol) y una espátula de azobisisobutironitrilo en formiato de metilo (2,7 l) se irradió con luz visible mientras se calentaba a reflujo durante 20 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en diclorometano (2 l). La succinimida precipitada se separó por filtración y el filtrado se lavó con solución acuosa saturada de sulfito de sodio (2 x 1 l). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. Varias cristalizaciones a partir de una mezcla caliente de acetato de etilo/ciclohexano y el lavado con ciclohexano dieron 3,5-bis(bromometil)benzoato de metilo (3) como un sólido blanco. El producto se preparó en dos lotes. Rendimiento: 243 g (40 %). RF (SiO2, hexanos/acetato de etilo 9:1): 0,50. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,00 (s, 2 H); 7,62 (s, 1 H); 4,51 (s, 4 H); 3,94 (s, 3 H).

Una suspensión del bromuro anterior (3, 122 g, 380 mmol) y diformilamida de sodio (101 g, 1,06 mol) en acetonitrilo seco (900 ml) se sometió a reflujo durante 4 horas. Después de la eliminación de un sólido blanco por filtración, el disolvente se evaporó junto con acetato de etilo y se secó al vacío para producir 3,5-bis((*N*-formilformamido)metil)benzoato de metilo (4) como un sólido amarillo pálido. Rendimiento: 116 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,07 (s, 4 H); 7,72 (s, 2 H); 7,43 (s, 1 H); 4,70 (s, 4 H); 3,82 (s, 3 H).

El benzoato (4, 116 g, 380 mmol) se disolvió en una mezcla de 1,4-dioxano (400 ml) y ácido clorhídrico concentrado (600 ml) y se calentó durante 3 horas a reflujo. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se hizo pasar un flujo de aire a través de la solución. El producto comenzó a precipitar. Después de 1 hora, el disolvente se evaporó y el producto se recristalizó a partir de una mezcla de metanol/éter dietílico para proporcionar diclorhidrato de ácido 3,5-bis(aminometil)benzoico (5) como un polvo blanco. Rendimiento: 89,5 g (92 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, D2O, δH): 8,10 (s, 2 H); 7,74 (s, 1 H); 4,28 (s, 4 H).

Se disolvió el diclorhidrato (5, 30,0 g, 118 mmol) e hidróxido de sodio (14,2 g, 356 mmol) en agua (240 ml). Se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (77,6 g, 356 mmol) en 1,4-dioxano (480 ml) con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante la noche y después se diluyó con acetato de etilo (400 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (400 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con agua (2 x 350 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo caliente (100 ml) y se añadió ciclohexano (400 ml). El precipitado se recogió por filtración y se lavó con ciclohexano para dar ácido 3,5-bis(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)benzoico (6) como un sólido blanco. Rendimiento: 39,1 g (87 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 7,70 (s, 2 H); 7,45-7,36 (m, 2 H); 7,33 (s, 1 H); 4,21-4,04 (m, 4 H); 1,39 (s, 18 H).

La resina de cloruro de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,5 mmol/g (7, 21,2 g, 31,8 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (280 ml) durante 40 minutos. Una solución de ácido 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-Ala-OH, 6,61 g, 21,2 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (14,1 ml, 80,7 mmol) en diclorometano seco (220 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (7,40 ml, 42,5 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (1:4, 1 x 20 min, 1 x 250 ml). Después la resina se lavó con diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 20 min, 2 x 220 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml), 2-propanol (2 x 250 ml), diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml).

Una solución de N2,N6-bis(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-lisina (Fmoc-Lys(Fmoc)-OH, 18,8 g, 31,8 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 11,3 g, 31,8 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (9,98 ml, 57,3 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (220 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 2,5 horas. La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml), diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml). Los grupos Fmoc se eliminaron mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 20 min, 2 x 220 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml), 2-propanol (2 x 250 ml), diclorometano (2 x 250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml). Una solución de ácido 3,5-bis(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)benzoico (6, 24,2 g, 63,7 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 22,6 g, 63,7 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (20,0 ml, 115 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (220 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 2,5 horas. La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 250 ml) y diclorometano (10 x 250 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con 2,2,2-trifluoroetanol (400 ml) durante la noche. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (2 x 200 ml). Los disolventes se evaporaron y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: diclorometano/metanol 90:10) para dar ácido (S)-3-(2,6-bis(3,5-bis(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)benzamido)hexanamido)propanoico (8) como una espuma blanca. Rendimiento: 16,3 g (82 %). RF (SiO2, diclorometano/metanol 90:10): 0,30.

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,75-7,35 (m, 6 H); 7,26-7,19 (m, 2 H); 7,13 (bs, 1 H); 5,61-5,35 (m, 4 H); 4,76-4,61 (m, 1 H); 4,25-4,08 (m, 8 H); 3,60-3,26 (m, 4 H); 2,60-2,45 (m, 2 H); 2,02-1,85 (m, 1 H); 1,85-1,69 (m, 1 H); 1,62-1,51 (m, 2 H); 1,46-1,39 (m, 38 H).

LC-MS: 942,1 (M+H)+.

El compuesto anterior (8, 16,1 g, 17,3 mmol) se disolvió en ácido trifluoroacético (80 ml) y se dejó reposar durante 30 minutos. El disolvente se concentró hasta 1/3 del volumen y se añadió una mezcla de éter dietílico/ciclohexano (1:1, 300 ml). La mezcla resultante se agitó durante la noche. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó al vacío para proporcionar 2,2,2-trifluoroacetato de(S)-((((6-((2-carboxietil)amino)-6-oxohexano-1,5-diil)bis(azanodiil))bis(carbonil))bis(benceno-5,1,3-triil))tetrametanaminio (9) como un polvo blanco. Rendimiento: 16,5 g (96 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d4, δH): 8,09 (dd, J=9,4 y 1,5 Hz, 4 H); 7,84 (d, J=10,5 Hz, 2 H); 4,76 (dd, J=8,2 y 6,1 Hz, 1 H); 4,36 (s, 4 H); 4,35 (s, 4 H); 3,60-3,43 (m, 4 H); 2,64 (t, J=6,5 Hz, 2 H); 2,00-1,80 (m, 2 H); 1,77-1,65 (m, 2 H); 1,57-1,48 (m, 2 H). LC-MS: 541,6 (M+H)+.

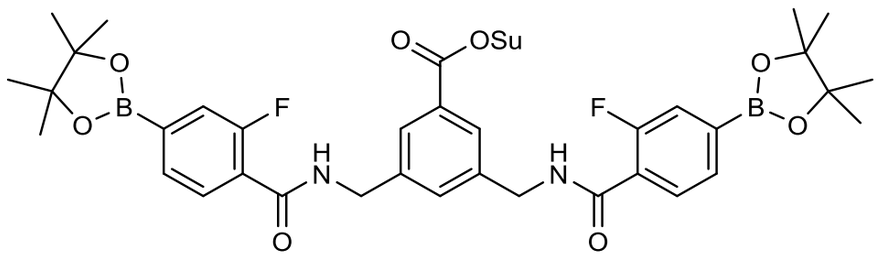
Una suspensión de ácido 4-carboxi-3-fluorofenilborónico (10, 30,0 g, 163 mmol) y pinacol (21,2 g, 179 mmol) en una mezcla de tolueno/etanol (1:1, 480 ml) se sometió a reflujo durante 24 horas. Después los disolventes se evaporaron y se evaporaron tres veces junto con diclorometano para proporcionar ácido 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico (11) como un polvo blanco.

Rendimiento: 43,3 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 7,60 (t, J=7,3 Hz, 1 H); 7,39 (d, J=7,5 Hz, 1 H); 7,24 (d, J=10,6 Hz, 1 H); 1,29 (s, 12 H).

El ácido (11, 35,2 g, 132 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (1:1, 600 ml), después se añadieron 1-hidroxi-pirrolidino-2,5-diona (HOSu, 25,2 g, 219 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 42,0 g, 219 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (400 ml) y se lavó con agua (2 x 300 ml) y salmuera (1 x 300 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto precipitó a partir de una mezcla de acetato de etilo/ciclohexano (1:4, 600 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para producir 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (12) como un polvo blanco. Rendimiento: 45,2 g (94 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 8,07 (t, J=7,3 Hz, 1 H); 7,71 (d, J=7,7 Hz, 1 H); 7,60 (d, J=10,8 Hz, 1 H); 2,90 (s, 4 H); 1,32 (s, 12 H).

Se disolvió 2,2,2-trifluoroacetato de (*S*)-((((6-((2-carboxietil)amino)-6-oxohexano-1,5-diil)bis(azanodiil))bis(carbonil))bis(benceno-5,1,3-triil))tetrametanaminio (9, 3,91 g, 3,92 mmol) en una mezcla de agua/*N*,*N*-dimetilformamida (1:1, 80 ml). Posteriormente se añadió *N*,*N*-diisopropiletilamina (6,15 ml, 35,3 mmol) y éster activado (12, 5,69 g, 15,7 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente; después se acidificó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M. El disolvente se evaporó tres veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en acetato de etilo (150 ml) y se lavó con agua (2 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se trató con pinacol (0,06 g, 0,49 mmol) en tetrahidrofurano (70 ml) y se evaporó tres veces a partir de tetrahidrofurano. El residuo se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (13) como un sólido beige. Rendimiento: 5,82 g (95 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,01-8,83 (m, 4 H); 8,51-8,42 (m, 1 H); 8,39-8,30 (m, 1 H); 8,10-8,00 (m, 1 H); 7,80-7,31 (m, 18 H); 4,59-4,33 (m, 9 H); 3,30-3,19 (m, 4 H); 2,39 (t, J=6,7 Hz, 2 H); 1,80-1,67 (m, 2 H); 1,59-1,49 (m, 2 H); 1,41-1,21 (m, 50 H). LC-MS: 566,6 ((M-4 x pinacol-4 x H2O)/2+H)+.

Ejemplo 13: 3,5-bis((2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



4

Se disolvió diclorhidrato de ácido 3,5-bis(aminometil)benzoico (2, 1,88 g, 7,43 mmol) en agua (20 ml). Posteriormente se añadieron *N*,*N*-diisopropiletilamina (10,4 ml, 59,5 mmol), *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) y 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (1, 5,40 g, 14,8 mmol).

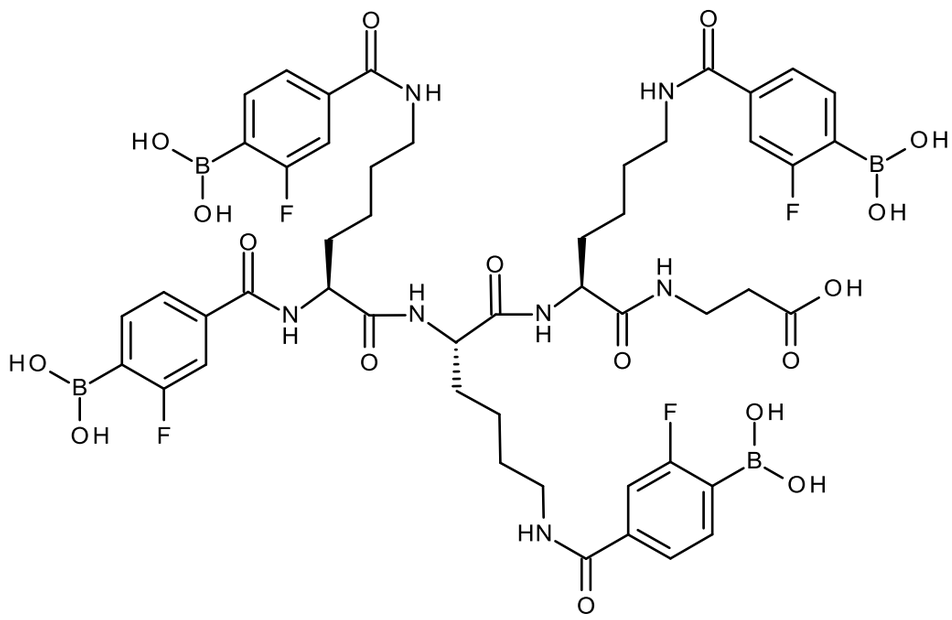
La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente; después se acidificó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (200 ml). El disolvente se evaporó tres veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano/tolueno (1:1, 100 ml) y se trató con pinacol (1,24 g, 10,5 mmol). La mezcla se evaporó tres veces a partir del tolueno. El residuo se disolvió en acetato de etilo (150 ml) y se lavó con agua (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y el producto comenzó a precipitar. Después se añadió ciclohexano (190 ml) y el precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para dar ácido 3,5-bis((3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoico (3) como un polvo blanco.

Rendimiento: 4,38 g (87 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,95 (bs, 1 H); 9,05-8,97 (m, 2 H); 7,82 (s, 2 H); 7,64 (t, J=7,3 Hz, 2 H); 7,56-7,49 (m, 3 H); 7,44-7,37 (m, 2 H); 4,55-4,47 (m, 4 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 677,5 (M+H)+, 595,3 (M+H-pinacol)+, 513,3 (M+H-2 x pinacol)+.

El ácido anterior (3, 4,37 g, 6,48 mmol) se disolvió en una mezcla de acetonitrilo/*N*,*N*-dimetilformamida (4:1, 100 ml) y se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 0,89 g, 7,77 mmol). La mezcla se enfrió hasta 0 °C seguido de la adición de *N*,*N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 1,60 g, 7,77 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos a 0 °C y durante la noche a temperatura ambiente. El subproducto insoluble se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se lavó con agua (2 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y se añadió ciclohexano (170 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano. El polvo blanco se disolvió en tetrahidrofurano (100 ml). Se añadieron pinacol (0,19 g, 1,60 mmol) y sulfato de magnesio (10 g) a la solución y la mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de celite y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y se añadió ciclohexano a la solución (170 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para dar el compuesto del título (4) como un polvo blanco.

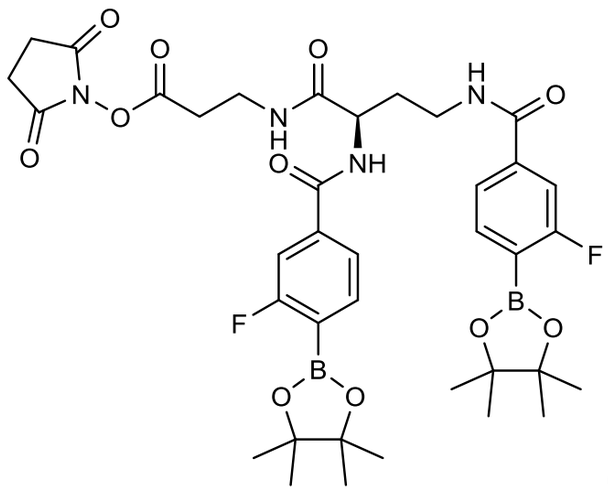
Rendimiento: 3,99 g (80 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,07 (t, J=5,7 Hz, 2 H); 7,96 (s, 2 H); 7,75 (s, 1 H); 7,65 (t, J=7,2 Hz, 2 H); 7,53 (d, J=7,7 Hz, 2 H); 7,41 (d, J=10,4 Hz, 2 H); 4,61-4,48 (m, 4 H); 2,89 (s, 4 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 774,6 (M+H)+, 692,4 (M+H-pinacol)+, 610,3 (M+H-2 x pinacol)+.

Ejemplo 14:



Preparado por síntesis de péptidos en fase sólida a partir de beta-Ala, Fmoc-Lys y 4-carboxi-2-fluorofenilboronato de pinacol

Ejemplo 15: (R)-3-(2,4-bis(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)butanamido)propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



6

Se suspendió diclorhidrato de ácido L-2,4-diaminobutírico (1, 4,81 g, 25,2 mmol) en una solución de bicarbonato de sodio (10,6 g, 126 mmol) en agua (80 ml). La mezcla se calentó hasta que se formó una solución transparente. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadieron 1,4-dioxano (80 ml) y *N*-(9-fluorenilmetoxicarboniloxi)succinimida (20,4 g, 60,4 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente y después

se acidificó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 5 M. El 1,4-dioxano se evaporó, la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 100 ml), se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron. El residuo se recristalizó dos veces a partir de una mezcla caliente de acetato de etilo/ciclohexano. El producto se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para producir ácido (R)-2,4-bis((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)butanoico (2) como un polvo blanco. Rendimiento: 13,3 g (94 %).

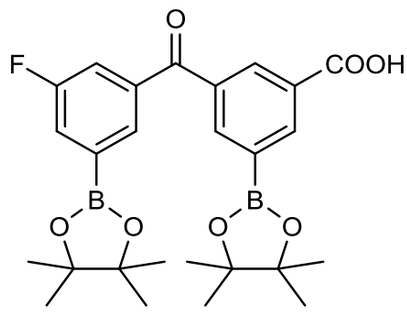
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,62 (bs, 1 H); 7,94-7,83 (m, 4 H); 7,79-7,55 (m, 5 H); 7,46-7,26 (m, 9 H); 4,34-4,13 (m, 6 H); 4,08-3,94 (m, 1 H); 3,14-3,02 (m, 2 H); 1,98-1,84 (m, 1 H); 1,84-1,65 (m, 1 H). LC-MS: 562,6 (M+H)+.

La resina de cloruro de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,5 mmol/g (3, 5,84 g, 8,75 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (70 ml) durante 20 minutos. Una solución de ácido 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-Ala-OH, 1,82 g, 5,84 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (3,86 ml, 22,2 mmol) en diclorometano seco (50 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (2,03 ml, 11,7 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (1:4, 1 x 10 min, 1 x 50 ml). Después la resina se lavó con diclorometano (2 x 50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 20 min, 2 x 50 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), 2-propanol (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml). Una solución de ácido (R)-2,4-bis((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)butanoico (2, 6,57 g, 11,7 mmol), etil ciano-glioxilato-2-oxima (Oxyma, 1,66 g, 11,7 mmol), *N*,*N*-diisopropilcarbodiimida (DIC, 1,81 ml, 11,7 mmol) y 2,4,6-colidina (3,09 ml, 23,4 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (50 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 2,5 horas. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml). Los grupos Fmoc se eliminaron mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 20 min, 2 x 50 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml), 2-propanol (2 x 50 ml), diclorometano (2 x 50 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 50 ml). Una solución de 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (4, 8,48 g, 23,4 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (7,32 ml, 42,0 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (50 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 2 horas. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 60 ml) y diclorometano (10 x 60 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con una mezcla de 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol/diclorometano (1:2, 90 ml) durante 2 horas. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (4 x 50 ml). Los disolventes se evaporaron; el residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con agua (2 x 80 ml) y salmuera (1 x 80 ml). La capa

orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó hasta la sequedad para proporcionar ácido (R)-3-(2,4-bis(3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)butanamido)propanoico (5) como un sólido beige. Rendimiento: 3,25 g (81 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 12,11 (bs, 1 H); 8,69 (d, J=7,9 Hz, 1 H); 8,63-8,52 (m, 1 H); 8,14-8,03 (m, 1 H); 7,81-7,61 (m, 5 H); 7,56 (d, J=10,5 Hz, 1 H); 4,54-4,39 (m, 1 H); 3,44-3,17 (m, 4 H); 2,43-2,33 (m, 2 H); 2,14-1,99 (m, 1 H); 1,99-1,85 (m, 1 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 521,0 (M-2 x pinacol+H)+, 603,1 (M-pinacol+H)+, 685,3 (M+H)+.

El ácido (5, 3,24 g, 4,73 mmol) se disolvió en diclorometano (50 ml) seguido de la adición de *N*-hidroxisuccinimida (0,65 g, 5,67 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (1,09 g, 5,67 mmol). La mezcla se agitó durante la noche, después se diluyó con diclorometano (50 ml) y se lavó con agua (2 x 80 ml) y salmuera (1 x 80 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó hasta la sequedad para proporcionar el compuesto del título (6) como un sólido blanco. Rendimiento: 3,42 g (92 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 8,72 (d, J=7,9 Hz, 1 H); 8,57 (t, J=5,4 Hz, 1 H); 8,22 (t, J=5,5 Hz, 1 H); 7,77-7,62 (m, 5 H); 7,56 (d, J=10,1 Hz, 1 H); 4,53-4,40 (m, 1 H); 3,48-3,27 (m, 4 H); 2,86 (t, J=7,1 Hz, 2 H); 2,80 (s, 4 H); 2,15-2,02 (m, 1 H); 2,02-1,88 (m, 1 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 618,1 (M-2 x pinacol+H)+, 700,2 (M-pinacol+H)+, 782,4 (M+H)+.

Ejemplo 16: Ácido 3-(3-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico



8

Se suspendió ácido 3-bromo-5-yodobenzoico (1, 16,4 g, 50,0 mmol) en metanol (100 ml) y se añadió ácido metanosulfónico (1 ml). La mezcla resultante se agitó durante 16 horas a 60 °C (baño de aceite). La solución transparente resultante se enfrió a -20 °C en el congelador durante 16 horas y el sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con metanol frío (-20 °C) y se secó al vacío para dar 3-bromo-5-yodobenzoato de metilo (2) como un sólido blanquecino.

Rendimiento: 13,9 g (82 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,30 (s, 1 H); 8,14 (s, 1 H); 8,04 (s, 1 H); 3,93 (s, 1 H).

Se disolvió 1,3-dibromo-5-fluorobenceno (3, 6,30 ml, 50,0 mmol) en éter dietílico seco (150 ml) y se enfrió hasta -78 C. Se añadió gota a gota *n*-butil litio 2,35 M en hexano (22,0

ml, 52,5 mmol) con agitación. Después de 15 minutos, se añadió *N*,*N*-dimetilformamida seca (7,70 ml, 100 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 15 minutos y después se dejó calentar hasta temperatura ambiente. Después de una hora, la mezcla de reacción se inactivó con solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (150 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó para dar 3-bromo-5-fluorobenzaldehído (4) como un aceite amarillento que se solidificó al almacenarlo en el congelador. Rendimiento: 10,2 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 9,92 (s, 1 H); 7,80 (bs, 1 H); 7,50 (bs, 2 H).

Se disolvió 3-bromo-5-yodobenzoato de metilo (2, 6,80 g, 20,0 mmol) en tetrahidrofurano seco (50 ml) en atmósfera de nitrógeno y se enfrió hasta -40 °C. Se añadió gota a gota un complejo de cloruro de isopropilmagnesio-cloruro de litio 1,3 M en tetrahidrofurano (16,1 ml, 21,0 mmol) mediante un embudo de adición. Después de 30 minutos, se añadió 3-bromo-5-fluorobenzaldehído (4) (4,87 g, 24,0 mmol) con la ayuda de tetrahidrofurano seco (5 ml). La mezcla resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante una hora y se agitó durante una hora más a temperatura ambiente. La reacción se inactivó mediante la adición de solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (50 ml) y se extrajo con éter dietílico (1 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml) y se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo 5 se disolvió en diclorometano seco (100 ml) y se añadió clorocromato de piridinio (PCC, 6,45 g, 30,0 mmol). Después la mezcla de reacción se agitó durante la noche (16 horas) antes de inactivarla con 2-propanol (3 ml). Después de agitar durante una hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de gel de sílice (100 g) cubierto con celite S y se lavó con diclorometano (2 x 100 ml). El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/diclorometano de 6:1 a 2:1) para dar 3-bromo-5-(3-bromo-5-fluorobenzoil)benzoato de metilo (6) como un sólido incoloro.

Rendimiento: 7,10 g (85 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,43 (s, 1 H); 8,30 (s, 1 H); 8,11 (s, 1 H); 7,71 (s, 1 H); 7,53 (d, J=7,6 Hz, 1 H); 7,41 (d, J=8,3 Hz, 1 H); 3,97 (s, 3 H).

LC-MS: no pudo detectarse ni aceite molecular ni fragmentos.

Un recipiente de reacción de 250 ml se cargó con acetato de potasio (6,70 g, 68,4 mmol) y la sal se secó durante 1 hora a 110 °C al vacío. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el recipiente de reacción se rellenó con nitrógeno y se cargó con 3-bromo-5-(3-bromo-5-fluorobenzoil)benzoato de metilo (6, 7,10 g, 481 mol), acetato de paladio (77,0 mg, 342 mol), 2-diciclohexilfosfino-2,4,6-triisopropilbifenilo (XPhos, 325 mg, 684 mol) y bis(pinacolato)diboro (9,53 mg, 37,6 mmol). Después el recipiente de reacción se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este procedimiento se repitió dos veces), se añadió

tetrahidrofurano anhidro (3 ml) con una jeringa, el recipiente se selló con un tapón de plástico y se sumergió en el baño de calentamiento precalentado a 60 C. Después de agitar a 400 rpm durante 16 horas (durante la noche), la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (100 ml) y se filtró a través de un tapón corto de sílice (70 g) cubierto con celite S con la ayuda de diclorometano (3 x 70 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto como una espuma cerosa amarillenta, que se trituró con n-hexano helado (70 ml) para provocar la cristalización. El sólido resultante se recogió por filtración y se secó al vacío para dar 3-(3-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (7) como un sólido blanco. Rendimiento: 7,10 g (88 %).

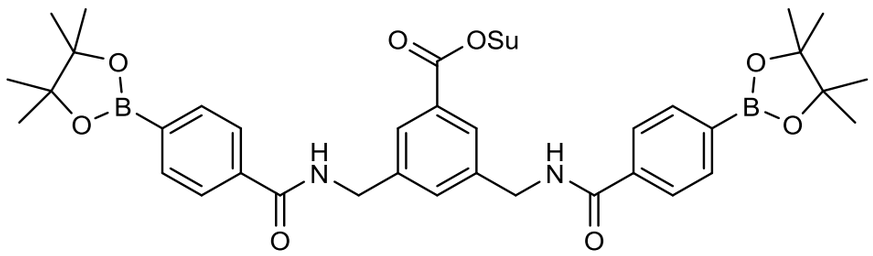
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,69 (s, 1 H); 8,48 (s, 1 H); 8,38 (s, 1 H); 7,97 (s, 1 H); 7,72 (d, J=8,5 Hz, 1 H); 7,54 (d, J=9,0 Hz, 1 H); 3,95 (s, 3 H); 1,36 (s, 12 H); 1,35 (s, 12 H). LC-MS: 511,6 (M+H)+.

El 3-(3-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (7, 7,10 g, 13,9 mmol) se suspendió en metanol (42 ml) y agua (13 ml). Se añadió hidróxido de litio (2,91 g, 69,5 mmol) y la mezcla resultante se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (120 ml) y se extrajo con éter dietílico (70 ml). La capa etérea se desechó y la capa acuosa se acidificó con ácido clorhídrico concentrado (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto crudo se disolvió en acetato de etilo caliente (80 ml) y se añadió pinacol hasta que se obtuvo una solución transparente. La solución se evaporó hasta la sequedad y después se evaporó dos veces a partir de diclorometano (2 x 40 ml) para dar el ácido 3-(3-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico del título

(8) como un sólido incoloro. El compuesto contiene pinacol residual que no pudo eliminarse.

Rendimiento: 6,82 g (99 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,77 (s, 1 H); 8,54 (t, J=1,8 Hz, 1 H); 8,44 (d, J=1,1 Hz, 1 H); 7,98 (s, 1 H); 7,80-7,68 (m, 1 H); 7,63-7,50 (m, 1 H); 1,37 (s, 12 H); 1,35 (s, 12 H). LC-MS: 497,5 (M+H)+, 415,4 (M-pinacol+H)+.

Ejemplo 17: (2,5-dioxopirrolidin-1-il) 3,5-bis[[[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil]amino]metil]benzoato

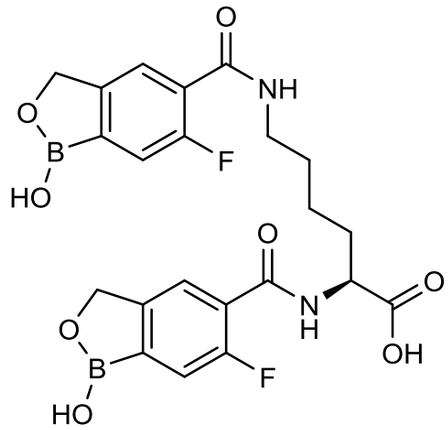


2

Se disolvió ácido 3,5-bis((4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoico (1, 2,57 g, 4,00 mmol) en una mezcla de acetonitrilo/*N*,*N*-dimetilformamida (3:1, 100 ml). Se añadió *N*-hidroxisuccinimida (0,55 g, 4,80 mmol). La mezcla se enfrió hasta 0 °C seguido de la adición de *N*,*N*-diciclohexilcarbodiimida (0,99 g, 4,80 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos a 0 °C y durante la noche a temperatura ambiente. El subproducto insoluble se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se lavó con agua (2 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en tolueno (10 ml) y el producto comenzó a precipitar. Se añadió ciclohexano (170 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para producir el compuesto del título (2) como un polvo blanco. El producto contiene trazas de *N*,*N*-diciclohexilurea.

Rendimiento: 2,85 g (97 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,24 (t, J=5,7 Hz, 2 H); 7,95-7,83 (m, 6 H); 7,79-7,70 (m, 5 H); 4,60-4,52 (m, 4 H); 2,87 (s, 4 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 737,4 (M+H)+, 655,2 (M+H-pinacol)+, 573,1 (M+H-2 x pinacol

Ejemplo 18: N2,N6-bis(6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carbonil)-L-lisina



4

Se disolvió ácido 6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carboxílico (1, 6,00 g, 30,6 mmol)) en tetrahidrofurano (80 ml). Se añadieron *N*,*N*-dimetilformamida (10 ml), *N*-hidroxisuccinimida (3,87 g, 33,7 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (6,46 g, 33,7 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 2 horas, los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida y el residuo se redisolvió en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con ácido clorhídrico acuoso 1 M (2 x 60 ml). La parte orgánica se secó mediante el uso de sulfato de sodio anhidro. Los

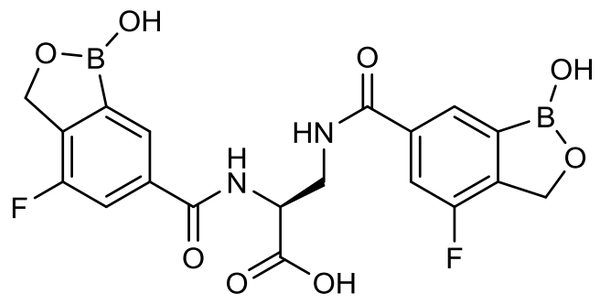
componentes volátiles se evaporaron a presión reducida para dar 6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2) como un sólido blanco. Rendimiento: 8,35 g (93 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,65 (s, 1 H); 8,11 (d, J=5,9 Hz, 1 H); 7,71 (d, J=10,1 Hz, 1 H); 5,08 (s, 2 H); 2,90 (s, 4 H). LC-MS: 294,4 (M+H)+.

Se disolvió clorhidrato de L-lisina (3, 1,56 g, 8,50 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (50 ml) y agua (25 ml). Se añadieron *N*,*N*-diisopropiletilamina (8,92 ml, 51,2 mmol) y 6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2, 5,00 g, 17,0 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 3 horas, los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida y el residuo se precipitó con ácido clorhídrico acuoso 1 M. El precipitado se lavó con agua y se purificó por precipitación a partir de una mezcla de acetonitrilo/agua, se recogió por centrifugación y se liofilizó para proporcionar N2,N6-bis(6-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-5-carbonil)-L-lisina (4) como un sólido blanco.

Rendimiento: 3,25 g (76 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,66 (bs, 1 H); 9,41 (d, J=5,7 Hz, 2 H); 8,59 (d, J=7,2 Hz, 1 H); 8,39 (t, J=5,0 Hz, 1 H); 7,61-7,53 (m, 2 H); 7,53-7,44 (m, 2 H); 4,97 (d, J=5,7 Hz, 4 H); 4,41-4,30 (m, 1 H); 3,30-3,20 (m, 2 H); 1,90-1,70 (m, 2 H); 1,59-1,38 (m, 4 H). LC-MS: 503,5 (M+H)+.

Ejemplo 19: Ácido (S)-2,3-bis(4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanoico



Una solución de 4-(bromometil)-3-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (1, 23,0 g, 61,7 mmol) e hidróxido de sodio (12,3 g, 0,31 mol) en agua (400 ml) se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió una solución acuosa de ácido clorhídrico 6 M (60 ml, 6 M) a la mezcla de reacción lo que dio como resultado un precipitado blanco. El matraz con el precipitado se mantuvo en el refrigerador durante 1 hora. Después se filtró y la torta de filtración se lavó con agua (200 ml) y se liofilizó para proporcionar ácido 4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (2) como un sólido blanco.

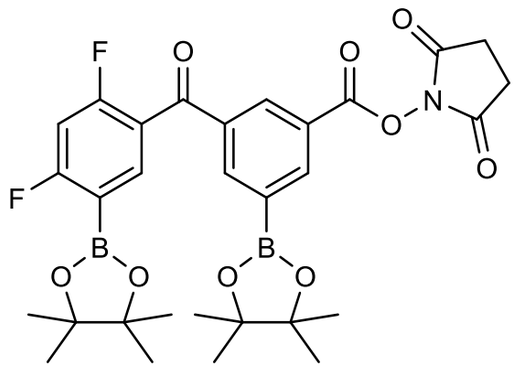
Rendimiento: 12,1 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,24 (bs, 1 H), 9,58 (s, 1 H), 8,20 (s, 1 H), 7,73 (d, J=9,9 Hz, 1 H), 5,14 (s, 2 H).

Se agitaron ácido 4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (2, 4,00 g, 20,4 mmol), *N*-hidroxisuccinimida (2,35 g, 20,4 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (3,91 g, 20,4 mmol) en tetrahidrofurano (120 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (20 ml) durante 3,5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evaporó y se extrajo con acetato de etilo (3 x 150 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (150 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar 4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (3) como un sólido blanco. Rendimiento: 5,68 g (97 %).

LC-MS: 294,3 (M+H)+.

Una solución de 4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (3, 5,10 g, 17,4 mmol), clorhidrato de ácido (S)-2,3-diaminopropanoico (4, 1,22 g, 8,70 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (9,28 ml, 52,2 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (100 ml) y agua (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó y se extrajo con acetato de etilo (2 x 250 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (150 ml), las capas orgánicas se lavaron con salmuera (200 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar ácido (S)-2,3-bis(4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanoico (5) como un sólido blanco. Rendimiento: 3,53 g (88 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,82 (bs, 1 H); 9,54 (d, J=6,2 Hz, 2 H); 8,86 (d, J=7,7 Hz, 1 H); 8,78 (t, J=6,0 Hz, 1 H); 8,10 (s, 1 H); 8,04 (s, 1 H); 7,80-7,63 (m, 2 H); 5,13 (d, J=6,2 Hz, 4 H); 4,77-4,62 (m, 1 H); 3,91-3,77 (m, 1 H); 3,77-3,62 (m, 1 H). LC-MS: 461,3 (M+H)+.

Ejemplo 20: 3-(2,4-difluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



8

Se disolvió ácido 3-bromo-5-yodobenzoico (1, 5,00 g, 15,3 mmol) en diclorometano anhidro (100 ml) y se añadieron *terc*-butanol (1,52 ml, 16,1 mmol), *N*,*N*'-diciclohexilcarbodiimida (3,31 ml, 16,1 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (1,96 ml, 16,1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Después la mezcla de reacción se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (2 x 50 ml)

y salmuera (1 x 40 ml). La parte orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro. Los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 10:1) para dar 3-bromo-5-yodobenzoato de *terc*-butilo (2) como un sólido blanco. Rendimiento: 4,67 g (80 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,22 (s, 1 H); 8,06 (s, 1 H); 8,00 (s, 1 H); 1,58 (s, 9 H).

El 3-bromo-5-yodobenzoato de *terc*-butilo (2, 4,31 g, 11,3 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano anhidro (50 ml) en atmósfera de nitrógeno y se enfrió hasta -40 °C. Se añadió lentamente gota a gota un complejo de cloruro de isopropilmagnesio-cloruro de litio 1,3 M en tetrahidrofurano (9,52 ml, 12,4 mmol). Después de 40 minutos, se añadió 5-bromo-2,4-difluorobenzaldehído (3, 2,86 g, 12,9 mmol) con la ayuda de tetrahidrofurano seco (5 ml). La mezcla resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante la noche (16 horas). La reacción se inactivó mediante la adición de una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (15 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (40 ml) y se secó con sulfato de sodio anhidro. Los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 10:1) para dar 3-bromo-5-((5-bromo-2,4-difluorofenil)(hidroxi)metil)benzoato de *terc*-butilo (4) como un sólido blanco. Rendimiento: 4,38 g (81 %).
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,02 (t, J=1,6 Hz, 1 H); 7,92 (s, 1 H); 7,77-7,65 (m, 2 H); 6,89 (dd, J=9,7 y 8,3, 1 H); 6,09 (d, J=3,9 Hz, 1 H); 2,43 (d, J= 4,0 Hz, 1 H); 1,68-1,58 (m, 9 H).

El 3-bromo-5-((5-bromo-2,4-difluorofenil)(hidroxi)metil)benzoato de *terc*-butilo (4) se disolvió en diclorometano seco (50 ml) y se añadió clorocromato de piridinio (PCC, 2,96 g, 13,7 mmol). Después la mezcla de reacción se agitó durante la noche (16 horas) antes de inactivarla con 2-propanol (1,5 ml). Después de agitar durante una hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de un tapón corto de celite (5 g) y se lavó con diclorometano (50 ml). Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 20:1) para dar 3-bromo-5-(5-bromo-2,4-difluorobenzoil)benzoato de *terc*-butilo (5) como un sólido incoloro. Rendimiento: 4,20 g (96 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,33 (t, J= 1,7 Hz, 1 H); 8,28-8,24 (m, 1 H); 8,10-8,07 (m, 1 H); 7,86 (t, J=7,3 Hz, 1 H); 7,03 (dd, J=9,3 y 8,1 Hz, 1 H); 1,61 (s, 9 H).

Se mezclaron 3-bromo-5-(5-bromo-2,4-difluorobenzoil)benzoato de *terc*-butilo (5, 4,20 g, 8,82 mmol), acetato de paladio (59,0 mg, 0,26 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2,4,6-

triisopropilbifenilo (XPhos, 252 mg, 0,52 mmol), acetato de potasio (3,46 g, 35,3 mmol) y bis(pinacolato)diboro (4,70 g, 18,5 mmol) en el matraz de reacción y la mezcla resultante se evacuó y se rellenó con argón (este procedimiento se repitió dos veces). Se añadió tetrahidrofurano anhidro (60 ml) con una jeringa, el recipiente se selló con un tabique de goma y se sumergió en el baño de calentamiento precalentado a 60 C. Después de agitar durante 16 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con ciclohexano (100 ml) y se filtró a través de un tapón corto de celite con la ayuda de diclorometano (100 ml). Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 10:1) para dar 3-(2,4-difluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de *terc*-butilo (6) como un sólido amarillo. Rendimiento: 4,78 g (95 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,61 (s, 1 H); 8,41 (d, J=1,5 Hz, 1 H); 8,34 (s, 1 H); 8,05 (dd, J=8,3 y 6,7 Hz, 1 H); 6,96-6,81 (m, 1 H); 1,61 (s, 9 H); 1,36 (d, J= 2,2 Hz, 24 H).

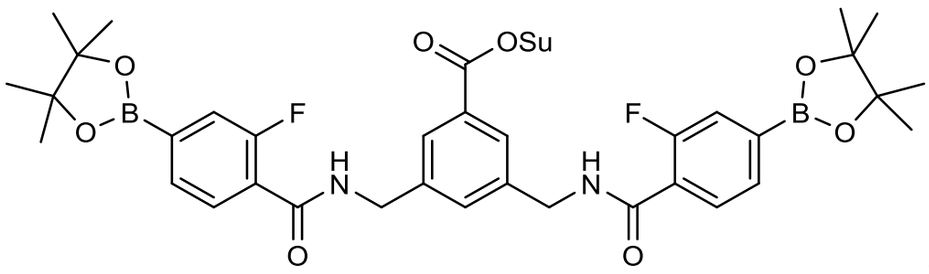
El 3-(2,4-difluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de *terc*-butilo (6, 4,78 g, 8,38 mmol) se disolvió en diclorometano (10 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (40 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas. Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida y el residuo se evaporó junto con diclorometano (4 x 50 ml). El ácido 3-(2,4-difluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico (7) resultante se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Rendimiento: 4,10 g (96 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,75 (s, 1 H); 8,50 (t, J=1,7 Hz, 1 H); 8,46 (s, 1 H); 8,09 (dd, J=8,4 y 6,8 Hz, 1 H); 6,95-6,83 (m, 1 H); 1,37 (d, J= 1,8 Hz, 24 H).

El ácido 3-(2,4-difluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico (7, 4,10 g, 8,00 mmol) se disolvió en diclorometano (50 ml) y se añadió *N*-hidroxisuccinimida (1,29 g, 11,2 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (2,14 g, 11,2 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 6 horas, la mezcla de reacción se lavó con una solución acuosa al 10 % de bisulfato de potasio (2 x 100 ml) y salmuera (30 ml). La parte orgánica se secó mediante el uso de sulfato de sodio anhidro. Los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida para dar 3-(2,4-difluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (8) como un sólido amarillo.

Rendimiento: 4,84 g (99 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,81-8,75 (m, 1 H); 8,57-8,51 (m, 1 H); 8,47 (s, 1 H); 8,08 (dd, J=8,5 y 6,7 Hz, 1 H); 6,89 (dd, J=9,9 y 9,0 Hz, 1 H); 2,92 (bs, 4 H); 1,36 (s, 24 H). LC-MS: 448,4 (M-2Pinacol+H)+.

Ejemplo 21: 3,5-bis((2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



4

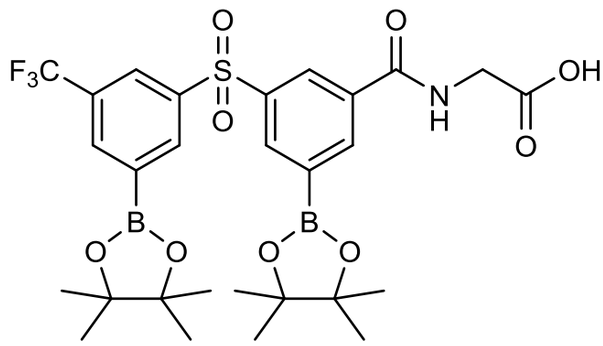
Se disolvió diclorhidrato de ácido 3,5-bis(aminometil)benzoico (2, 1,88 g, 7,43 mmol) en agua (20 ml). Posteriormente se añadieron *N*,*N*-diisopropiletilamina (10,4 ml, 59,5 mmol), *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) y 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (1, 5,40 g, 14,8 mmol).

La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente; después se acidificó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (200 ml). El disolvente se evaporó tres veces junto con tolueno. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano/tolueno (1:1, 100 ml) y se trató con pinacol (1,24 g, 10,5 mmol). La mezcla se evaporó tres veces a partir del tolueno. El residuo se disolvió en acetato de etilo (150 ml) y se lavó con agua (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y el producto comenzó a precipitar. Después se añadió ciclohexano (190 ml) y el precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para dar ácido 3,5-bis((3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzamido)metil)benzoico (3) como un polvo blanco. Rendimiento: 4,38 g (87 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,95 (bs, 1 H); 9,05-8,97 (m, 2 H); 7,82 (s, 2 H); 7,64 (t, J=7,3 Hz, 2 H); 7,56-7,49 (m, 3 H); 7,44-7,37 (m, 2 H); 4,55-4,47 (m, 4 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 677,5 (M+H)+, 595,3 (M+H-pinacol)+, 513,3 (M+H-2 x pinacol)+.

El ácido anterior (3, 4,37 g, 6,48 mmol) se disolvió en una mezcla de acetonitrilo/*N*,*N*-dimetilformamida (4:1, 100 ml) y se añadió *N*-hidroxisuccinimida (HOSu, 0,89 g, 7,77 mmol). La mezcla se enfrió hasta 0 °C seguido de la adición de *N*,*N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 1,60 g, 7,77 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos a 0 °C y durante la noche a temperatura ambiente. El subproducto insoluble se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y se lavó con agua (2 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y se añadió ciclohexano (170 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano. El polvo blanco se

disolvió en tetrahidrofurano (100 ml). Se añadieron pinacol (0,19 g, 1,60 mmol) y sulfato de magnesio (10 g) a la solución y la mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de celite y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en diclorometano (10 ml) y se añadió ciclohexano a la solución (170 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con ciclohexano y se secó al vacío para dar el compuesto del título (4) como un polvo blanco. Rendimiento: 3,99 g (80 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,07 (t, J=5,7 Hz, 2 H); 7,96 (s, 2 H); 7,75 (s, 1 H); 7,65 (t, J=7,2 Hz, 2 H); 7,53 (d, J=7,7 Hz, 2 H); 7,41 (d, J=10,4 Hz, 2 H); 4,61-4,48 (m, 4 H); 2,89 (s, 4 H); 1,31 (s, 24 H). LC-MS: 774,6 (M+H)+, 692,4 (M+H-pinacol)+, 610,3 (M+H-2 x pinacol)+.

Ejemplo 22: (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroloan-2-il)-5-((3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoil)glicina



9

Se añadió 1,3-dibromo-5-(trifluorometil)benceno (1, 13,1 g, 43,1 mmol) a una mezcla de sulfato de cobre (II) pentahidratado (541 mg, 2,36 mmol) e hidróxido de potasio (9,24 g, 216 mmol) en una mezcla de dimetilsulfóxido/agua (10:1, 70 ml), el matraz de reacción se rellenó con nitrógeno y al final se añadió 1,2-etanoditiol (6,00 ml, 90,5 mmol) a través del tabique. La mezcla de reacción se calentó hasta 110 °C durante la noche. Después la mezcla se acidificó hasta pH=2 con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M y se extrajo con acetato de etilo. Después de secar con sulfato de sodio anhidro, el disolvente se evaporó de la filtración a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano) para dar 3-bromo-5-(trifluorometil)bencenotiol (2) como un aceite blanco.
Rendimiento: 5,76 g (52 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,61 (s, 1 H); 7,56 (s, 1 H); 7,46 (s, 1 H); 3,66 (s, 1 H).

Se disolvió 3-bromo-5-(trifluorometil)bencenotiol (2, 5,76 g, 22,4 mmol), 3-bromo-5-yodobenzoato de metilo (3, 5,09 g, 14,9 mmol), carbonato de potasio (2,95 g, 24,8 mmol) y yoduro de cobre (I) (410 mg, 2,49 mmol) en dimetoxietano seco (44 ml). El matraz de reacción se calentó hasta 80 °C durante 48 horas. Después de este tiempo, la mezcla se diluyó con acetato de etilo y se filtró a través de celite, después el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60,

0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo de 1:0 a 20:1) para dar 3-bromo-5-((3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)tio)benzoato de metilo (4) como un aceite amarillo. Rendimiento: 6,64 g (63 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,82 (m, 1 H); 7,68 (m, 3 H); 7,52 (m, 1 H); 2,54 (s, 3 H).

El 3-bromo-5-((3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)tio)benzoato de metilo (4, 6,64 g, 14,1 mmol) y Oxona (8,20 g, 35,3 mmol) se suspendieron en metanol (30 ml) y se añadió agua (10 ml). La reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después la mezcla se diluyó con acetato de etilo (50 ml), se lavó con agua (1 l) y después con salmuera (100 ml). La fase orgánica se evaporó a presión reducida, el residuo se sometió a cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo de 9:1 a 3:1) para dar 3-bromo-5-((3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoato de metilo (5) como un sólido blanco. Rendimiento: 5,46 g (77 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,53 (m, 1 H); 8,43 (m, 1 H); 8,27 (m, 2 H); 8,15 (m, 1 H); 8,00 (m, 1 H); 4,00 (s, 3 H).

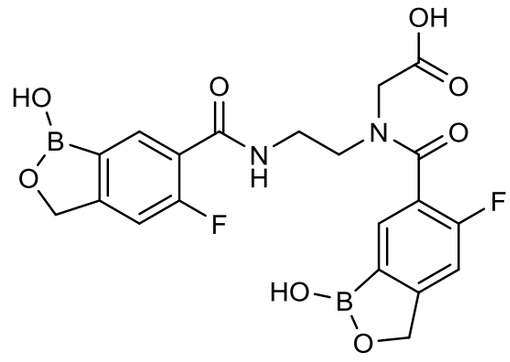
Se disolvieron 3-bromo-5-((3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoato de metilo (5, 5,46 g 10,9 mmol) e hidróxido de litio monohidratado (1,33 g, 31,7 mmol) en una mezcla de metanol/agua/tetrahidrofurano (4:2:5, 35 ml), la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la mezcla se acidificó hasta pH=2 con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M y se extrajo con acetato de etilo. Después de la evaporación de todos los componentes volátiles se obtuvo ácido 3-bromo-5-((3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoico (6) como un sólido blanco. Rendimiento: 5,10 g (96 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6 δH): 13,91 (bs, 1 H); 8,68 (s, 2 H); 8,50 (s, 1 H); 8,45 (s, 1 H); 8,41 (s, 1 H); 8,32 (s, 1 H).

El ácido 3-bromo-5-((3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoico (6, 5,10 g, 10,5 mmol) mezclado con hexafluorofosfato de 1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridina 3-óxido (V) (HATU, 4,40 g, 11,6 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida seca (130 ml) se agitó durante 30 minutos, después se añadió trietilamina (7,5 ml, 52,3 mmol) y se añadió clorhidrato de glicina *terc*-butil éster (3,51 g, 20,9 mmol) y se agitó durante la noche. Después de finalizar la reacción se añadió agua y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (150 ml), después de la evaporación de todos los componentes volátiles a presión reducida el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 3:1) para dar (3-bromo-5-((3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoil)glicinato de *terc*-butilo (7) como un sólido blanco.
Rendimiento: 6,30 g (99 %). LC-MS: 602,3 (M+H)+.

Un matraz de reacción de 100 ml se cargó con acetato de potasio (5,13 g, 26,1 mmol) y la sal se secó durante 1 hora a 110 °C al vacío. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el matraz de reacción se rellenó con nitrógeno y se cargó con (3-bromo-5-((3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoil)glicinato de *terc*-butilo (7, 6,30 g, 10,5 mmol), acetato de paladio (120 mg, 0,52 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2,4,6-triisopropilbifenilo (XPhos, 500 mg, 1,04 mmol) y bis(pinacolato)diboro (5,9 g, 23,03 mmol). Después el matraz de reacción se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este procedimiento se repitió dos veces), se añadió tetrahidrofurano anhidro (50 ml) con una jeringa, el matraz se selló con un tapón de plástico y se calentó a 60 C. La mezcla de reacción se agitó durante la noche y después se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (150 ml) y se filtró a través de un tapón corto de gel de sílice cubierto con celite y se lavó con diclorometano (3 x 50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroloan-2-il)-5-((3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoil)glicinato de *terc*-butilo (8) como una espuma cerosa negra. Rendimiento: 6,70 g (92 %). LC-MS: 640,5 (M+H-tBu)+, 558,4 (M-pinacol-tBu+H)+, 476,3 (M-2pinacol-tBu+H)+.

El (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroloan-2-il)-5-((3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoil)glicinato de *terc*-butilo (8, 6,70 g, 10,5 mmol) se mezcló con ácido trifluoroacético (25 ml) y se agitó 1 hora a temperatura ambiente, después de este tiempo todos los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. Después el residuo se disolvió en acetato de etilo (50 ml) y se filtró a través de un tapón corto de gel de sílice cubierto con celite. El filtrado se concentró a presión reducida, se obtuvo una espuma dura naranja, que se trituró. Se obtuvo (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaboroloan-2-il)-5-((3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoil)glicina (9) como un sólido naranja pálido. Rendimiento: 3,89 g (63 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,57 (m, 3 H); 8,47 (s, 1 H); 8,31 (s, 1 H); 9,26 (s, 1 H); 7,23 (t, 1 H); 4,35 (d, 2 H); 1,38 (s, 1 H). Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -62,65 (s). LC-MS: 640,5 (M+H)+, 558,4 (M-pinacol+H)+, 476,3 (M-2 x pinacol+H)+.

Ejemplo 23: *N*-(5-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(5-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina



6

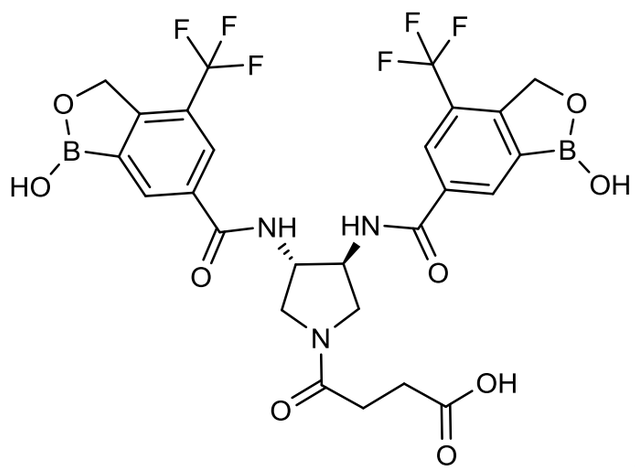
Se añadió ácido cloroacético (1, 13,0 g, 136 mmol) en pequeñas porciones a la etilendiamina (2, 90 ml) previamente enfriada (0 ^{0}C). Una vez completada la adición, se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente durante la noche (16 horas). La etilendiamina se evaporó al vacío y el residuo se trituró con dimetilsulfóxido (140 ml) con agitación durante la noche. El precipitado se recogió por filtración y se lavó con dimetilsulfóxido (2 x 60 ml), acetonitrilo (3 x 100 ml) y éter dietílico (3 x 100 ml) para dar la (2-aminoetil)glicina (3) como un sólido incoloro. Rendimiento: 13,2 g (83 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, D2O, δH): 3,27 (s, 2 H); 3,05-3,01 (m, 2 H); 2,92-2,88 (m, 2 H).

Una solución de 2,3,4,5,6-pentafluorofenol (9,39 g, 51,0 mmol), ácido 5-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (4, 10,0 g, 51,0 mmol) y *N*,*N*'-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 10,5 g, 51,0 mmol) en acetonitrilo (300 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró, se lavó con acetonitrilo y se evaporó. El producto crudo 5 se purificó por cristalización a partir de una mezcla de diclorometano/hexano (9:1, 500 ml) para dar el 5-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (5) como un sólido blanco. Rendimiento: 6,80 g (37 %). LC-MS: 363,2 (M+H)+.

Una solución de 5-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (5, 6,80 g, 18,8 mmol), (2-aminoetil)glicina (3, 1,10 g, 9,39 mmol) y trietilenamina (10,5 ml, 75,1 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (80 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó y se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (400 ml), las capas orgánicas se lavaron con salmuera (300 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto crudo 6 se purificó por cromatografía rápida (gel de sílice, 0,063-0,200 mm; eluyente: diclorometano/metanol/ácido fórmico de 100:2:0,5 a 100:10:0,5) y se liofilizó para proporcionar *N*-(5-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(5-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina (6) como un sólido blanco. Rendimiento: 2,16 g (49 %). RF (SiO2, diclorometano/metanol/ácido fórmico 100:2:0,5): 0,30.

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,86 (bs, 1 H); 9,45-9,17 (m, 2 H); 8,48-8,11 (m, 1 H); 8,11-7,88 (m, 1 H); 7,65 (d, J=7,0 Hz, 1 H); 7,43-7,15 (m, 2 H); 4,99 (d, J=8,6 Hz, 4 H); 4,36-3,90 (m, 2 H); 3,80-3,34 (m, 4 H). LC-MS: 475,4 (M+H)+.

Ejemplo 24: Ácido 4-((3S,4S)-3,4-bis(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)pirrolidin-1-il)-4-oxobutanoico



4

Ácido 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (1, 13,5 g, 54,9 mmol), *N*-hidroxisuccinimida (6,31 g, 54,9 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (10,5 g, 54,9 mmol) se agitaron en tetrahidrofurano (270 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) durante 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evaporó y se extrajo con acetato de etilo (3 x 300 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (200 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2) como un sólido blanco. Rendimiento: 18,8 g (100 %). LC-MS: 344,3 (M+H)+.

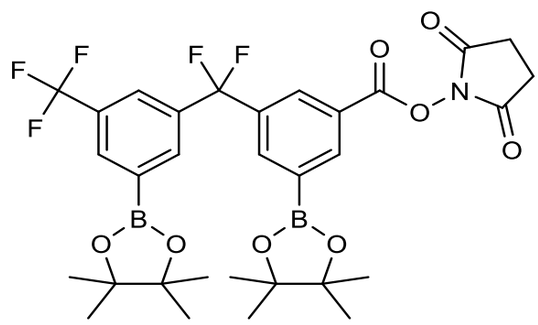
Una solución de diclorhidrato de ácido 4-((3S,4S)-3,4-diaminopirrolidin-1-il)-4-oxobutanoico (3, 2,74 mg, 10,0 mmol), 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2, 6,86 mg, 20,0 mmol)

y *N*,*N*-diisopropiletilamina (11,0 ml, 60,0 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (240 ml) y agua (60 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó, se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 0,063-0,200 mm; eluyente: diclorometano/metanol/ácido fórmico de 100:2:0,5 a 100:10:0,5) y se liofilizó para proporcionar el ácido 4-((3S,4S)-3,4-bis(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)pirrolidin-1-il)-4-oxobutanoico (4) como un sólido blanco.

Rendimiento: 2,56 g (39 %). RF (SiO2, diclorometano/metanol/ácido fórmico 100:10:0,5): 0,3.

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH) 11,73 (bs, 1 H); 9,62 (s, 2 H); 9,01 (dd, J=10,4 y 7,2 Hz, 2 H); 8,49 (s, 2 H); 8,24 (s, 2 H); 5,20 (s, 4 H); 4,94-4,51 (m, 2 H); 4,16-3,94 (m, 1 H); 3,95-3,80 (m, 1 H); 3,56-3,44 (m, 1 H); 3,41-3,34 (m, 1 H); 2,49-2,40 (m, 4 H). LC-MS: 658,7 (M+H)+.

Ejemplo 25: 3-(difluoro (3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)metil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



8

Se disolvió 3-bromo-5-yodobenzoato de metilo (1, 6,80 g, 20,0 mmol) en tetrahidrofurano seco (40 ml) y se enfrió a -30 C. Se añadió gota a gota una solución de complejo de cloruro de isopropilmagnesio-cloruro de litio 1,3 M en tetrahidrofurano (16,2 ml, 21,0 mmol) con agitación. Después de 30 minutos, se añadió 3-bromo-5-(trifluorometil)benzaldehído (2, 6,00 g, 24,0 mmol) con la ayuda de tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se inactivó después de una hora mediante la adición de una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (40 ml). La mezcla de reacción se absorbió en éter dietílico (150 ml), se lavó con agua (150 ml) y salmuera (100 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto crudo (3) se disolvió en diclorometano seco (80 ml) y se añadió clorocromato de piridinio (6,42 g, 30,0 mmol) con agitación. Después de agitar durante 17 horas, la mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de sílice (80 g) cubierto con celite y el lecho se lavó con diclorometano (3 x 120 ml). La solución amarillenta se concentró al vacío y el residuo se agitó en metanol (50 ml) durante 16 horas. El sólido precipitado se recogió por filtración y se secó al aire para dar 3-bromo-5-(3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil)benzoato de metilo (4) como un sólido incoloro. Rendimiento: 6,52 g (70 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,45 (t, J=1,4 Hz, 1 H); 8,29 (m, 1 H); 8,12 (t, J=1,6 Hz, 1 H); 8,08 (bs, 1 H); 8,04 (bs, 1 H); 7,95 (bs, 1 H); 3,97 (s, 3 H).

Se cargó 3-bromo-5-(3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil)benzoato de metilo (4, 6,50 g, 13,9 mmol y Deoxo-Fluor (13,0 ml) en un recipiente de reacción de 100 ml. El recipiente se selló con un burbujeador (rellenado con aceite de silicona), se purgó con nitrógeno y se calentó a 90 °C (baño de aceite) durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con diclorometano (100 ml). La solución resultante se añadió lentamente a una solución acuosa de carbonato de potasio 1 M (100 ml) y la mezcla

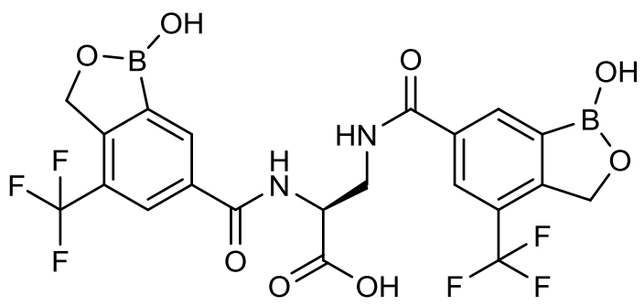
bifásica se agitó durante una hora para descomponer el exceso de reactivo fluorante. Las capas se separaron y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo de 30:1 a 15:1) para dar 3-bromo-5-((3bromo5(trifluorometil)fenil)difluorometil)benzoato de metilo (5) como un aceite amarillento. Rendimiento: 6902 mg (99 %). ^{1}Espectro de RMN H (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,30 (s, 1 H); 8,08 (s, 1 H); 7,88 (s, 1 H); 7,83 (s, 1 H); 7,81 (s, 1 H); 7,71 (s, 1 H); 3,96 (s, 3 H).

Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -62,87 (s, 3 H); -90,00 (s, 2 H).

Un recipiente de reacción de 500 ml se cargó con acetato de potasio (6,83 g, 69,7 mmol) y la sal se secó durante 1 hora a 110 °C al vacío. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el recipiente de reacción se rellenó con nitrógeno y se cargó con 3-bromo-5-((3bromo5(trifluorometil)fenil)difluorometil)benzoato (5, 6,90 g, 13,9 mmol), acetato de paladio (62,0 mg, 279 mol), 2-diciclohexilfosfino-2,4,6-triisopropilbifenilo (XPhos, 265 mg, 557 mol) y bis(pinacolato)diboro (838 mg, 30,7 mmol). Después el recipiente de reacción se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este procedimiento se repitió dos veces). Se añadió tetrahidrofurano anhidro (50 ml) con una jeringa, el recipiente se selló con un tapón de plástico y se sumergió en el baño de calentamiento precalentado a 60 C. Después de agitar a 400 rpm durante 16 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (200 ml) y se filtró a través de un tapón corto de sílice (90 g) cubierto con celite S con la ayuda de diclorometano (3 x 120 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(difluoro(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)metil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (6) como una espuma parduzca. Se suspendió en metanol (50 ml) y agua (15 ml) y se añadió hidróxido de litio monohidratado (2,94 g, 70,0 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se absorbió en agua (150 ml) y se lavó con diclorometano (2 x 30 ml) y éter dietílico (30 ml). La capa acuosa se acidificó con ácido clorhídrico acuoso concentrado hasta pH=2 y se extrajo con acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (50 ml) y se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar una espuma amarillenta. A la espuma se le añadió pinacol (472 mg, 4,00 mmol) y se agitó durante la noche en acetonitrilo (50 ml). El sólido precipitado se recogió por filtración, se lavó con acetonitrilo helado (2 x 20 ml) y se secó al aire para dar el ácido 3-(difluoro(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)metil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico del título (7) como un sólido incoloro. Rendimiento: 5,90 g (77 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,64 (s, 1 H); 8,28 (s, 1 H); 8,22 (s, 1 H); 8,15 (s, 2 H); 7,85 (s, 1 H); 1,38 (s, 12 H); 1,37 (s, 12 H). LC-MS: 569,7 (M+H)+.

Se suspendieron ácido 3-(difluoro(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)metil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico (7, 5,11 g, 9,00 mmol) y bis(succinimidil)carbonato (3,22 g, 12,6 mmol) en acetonitrilo anhidro (45 ml) bajo nitrógeno y piridina (1,00 ml, 12,6 mmol). La mezcla de reacción se calentó suavemente con una pistola térmica para efectuar la disolución. Después de agitar durante 16 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se absorbió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con una solución acuosa de hidrogenocarbonato de potasio 0,5 M (2 x 40 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un sólido blanquecino. Se añadió pinacol (354 mg, 3,00 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche en acetonitrilo (50 ml). El sólido precipitado se recogió por filtración, se lavó con acetonitrilo helado (2 x 20 ml) y se secó al aire para dar el 3-(difluoro(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)metil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo del título (8) como un sólido incoloro. Rendimiento: 5,36 g (90 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,67 (s, 1 H); 8,29 (s, 1 H); 8,26 (s, 1 H); 8,15 (s, 1 H); 8,10 (s, 1 H); 7,86 (s, 1 H); 2,92 (s, 4 H); 1,36 (s, 24 H). LC-MS: 646,8 (M-HF)+.

Ejemplo 26: Ácido (S)-2,3-bis(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanoico

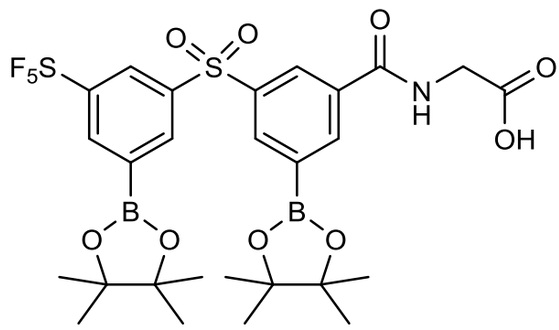


3

Una solución de 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (1, 14,4 g, 42,0 mmol), clorhidrato de ácido (S)-2,3-diaminopropanoico (2, 2,81 g, 20,0 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (21,4 ml, 120 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (400 ml) y agua (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 0,063-0,200 mm; eluyente: diclorometano/metanol/ácido fórmico de 100:2:0,5 a 100:10:0,5). Las fracciones con el producto deseado se evaporaron y se lavaron con una solución acuosa de bisulfato de potasio 1 M (400 ml). El precipitado se filtró, se disolvió en una mezcla de acetonitrilo y agua (2:1) y se liofilizó para proporcionar ácido (S)-2,3-bis(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanoico (3) como un sólido blanco. Rendimiento: 4,32 g (39 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,59 (bs, 1 H); 9,62 (d, J=6,1 Hz, 2 H); 9,09 (d,

J=7,9 Hz, 1 H); 8,98 (t, J=5,7 Hz, 1 H); 8,50 (d, J=14,5 Hz, 2 H); 8,24 (d, J=21,6 Hz, 2 H); 5,20 (d, J=5,7 Hz, 4 H); 4,87-4,58 (m, 1 H); 4,02-3,80 (m, 1 H); 3,79-3,54 (m, 1 H). LC-MS: 561,6 (M+H)+.

Ejemplo 27: (3-((3-(pentafluoro-6-sulfanil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)sulfonil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)glicina



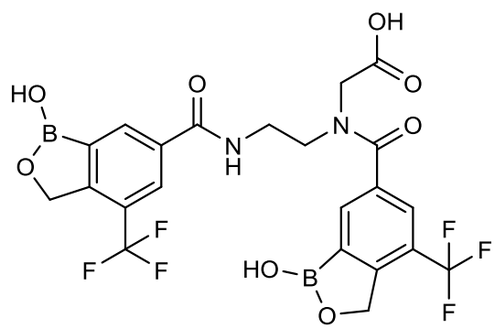
3

Una mezcla de (3-bromo-5-((3-bromo-5-(pentafluoro-6-sulfanil)fenil)sulfonil)benzoil)glicinato de *terc*-butilo (1, 8,00 g, 12,1 mmol), acetato de paladio (137 mg, 0,61 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2,4,6-triisopropilbifenilo (XPhos, 577 mg, 1,21 mol), bis(pinacolato)diboro (6,78 g, 26,7 mmol) y acetato de potasio (5,95 g, 60,7 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (450 ml) se calentó en atmósfera de argón a 60 °C durante 24 horas. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró a través de un tapón corto de celite. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: diclorometano/acetato de etilo de 10:0 a 6:4) para dar (3-((3-(pentafluoro-6-sulfanil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)sulfonil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)glicinato de *terc*-butilo (2) como una espuma blanquecina. Rendimiento: 6,70 g (72 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,53-8,49 (m, 2 H); 8,49-8,46 (m, 1 H); 8,43 (t, J=1,9 Hz, 1 H); 8,39-8,36 (m, 1 H); 8,32 (dd, J=2,1 y 0,6 Hz, 1 H); 6,76 (t, J=5,0 Hz, 1 H); 4,16 (d, J=5,0 Hz, 2 H); 1,51 (s, 9 H); 1,36 (s, 24 H). LC-MS: 754,9 (M+H)+.

Una solución de (3-((3-(pentafluoro-6-sulfanil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)sulfonil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)glicinato de *terc*-butilo (2, 6,68 g, 8,87 mmol) en diclorometano (100 ml) y ácido trifluoroacético (200 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Los disolventes se eliminaron a presión reducida. El residuo se evaporó diez veces a partir de diclorometano (250 ml) antes de secar al vacío. Se obtuvo (3-((3-(pentafluoro-6-sulfanil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)sulfonil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoil)glicina (3) como un sólido blanquecino. Rendimiento: 6,15 g (99 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,33 (t, J=5,8 Hz, 1 H); 8,65 (t, J=1,8 Hz, 1 H); 8,55 (t, J=1,9 Hz, 1 H); 8,47 (s, 1 H); 8,41-8,29 (m, 2 H); 8,25-8,16 (m, 1 H); 3,96 (d, J=5,9 Hz, 2 H); 1,41-1,24 (m, 24 H).LC-MS: 534,4 (M-2xpin+H)+.

Ejemplo 28: *N*-(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina



Se añadió 1-bromopirrolidino-2,5-diona (NBS, 34,0 g, 191 mmol) a una solución de ácido 3-trifluorometil-4-metilbenzoico (1, 39,0 g, 191 mmol) en ácido sulfúrico concentrado (400 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Después la mezcla de reacción se vertió en agua helada (2 l). El precipitado resultante se separó por filtración, se lavó con agua (500 ml) y se disolvió en acetato de etilo (400 ml); se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar ácido 3-bromo-4-metil-5-trifluorometilbenzoico (2) como un sólido blanco. Rendimiento: 53,4 g (98 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,71 (bs, 1 H); 8,35 (d, J=0,4 Hz, 1 H); 8,15 (d, J=0,9 Hz, 1 H); 2,56 (s, 3 H).

Se añadió ácido sulfúrico concentrado (24 ml) a una solución de ácido 3-bromo-4-metil-5-trifluorometilbenzoico (2, 35,0 g, 124 mmol) en metanol (500 ml) y la mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 4 horas y a temperatura ambiente durante 16 horas. Después la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida, se disolvió en éter dietílico (250 ml), se lavó con agua (2 x 100 ml) y la mezcla de solución saturada de carbonato de potasio (100 ml) y salmuera (100 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar 3-bromo-4-metil-5-trifluorometilbenzoato de metilo (3) como un sólido blanco. Rendimiento: 35,3 g (96 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 8,36 (d, J=1,1 Hz, 1 H); 8,13 (d, J=1,1 Hz, 1 H); 3,90 (s, 3 H); 2,55 (d, J=1,3 Hz, 3 H).

Una suspensión de 1-bromopirrolidino-2,5-diona (NBS, 31,7 g, 178 mmol) y 3-bromo-4-metil-5-trifluorometilbenzoato de metilo (3, 35,3 g, 119 mmol) en agua (300 ml) se agitó durante 6 horas bajo una bombilla de 100 W a 80 ^{o}C. La mezcla de reacción se extrajo con éter dietílico (2 x 200 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (150 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar 3-bromo-4-bromometil-5-trifluorometilbenzoato de metilo (4) como un sólido amarillo. Rendimiento: 44,0 g (98 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,47 (d, J=1,5 Hz, 1 H); 8,31 (d, J=1,3 Hz, 1 H); 4,75 (s, 2 H); 3,98 (s, 3 H).

Una solución de 3-bromo-4-bromometil-5-trifluorometilbenzoato (4, 44,0 g, 117 mmol) y acetato de potasio (22,9 g, 234 mmol) en acetonitrilo (0,5 l) se agitó a 75 ^{o}C durante la noche. La suspensión se filtró a través de papel de filtro y se evaporó. El producto crudo se disolvió en diclorometano y se filtró nuevamente. La evaporación proporcionó 3-bromo-4-(acetoximetil)-5-(trifluorometil)benzoato de metilo (5) como un sólido blanco. Rendimiento: 37,9 g (91 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,49 (d, J=1,3 Hz, 1 H); 8,34 (d, J=1,3 Hz, 1 H); 5,37 (s, 2 H); 3,99 (s, 3 H); 2,11 (s, 3 H).

Una solución de 3-bromo-4-(acetoximetil)-5-trifluorometilbenzoato de metilo (5, 37,9 g, 107 mmol), bis(pinacolato)diboro (29,8 g, 117 mmol), acetato de potasio (31,4 g, 294 mmol) y [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (1,57 g, 1,92 mmol) en tetrahidrofurano seco (500 ml) se agitó a 75 ^{o}C en atmósfera de argón durante 13 días. Después la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró y se evaporó. El producto crudo se filtró a través de una columna de gel de sílice (gel de sílice, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 8:1) para proporcionar 4-(acetoximetil)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)benzoato de metilo (6). Rendimiento: 31,1 g (72 %). RF (SiO2, ciclohexano/acetato de etilo 8:1): 0,40. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,65 (s, 1 H); 8,43 (s, 1 H); 5,48 (s, 2 H); 3,97 (s, 3 H); 2,05 (s, 3 H); 1,36 (s, 12 H).

Una solución de 4-(acetoximetil)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)benzoato de metilo (6, 31,0 g, 77,1 mmol) e hidróxido de sodio (15,4 g, 386 mmol) en agua (300 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Después se añadió una solución de ácido clorhídrico (35 ml) en agua (100 ml) para reducir el pH hasta 1. La mezcla de reacción se agitó durante la noche. El precipitado se filtró y se secó para proporcionar ácido 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (7) como un sólido blanco. Rendimiento: 16,6 g (86 %).

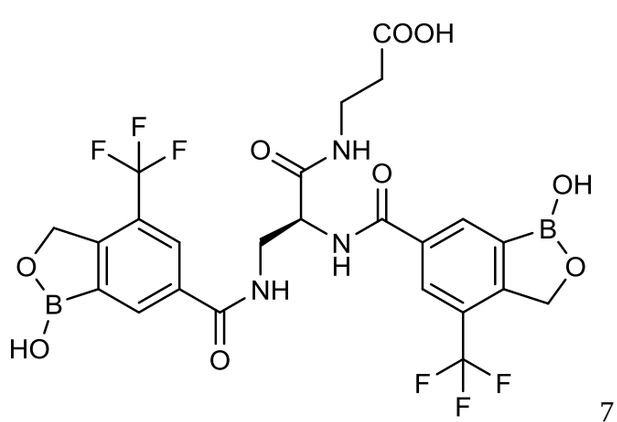
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,47 (bs, 1 H); 9,66 (s, 1 H); 8,62 (s, 1 H); 8,24 (s, 1 H); 5,22 (s, 2 H).

Una solución de pentafluorofenol (7,48 g, 40,7 mmol), ácido 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (7, 10,0 mg, 40,7 mmol) y *N*,*N*'-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 8,37 mg, 40,7 mmol) en acetonitrilo (0,5 l) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró, se evaporó, se disolvió en acetonitrilo, se volvió a filtrar y se evaporó para dar el 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (8) como un sólido blanco.

Rendimiento: 16,7 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,79 (s, 1 H); 8,86 (s, 1 H); 8,46 (s, 1 H); 5,30 (s, 2 H).

Una solución del 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (8, 16,7 g, 40,6 mmol), (2-aminoetil)glicina (9, 2,40 g, 20,3 mmol) y trietilamina (28,4 ml, 203 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (0,5 l) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Después la mezcla de reacción se evaporó y el producto crudo 10 se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: diclorometano/metanol/ácido fórmico de 100:2:0,5 a 100:10:0,5) para dar *N*-(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina (10) como un sólido blanco. Rendimiento: 7,77 g (67 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,89 (bs, 1 H); 9,68-9,48 (m, 2 H); 9,00-8,67 (m, 1 H); 8,56-7,36 (m, 4 H); 5,27-5,03 (m, 4 H); 4,30-3,95 (m, 2 H); 3,77-3,48 (m, 4 H). LC-MS: 575,5 (M+H)+.

Ejemplo 29: Ácido (2*S*)-3-(2,3-bis(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihydrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanamido)propanoico = *N*-[N^{α},N^{β}-bis-(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)-L-diaminopropionil]-β-alanina



7

Una solución de clorhidrato de ácido *L*-diaminopropanoico alias clorhidrato de ácido (2*S*)-2,3-diaminopropanoico (1, 15,0 g, 107 mmol), dicarbonato de di-*terc*-butilo (46,6 g, 214 mmol) y bicarbonato de potasio (32,0 g, 320 mmol) en una mezcla de acetonitrilo (400 ml) y agua (400 ml) se agitó durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se acidificó con una solución acuosa saturada de hidrogenosulfato de potasio hasta que se alcanzó el pH 1. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (3 x 200 ml) y se secó con sulfato de sodio anhidro. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar ácido (2*S*)-2,3-bis((*terc*-butoxicarbonil)amino)propanoico (2) como un sólido blanquecino. Rendimiento: 28,2 g (87 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 5,85 (bs, 1 H); 5,17 (bs, 1 H); 4,31 (bs, 1 H); 3,64-3,46 (m, 2 H); 1,46 (s, 18 H).

Una solución de ácido (2*S*)-2,3-bis((*terc*-butoxicarbonil)amino)propanoico (2, 27,9 g, 91,7 mmol), 3-aminopropanoato de *terc*-butilo (3, 16,7 g, 91,7 mmol), clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 21,1 g, 110 mmol), 1-hidroxi-7-

azabenzotriazol (HOAt, 15,0 g, 110 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (64,0 ml, 367 mmol) en diclorometano (300 ml) se agitó durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida; el residuo se disolvió en acetato de etilo (600 ml), se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (4 x 300 ml) y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (4 x 300 ml) y se secó con sulfato de sodio anhidro. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar (*S*)-3-(2,3-bis((*terc*-butoxicarbonil)amino)propanamido)propanoato de *terc*-butilo (4) como un sólido blanquecino. Rendimiento: 36,1 g (91 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,01 (bs, 1 H); 5,75 (bs, 1 H); 5,14 (bs, 1 H); 4,15 (bs, 1 H); 3,57-3,39 (m, 4 H); 2,43 (t, J=6,0 Hz, 2 H); 1,45 (s, 27 H).

A una solución de (*S*)-3-(2,3-bis((*terc*-butoxicarbonil)amino)propanamido)propanoato de *terc*-butilo (4, 36,1 g, 83,7 mmol) en diclorometano (50 ml) se añadió una solución acuosa de ácido trifluoroacético al 95 % (300 ml) y la solución se agitó durante 3 horas. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se evaporó junto con acetonitrilo (3 x 300 ml) y se trató con una solución de cloruro de hidrógeno 1 M en éter dietílico seco (300 ml). El precipitado se separó por filtración y se trituró con acetonitrilo (2 x 600 ml) para dar diclorhidrato de ácido (2*S*)-3-(2,3-diaminopropanamido)propanoico (5) como un polvo blanco.

Rendimiento: 22,2 g (100 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, D2O, δH): 4,35 (t, J=5,8 Hz, 1 H); 3,63-3,46 (m, 4 H); 2,67 (t, J=6,6 Hz, 2 H).

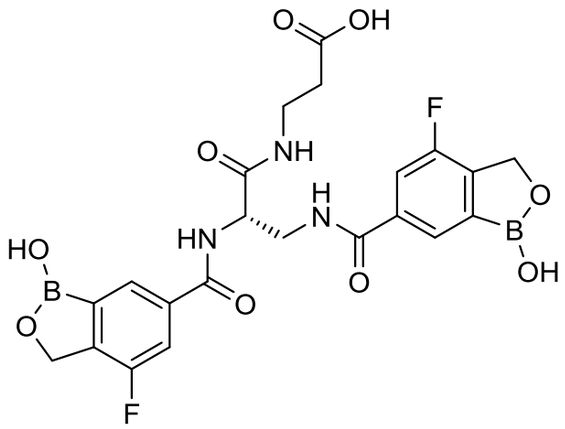
Una solución de pentafluorofenol (35,1 g, 191 mmol), ácido 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (1, 40,8 g, 166 mmol, la preparación es como se describió en el Ejemplo 28) y *N*,*N*'-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 39,3 g, 191 mmol) en acetonitrilo (1 l) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se filtró, se evaporó, se disolvió en acetonitrilo, se volvió a filtrar y se evaporó. El producto crudo se precipitó en diclorometano (1 l) y se filtró para dar el 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (6) como un sólido blanco. Rendimiento: 52,8 g (77 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,79 (s, 1 H); 8,86 (s, 1 H); 8,46 (s, 1 H); 5,30 (s, 2 H).

A una solución de diclorhidrato de ácido (2*S*)-3-(2,3-diaminopropanamido)propanoico (5, 6,41 g, 24,3 mmol) y trietilamina (33,8 mmol, 243 mmol) en agua (50 ml) se añadió una solución de 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (6, 20,0 g, 48,6 mmol) en 1,4-dioxano (100 ml) y la solución se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se distribuyó entre el acetato de etilo (300 ml) y una solución acuosa de hidrogenosulfato de potasio 1 M (1500 ml). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa de hidrogenosulfato de potasio 1 M (1 x 300 ml) y el

disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se trituró con éter dietílico (2 x 150 ml) y se filtró. El sólido se disolvió en acetonitrilo acuoso al 70 % (600 ml) y se liofilizó para dar ácido 3-(2(*S*),3-bis(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanamido)propanoico (7) como un polvo blanco. Rendimiento: 12,1 g (80 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d4, δH): 8,51 (s, 1 H); 8,47 (s, 1 H); 8,29 (s, 1 H); 8,27 (s, 1 H); 5,28 (s, 4 H); 5,15 (t, J=6,1 Hz, 1 H); 4,15-3,99 (m, 2 H); 3,61 (t, J=6,4 Hz, 2 H); 2,67 (t, J=6,3 Hz, 2 H). LC-MS: 632,0 (M+H)+.

Ejemplo 30: Ácido (S)-3-(2,3-bis(4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanamido)propanoico



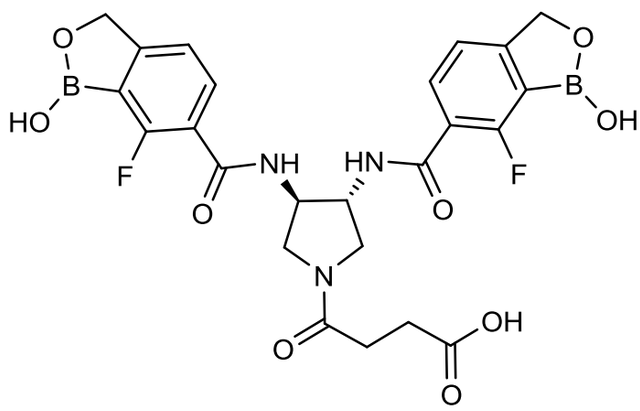
4

Se agitaron ácido 4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (1, 8,56 g, 43,7 mmol), *N*-hidroxisuccinimida (5,03 g, 43,7 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (8,38 g, 43,7 mmol) en tetrahidrofurano (250 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (20 ml) durante 3,5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evaporó y se extrajo con acetato de etilo (3 x 150 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (150 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar 4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2) como un sólido blanco. Rendimiento: 10,2 g (79 %). LC-MS: 294,3 (M+H)+.

La resina de cloruro de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,5 mmol/g (3, 10,5 g, 15,7 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (80 ml) durante 30 minutos. Una solución de ácido 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-Ala-OH, 3,26 g, 10,5 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (6,93 ml, 39,8 mmol) en diclorometano seco (50 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (3,65 ml, 20,9 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (4:1, 2 x 5 min, 2 x 80 ml). Después la resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 80 ml), diclorometano (2 x 80 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 80 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 20 min, 2 x 80 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-

dimetilformamida (3 x 80 ml), 2-propanol (2 x 80 ml) y diclorometano (3 x 80 ml). Una solución de ácido (S)-2,3-bis((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-Dap(Fmoc)-OH, 8,61 g, 15,7 mmol), tetrafluoroborato de 5-cloro-1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol 3-óxido (TCTU, 5,58 g, 15,7 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (4,92 ml, 28,2 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (80 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 2 horas. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 80 ml), diclorometano (2 x 80 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 80 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 30 min, 2 x 80 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 80 ml), 2-propanol (2 x 80 ml) y diclorometano (3 x 80 ml). Una solución de 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2, 9,14 g, 31,4 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (9,84 ml, 56,5 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (80 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó un día. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (4 x 80 ml) y diclorometano (10 x 80 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con 2,2,2-trifluoroetanol (80 ml) durante 16 horas. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (4 x 80 ml). Los disolventes se evaporaron y el producto crudo (4) se lavó con acetato de etilo (300 ml), se filtró y se secó al vacío. El producto puro (4) se obtuvo como un sólido blanquecino. Rendimiento: 4,10 g (74 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,57 (bs, 2 H); 8,78-8,49 (m, 2 H); 8,19-7,93 (m, 3 H); 7,71 (dd, J=30,8 y 10,8 Hz, 2 H); 5,12 (d, J=7,7 Hz, 4 H); 4,74-4,55 (m, 1 H); 3,72-3,61 (m, 2 H); 3,29-3,15 (m, 2 H); 2,36 (t, J=6,9 Hz, 2 H). LC-MS: 532,6 (M+H)+.

Ejemplo 31: Ácido 4-((*3R*,*4R*)-3,4-bis(7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)prrolidin-1-il)-4-oxobutanoico



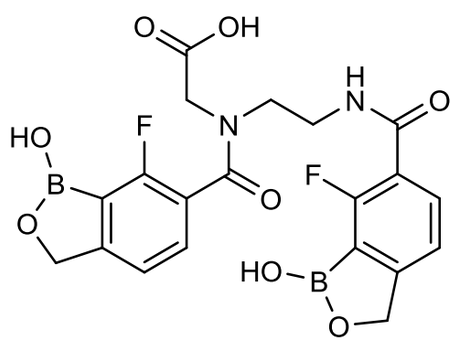
3

Una solución de diclorhidrato de ácido 4-((*3R*,*4R*)-3,4-diaminopirrolidin-1-il)-4-oxobutanoico (2, 2,46 g, 12,2 mmol), 7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (1, 8,86 g, 24,5 mmol) y trietilamina (17,0 ml, 122 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (300 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó y se precipitó a partir de acetato de etilo para dar 6,40 g de compuesto crudo 3 (6,4 g), que se purificó por HPLC (YMC, C18, 5 m, 250 x 50

mm, acetonitrilo/agua, 2:98 durante 30 min, de 2:98 a 30:0 durante 180 min) y se liofilizó para dar el compuesto del título ácido 4-((*3R,4R*)-3,4-bis(7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)pirrolidin-1-il)-4-oxobutanoico (3) como un sólido blanco. Rendimiento: 1,23 g (18 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH) 9,35 (bs, 2 H); 8,68 (t, J=8,4 Hz, 2 H); 7,81-7,62 (m, 2 H); 7,30 (d, J=7,3 Hz, 2 H); 5,02 (s, 4 H); 4,66-4,45 (m, 2 H); 3,94 (dd, J=10,6 y 6,7 Hz, 1 H); 3,77 (dd, J=12,0 y 6,7 Hz, 1 H); 3,54-3,41 (m, 1 H); 3,27-3,18 (m, 1 H); 2,47-2,34 (m, 4 H). LC-MS: 558,6 (M+H)+.

Ejemplo 32: *N*-(7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina



12

El n-butil litio (2,38 M en hexanos, 107 ml, 255 mmol) se canuló a una solución purgada con nitrógeno agitada de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (43,5 ml, 257 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (150 ml) a una velocidad tal que la temperatura interna se mantenía por debajo de -60 °C (aproximadamente 20 minutos). La mezcla se agitó durante 60 minutos (la temperatura interna aumentó a -40 C). La mezcla se volvió a enfriar a -78 °C y una solución de 2-fluoro-4-metilbenzonitrilo (1, 30,0 g, 222 mmol) en tetrahidrofurano seco (200 ml) se añadió gota a gota mediante una bomba peristáltica a la mezcla vigorosamente agitada a una velocidad tal que la temperatura interna se mantenía por debajo de -70 °C (aproximadamente 40 minutos). La mezcla se calentó hasta -50 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 45 minutos. La mezcla se volvió a enfriar a -78 °C y una solución de yodo (62,0 g, 244 mmol) en tetrahidrofurano seco (150 ml) se añadió gota a gota (mediante el uso de una bomba peristáltica) a la mezcla de reacción mientras la temperatura interna se mantenía por debajo de -70 C. El yodo residual se lavó con tetrahidrofurano seco (50 ml) y la mezcla se agitó a -70 °C durante 1 hora. La mezcla agitada se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante la noche y después se inactivó vertiéndola en una solución agitada de tiosulfato de sodio (20 g) en agua (750 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora y después se extrajo con acetato de etilo (3 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 10:1) y después se

recristalizó a partir de metanol para proporcionar 2-fluoro-3-yodo-4-metilbenzonitrilo (2) como un sólido cristalino incoloro.

Rendimiento: 29,6 g (51 %). RF (SiO2, ciclohexano/acetato de etilo 10:1): 0,35. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,48 (dd, J=7,9 y 6,5 Hz, 1 H); 7,17-7,12 (m, 1 H), 2,56 (s, 3 H).

Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -82,34 (s).

Una suspensión de 2-fluoro-3-yodo-4-metilbenzonitrilo (2, 52,7 g, 202 mmol) en ácido sulfúrico al 75 % (65 ml) se agitó a 150 °C durante 3 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se vertió en una mezcla de hielo/agua (500 g). El sólido beige precipitado se separó por filtración, se lavó con abundante cantidad de agua y se secó para producir ácido 2-fluoro-3-yodo-4-metilbenzoico (3) como un sólido beige. Rendimiento: 51,2 g (91 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,30 (s, 1 H); 7,75 (t, J=7,8 Hz, 1 H); 7,27 (d, J=8,0 Hz, 1 H); 2,47 (s, 3 H).

Se añadió cloruro de acetilo (23,0 ml, 321 mmol) gota a gota a una suspensión agitada de ácido 2-fluoro-3-yodo-4-metilbenzoico (3, 90,0 g, 321 mmol) en metanol seco (350 ml) a 0 C. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida y el residuo se absorbió en acetato de etilo (1300 ml). Después de lavar con una solución acuosa saturada de bicarbonato de potasio (2 x 1000 ml) y salmuera (1000 ml), la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 30:1-15:1) para dar 2-fluoro-3-yodo-4-metilbenzoato de metilo (4) como un sólido incoloro.

Rendimiento: 67,6 g (72 %). RF (SiO2, ciclohexano/acetato de etilo 15:1): 0,40. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,80 (t, J=7,7 Hz, 1 H); 7,10 (d, J=8,0 Hz, 1 H); 3,93 (s, 3 H); 2,52 (s, 3 H).

Una solución de 2-fluoro-3-yodo-4-metilbenzoato (4, 35,0 g, 119 mmol), bis(pinacolato)diboro (5, 33,3 g, 131 mmol), acetato de potasio anhidro (35,0 g, 357 mmol) y complejo [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) con diclorometano (1,94 g, 2,38 mmol) en dimetilsulfóxido anhidro (500 ml) se agitó a 110 °C en atmósfera de argón durante el fin de semana. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, el disolvente se evaporó al vacío y el producto crudo 6 se extrajo con acetato de etilo (4 x 500 ml) y agua (1,0 l). Las capas orgánicas se combinaron, se filtraron a través de una almohadilla de celite, se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía rápida (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 9:1) para proporcionar 2-fluoro-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (6) como un sólido

incoloro. Rendimiento: 29,4 g (84 %). RF (SiO2, ciclohexano/acetato de etilo 9:1): 0,30. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,84 (t, J=8,0 Hz, 1 H); 7,00 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 3,90 (s, 3 H); 2,47 (s, 3 H); 1,39 (s, 12 H).

Una solución de 2-fluoro-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (6, 27,5 g, 93,5 mmol), 1-bromopirrolidino-2,5-diona (NBS, 18,3 g, 103 mmol) y 2,2-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN, 0,77 g, 4,68 mmol) en benzotrifluoruro (300 ml) se agitó a 85 °C durante 16 horas. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se extrajo con éter dietílico (2 x 150 ml). La capa orgánica se lavó con agua (100 ml) y salmuera (100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar 4-(bromometil)-2-fluoro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (7) como un sólido amarillo. Rendimiento: 33,5 g (96 %).
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,93 (t, J=7,8 Hz, 1 H); 7,21 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 4,71 (s, 2 H); 3,91 (s, 3 H); 1,42 (s, 12 H).

Una solución de 4-(bromometil)-2-fluoro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (7, 33,5 g, 89,8 mmol) y acetato de potasio (17,6 g, 180 mmol) en acetonitrilo (1 l) se agitó a 75 °C durante la noche. La suspensión se filtró a través de lana de algodón y se evaporó. El producto crudo se disolvió en diclorometano y se filtró nuevamente. El disolvente se evaporó para dar 4-(acetoximetil)-2-fluoro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (8) como un sólido beige. Rendimiento: 30,0 g (95 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 7,96 (t, J=7,8 Hz, 1 H); 7,24 (d, J=7,9 Hz, 1 H); 5,25 (s, 2 H); 3,92 (s, 3 H); 2,11 (s, 3 H); 1,39 (s, 12 H).

Una solución de 4-(acetoximetil)-2-fluoro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (8, 30,0 g, 85,2 mmol) e hidróxido de sodio (17,0 g, 426 mmol) en agua (250 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Posteriormente, se añadió una solución acuosa de ácido clorhídrico (35 % p/p, 45 ml) en agua (50 ml) para reducir el pH hasta 1. La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas. El precipitado resultante se filtró y se liofilizó para proporcionar ácido 7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (9) como un sólido blanquecino. Rendimiento: 9,76 g (58 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,17 (bs, 1 H); 9,38 (bs, 1 H); 8,29 (d, J=7,7 Hz, 1 H); 7,36 (d, J=11,2 Hz, 1 H); 5,02 (s, 2 H). LC-MS: 197,3 (M+H)+.

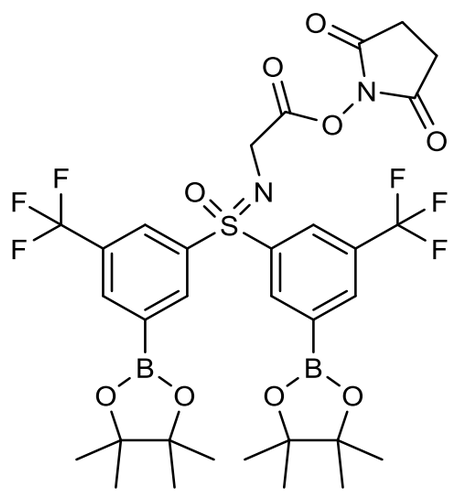
Una solución de 2,3,4,5,6-pentafluorofenol (9,61 g, 52,2 mmol), ácido 7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (9, 10,2 g, 52,2 mmol) y *N*,*N*'-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 10,8 g, 52,2 mmol) en acetonitrilo (300 ml) y diclorometano (200 ml) se agitó a temperatura ambiente durante el fin de semana. La

mezcla de reacción se filtró y se evaporó al vacío. El residuo se disolvió en acetonitrilo, se filtró y se evaporó nuevamente al vacío para dar 7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (10) como un sólido beige. Rendimiento: 18,8 g (100 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,55 (bs, 1 H); 8,32-8,20 (m, 1 H); 7,51 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 5,13 (s, 2 H).

Una solución de 7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (10, 9,46 g, 26,1 mmol), (2-aminoetil)glicina (11, 1,54 g, 13,1 mmol) y trietilamina (14,5 ml, 105 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (200 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche (16 horas). La mezcla de reacción se evaporó y se intentó disolver en diclorometano para hacer la TLC. Se descubrió que el producto crudo es insoluble en diclorometano, acetato de etilo y acetonitrilo. Por lo tanto, se precipitó a partir de acetato de etilo (0,5 l) y el sólido se recogió por centrifugación. El primer precipitado (A) se lavó con una solución de clorhidrato 0,5 M (2 x 50 ml) para dar el segundo precipitado (B) que se separó por filtración y se guardó. El filtrado se liofilizó para dar el producto 12 contaminado con sales. Las sales se eliminaron por disolución en tetrahidrofurano y filtración. La solución restante se evaporó al vacío para dar la primera cosecha del producto 12. El precipitado (B) se disolvió en acetonitrilo y agua (3:1), se filtró y la solución restante se liofilizó. El sólido resultante se disolvió en tetrahidrofurano, las sales precipitadas se separaron por filtración y el filtrado se evaporó al vacío para dar la segunda parte de *N*-(7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(7-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina (12) como un sólido beige. Rendimiento: 2,09 g (34 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,41-9,33 (m, 2 H); 8,42-8,18 (m, 1 H); 7,81-7,64 (m, 1 H); 7,43-7,11 (m, 3 H); 5,07-4,97 (m, 4 H); 4,22 (s, 1 H); 3,98 (s, 1 H); 3,68 (t, J=6,5 Hz, 1 H); 3,60-3,40 (m, 3 H). LC-MS: 475,5 (M+H)+.

<u>Ejemplo 33: 2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)-λ^{6}-sulfaniliden)amino)acetato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo</u>



4

Se disolvieron 2-((oxobis(3-(trifluorometil)fenil)-λ^6-sulfaniliden)amino)acetato de *terc*-butilo (1, 2,05 g, 4,38 mmol), bis(pinacolato)diboro (2,78 g, 11,0 mmol), dímero de (1,5-ciclooctadieno)(metoxi)iridio (I) (87,0 mg, 0,13 mmol) y 4,4-di-*terc*-butil-2,2-dipiridilo (dtbpy, 82,0 mg, 0,31 mmol) en tetrahidrofurano desgasificado (12 ml) bajo argón. La mezcla resultante se calentó hasta 60 °C y se calentó a esta temperatura durante la noche. La mezcla se evaporó hasta la sequedad; y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: diclorometano/acetato de etilo de 10:0 a 4:1) para dar 2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)-λ^6-sulfaniliden)amino)acetato de *terc*-butilo (2) como una espuma blanquecina.

Rendimiento: 2,92 g (93 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,59 (s, 2 H); 8,42 (s, 2 H); 8,21 (s, 2 H); 3,76 (s, 2 H); 1,51 (s, 9 H); 1,36 (s, 12 H); 1,35 (s, 12 H).

Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -62,55 (s). LC-MS: 556,6 (M-2 x pinacol+H)+, 638,8 (M-pinacol+H)+, 721,0 (M+H)+.

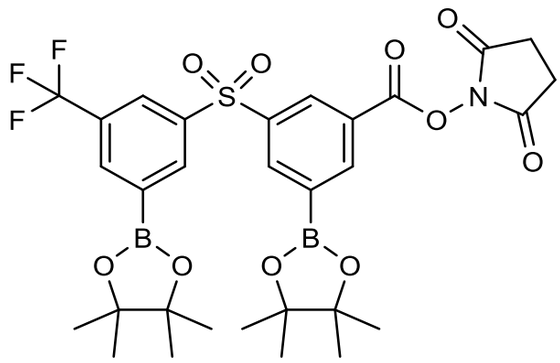
Se añadió ácido trifluoroacético (24 ml) a una solución de 2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)-λ^6-sulfaniliden)amino)acetato de *terc*-butilo (2, 2,91 g, 4,05 mmol) en diclorometano (8 ml) y la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla se evaporó hasta la sequedad al vacío y el residuo se evaporó a partir de tolueno (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml). El residuo se distribuyó entre diclorometano (200 ml) y una solución acuosa de hidróxido de sodio 0,5 M (250 ml). La fase acuosa separada se lavó con diclorometano (2 x 100 ml), se acidificó con ácido clorhídrico 1 M (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 250 ml). Los extractos de acetato de etilo combinados se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron al vacío para dar ácido 2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)-λ^6-sulfaniliden)amino)acético (3) como una espuma blanquecina. Rendimiento: 2,30 g (86 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,55 (s, 2 H); 8,33 (s, 2 H); 8,29 (s, 2 H); 3,85 (s, 2 H); 1,39 (s, 24 H). Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz,

$CDCl_3$, δF): -62,69 (s). LC-MS: 500,5 (M-2 x pinacol+H)+, 582,6 (M-pinacol+H)+, 664,8 (M+H)+.

Se añadió acetonitrilo seco (16,2 ml) al ácido 2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)- λ^6-sulfaniliden)amino)acético (3, 2,15 g, 3,24 mmol) y carbonato de *N*,*N*-disuccinimidilo (DSC, 1,25 g, 4,86 mmol) bajo argón. Se añadió piridina (392 ml, 4,86 mmol) y la mezcla se sonicó para formar una suspensión fina. La suspensión resultante se agitó durante 4 horas para dar una solución transparente. Se añadió una cantidad adicional de carbonato de *N*,*N*-disuccinimidilo (DSC, 415 mg, 1,62 mmol) y piridina (131 ml, 1,62 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El análisis de LC/MS mostró una conversión completa a éster activado. La mezcla se evaporó hasta la sequedad y el residuo se distribuyó entre acetato de etilo (200 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,1 M (100 ml). Las fases se separaron, la orgánica se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,1 M (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó hasta la sequedad. El residuo se disolvió en diclorometano (40 ml), seguido de la adición de pinacol (383 mg, 3,24 mmol). La solución se evaporó y el residuo se evaporó a partir de diclorometano (3 x 40 ml). La espuma resultante se lavó con ciclohexano (2 x 50 ml), se redisolvió en diclorometano (40 ml), se evaporó y se secó al vacío para dar el compuesto del título (4) como una espuma blanquecina.

Rendimiento: 1,82 g (74 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,57 (s, 2 H); 8,37 (s, 2 H); 8,24 (s, 2 H); 4,20 (s, 2 H); 2,83 (s, 4 H); 1,36 (s, 24 H). Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -62,66 (s). LC-MS: 761,9 (M+H)+.

Ejemplo 34: 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-((3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



Se suspendieron 3-yodobenzoato de metilo (2, 10,5 g, 40,0 mmol), carbonato de potasio anhidro (11,0 g, 80,0 mmol), yoduro de cobre (1,52 g, 8,00 mmol) y 3-trifluorometilbencenotiol (1, 8,22 ml, 60,0 mmol) en 1,2-dimetoxietano seco (100 ml) y la suspensión resultante se agitó durante 48 horas a 80 °C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con ciclohexano (300 ml), se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice (125 g) cubierta con celite (lavada con acetato de

etilo/ciclohexano 1:10, 3 x 200 ml) y se evaporó al vacío. El residuo se disolvió en ácido acético (120 ml) y se añadió en porciones una solución acuosa al 30 % de peróxido de hidrógeno (16,0 ml, 156 mmol) (desprendimiento de calor). Después de agitar durante 16 horas a 80 °C (baño de aceite), la mezcla de reacción se evaporó al vacío, se absorbió en acetato de etilo (400 ml) y se lavó con agua (400 ml) y salmuera (400 ml). El secado de la capa orgánica con sulfato de sodio anhidro, la filtración y la evaporación al vacío dieron el éster metílico 4 como un aceite amarillo, que se sometió a cromatografía en columna rápida (gel de sílice 300, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 4:1) para dar 3-((3-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoato de metilo (4) como un aceite incoloro. Rendimiento: 5,40 g (39 %). LC-MS: 346,0 (M+H)+.

Se disolvieron 3-((3-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoato de metilo (4, 5,40 g, 15,7 mmol), bis(pinacolato)diboro (9,97 g, 39,0 mmol), dímero de (1,5-ciclooctadieno)(metoxi)iridio (I) (310 mg, 0,47 mmol) y 4,4-di-*terc*-butil-2,2-dipiridilo (dtbpy, 295 mg, 1,10 mmol) en tetrahidrofurano seco desgasificado (30 ml) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 50 °C (baño de aceite) durante 16 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadió lentamente agua helada (30 ml) para descomponer el pinacolborano generado (desprendimiento de gas hidrógeno). Después de 30 minutos, se añadió hidróxido de litio monohidratado (6,59 g, 157 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante tres horas a temperatura ambiente antes de absorberla en agua (300 ml) y se extrajo con diclorometano (3 x 60 ml). Los extractos de diclorometano se desecharon y la capa acuosa se acidificó hasta pH 2 con ácido clorhídrico concentrado. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (50 ml) y se desechó. La capa orgánica se lavó con salmuera (3 x 50 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La espuma amarillenta resultante se trató con pinacol (118 mg, 1,00 mmol) y se disolvió en acetonitrilo caliente (20 ml). La solución se dejó cristalizar durante la noche en el congelador. El producto precipitado se recogió por filtración, se lavó con acetonitrilo frío y se secó al aire para dar ácido 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-((3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoico (5) como un sólido incoloro. Rendimiento: 5,90 g (65 %). LC-MS: 582,6 (M+H)+.

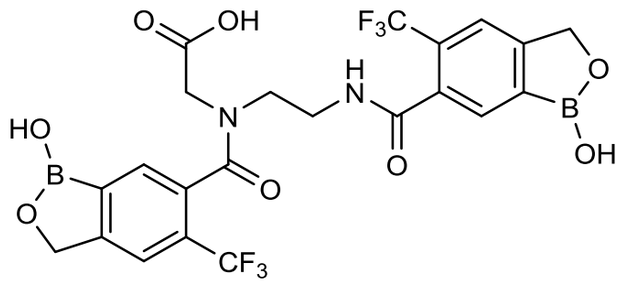
El ácido 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-((3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoico (5, 5,90 g, 10,1 mmol) y bis(succinimidil)carbonato (3,63 g, 14,2 mmol) se suspendieron en acetonitrilo anhidro (45 ml) bajo nitrógeno y piridina (1,14 ml, 14,2 mmol). La mezcla de reacción se calentó para efectuar la disolución. Después de agitar durante 16 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se absorbió en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con salmuera (3 x 200 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un sólido blanquecino. Se añadió pinacol (473 mg, 4,00 mmol) y la mezcla se agitó durante 1 hora en acetonitrilo (30 ml). El acetonitrilo se

evaporó al vacío. La espuma blanca resultante se disolvió en hexano (30 ml) y la solución se dejó cristalizar durante la noche a temperatura ambiente para dar 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-((3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)sulfonil)benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (6) como un sólido blanco. Rendimiento: 6,50 g (94 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,76-8,72 (m, 2 H); 8,67 (s, 1 H); 8,55 (s, 1 H); 8,32 (s, 1 H); 8,27 (s, 1 H); 2,92 (s, 4 H); 1,37 (s, 12 H) que se solapa con 1,37 (s, 12 H).

Espectro de ^{19}F RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δF): 62,64 (s, 3 H). LC-MS: 680,6 (M-H)+.

Ejemplo 35: *N*-(1-hidroxi-5-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(1-hidroxi-5-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina



Se disolvió ácido 4-metil-2-(trifluorometil)benzoico (1, 25,0 g, 123 mmol) en ácido sulfúrico (183 ml) seguido de la adición de *N*-yodosuccinimida (33,1 g, 147 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente, después se vertió en hielo. Cuando el hielo se derritió por completo, la mezcla se extrajo con acetato de etilo (500 ml). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa de tiosulfato de sodio al 5 % (2 x 250 ml) y agua (1 x 250 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó hasta la sequedad para proporcionar ácido 5-yodo-4-metil-2-(trifluorometil)benzoico (2) como un polvo beige. Rendimiento: 37,7 g (93 %).

Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,68 (bs, 1 H); 8,22 (s, 1 H); 7,76 (s, 1 H); 2,47 (s, 3 H).

Una mezcla de ácido 5-yodo-4-metil-2-(trifluorometil)benzoico (2, 22,2 g, 67,2 mmol), ortoformiato de trimetilo (14,7 ml, 134 mmol) y ácido metanosulfónico (2,8 ml) en metanol (135 ml) se sometió a reflujo a 80 °C en atmósfera de nitrógeno durante la noche. El disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en una solución acuosa al 5 % de carbonato de sodio (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 250 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1 x 300 ml) y salmuera (1 x 200 ml), se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040–0,063 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 9:1) para dar 5-yodo-4-metil-2-(trifluorometil)benzoato de

metilo (3) como cristales blancos. Rendimiento: 35,9 g (91 %). RF (ciclohexano/acetato de etilo 9:1): 0,50. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,26 (s, 1 H); 7,57 (s, 1 H); 3,93 (s, 3 H); 2,53 (s, 3 H).

Una mezcla de 5-yodo-4-metil-2-(trifluorometil)benzoato de metilo (3, 35,9 g, 104 mmol), *N*-bromosuccinimida (20,4 g, 114 mmol) y 2,2-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN, 5,12 g, 31,2 mmol) en benzotrifluoruro (95 ml) se agitó a 85 C durante la noche. No se logró la conversión completa, pero la reacción se desarrolló. Se añadió diclorometano (150 ml) y la mezcla se lavó con agua (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en acetonitrilo (440 ml) y se añadió acetato de potasio (10,2 g, 104 mmol). La mezcla se agitó a 75 C durante la noche. El material insoluble se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: ciclohexano/diclorometano de 4:1 a 1:1,5) para dar 4-(acetoximetil)-5-yodo-2-(trifluorometil)benzoato de metilo (4) como un polvo blanco. Rendimiento: 17,5 g (42 %). RF (ciclohexano/acetato de etilo 9:1): 0,35. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,28 (s, 1 H); 7,70 (s, 1 H); 5,16 (s, 2 H); 3,95 (s, 3 H); 2,20 (s, 3 H). Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -59,96 (s).

Una mezcla de 4-(acetoximetil)-5-yodo-2-(trifluorometil)benzoato de metilo (4, 17,5 g, 43,5 mmol), bis(pinacolato)diboro (14,3 g, 56,5 mmol) y acetato de potasio seco (21,3 g, 217 mmol) en *N*,*N*-dimetilsulfóxido seco (110 ml) se desgasificó; después se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (1,59 g, 2,17 mmol). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno a 95 ^{o}C durante la noche. Después de enfriar se añadió éter dietílico (500 ml) y el precipitado se separó por filtración a través de una almohadilla de celite. El filtrado se lavó con una solución acuosa de cloruro de sodio al 5 % (3 x 500 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar 4-(acetoximetil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-(trifluorometil)benzoato de metilo (5) como un aceite negro. Este aceite se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Rendimiento: 22,5 g. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,22 (s, 1 H); 7,74 (s, 1 H); 5,44 (s, 2 H); 3,94 (s, 3 H); 2,14 (s, 3 H); 1,36 (s, 12 H). Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -60,07 (s).

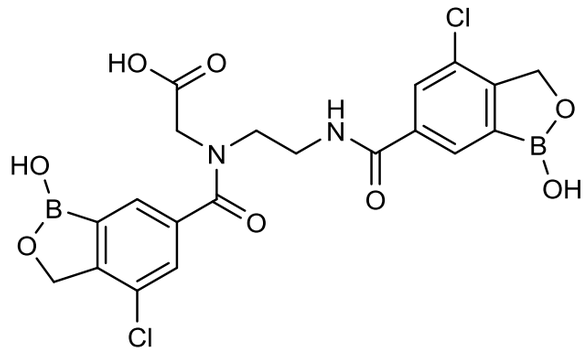
El 4-(acetoximetil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-(trifluorometil)benzoato de metilo (5, 17,5 g, 43,5 mmol) se suspendió en una solución de hidróxido de sodio (8,70 g, 217 mmol) en agua (150 ml). La mezcla se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente y después se extrajo con éter dietílico (2 x 200 ml). La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico concentrado (18,9 ml) y la mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El precipitado se filtró, se lavó con agua y se secó para dar ácido 1-

hidroxi-5-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (6) como un polvo gris. Rendimiento: 7,62 g (71 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,50 (bs, 1 H); 9,57 (s, 1 H); 8,16 (s, 1 H); 7,92 (s, 1 H); 5,11 (s, 2 H). Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, DMSO-d6, δF): -57,91 (s). LC-MS: 245,9 (M-H)-.

El ácido 1-hidroxi-5-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (6, 6,71 g, 27,3 mmol) se disolvió en una mezcla de tetrahidrofurano/diclorometano (1:1, 50 ml) seguido de la adición de 2,3,4,5,6-pentrafluorofenol (5,03 g, 27,3 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (5,23 g, 27,3 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo (150 ml) y se lavó con agua (3 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en éter dietílico (10 ml) y se añadió n-hexano (200 ml). El precipitado se separó por filtración y el filtrado se evaporó. El mismo procedimiento se repitió dos veces con el precipitado. Todos los filtrados se combinaron y se evaporaron hasta la sequedad para proporcionar 1-hidroxi-5-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (7) como un aceite amarillo duro. Rendimiento: 9,76 g (87 %).
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,74 (s, 1 H); 8,53 (s, 1 H); 8,16 (s, 1 H); 5,18 (s, 2 H).

El 1-hidroxi-5-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (7, 9,51 g, 23,1 mmol) se disolvió en *N*,*N*-dimetilformamida (30 ml). Posteriormente se añadieron *N*,*N*-diisopropiletilamina (10,1 ml, 57,7 mmol) y una solución de clorhidrato de (2-aminoetil)glicina (8, 1,78 g, 11,5 mmol) en agua (30 ml). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después los disolventes se evaporaron. El residuo se disolvió en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (1 x 200 ml), agua (2 x 200 ml) y salmuera (1 x 150 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se trató con ciclohexano. El precipitado se filtró, se lavó con ciclohexano y se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: diclorometano/metanol/ácido fórmico 10:1:0,05). Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se evaporaron. El residuo se trató con ciclohexano. El precipitado se filtró, se lavó con ciclohexano, se disolvió en acetonitrilo (50 ml) y se liofilizó para dar el compuesto del título (9) como un polvo beige. Rendimiento: 3,63 g (55 %).
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d4, 80 C, δH): 8,04-7,66 (m, 4 H); 5,28-5,04 (m, 4 H); 4,63-4,34 (m, 1 H); 4,22-3,78 (m, 3 H); 3,72-3,49 (m, 2 H). LC-MS: 574,0 (M+H)+.

Ejemplo 36: *N*-(4-cloro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(4-cloro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina

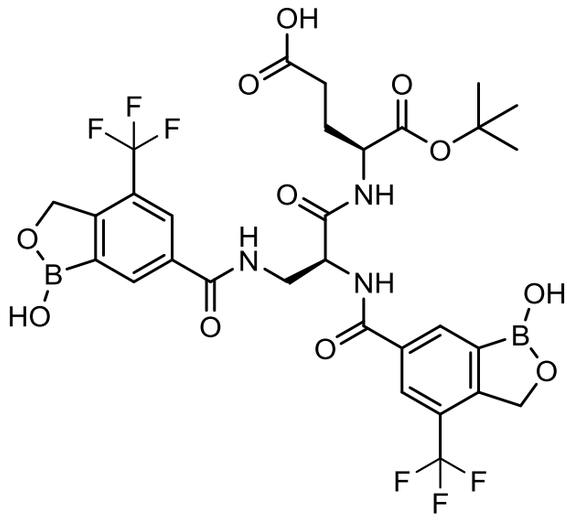


4

Se añadió clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 6,20 g, 23,1 mmol) a una suspensión de ácido 4-cloro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (1, 4,90 g, 23,1 mmol) y pentafluorofenol (Pfp-OH, 5,53 g, 23,1 mmol) en diclorometano (70 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó hasta la sequedad. El residuo se distribuyó entre acetato de etilo (200 ml) y una solución acuosa de hidrogenosulfato de potasio al 10 % (200 ml). La capa orgánica se separó y se lavó con agua (2 x 100 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó al vacío. El residuo se disolvió en diclorometano y se colocó en el refrigerador durante la noche. El sólido se separó por filtración y se lavó con acetato de etilo (2 x 20 ml). Los filtrados se combinaron y se evaporaron hasta la sequedad. Se añadió ciclohexano (100 ml) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La mezcla se decantó y el sedimento se secó al vacío para dar 4-cloro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (2) como un sólido blanquecino. Rendimiento: 8,29 g (95 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,83 (bs, 1 H); 8,61 (s, 1 H); 8,26 (s, 1 H); 5,13 (s, 2 H). LC-MS: 377,4 (M-H)-.

Se añadió trietilamina (10,0 ml, 131,6 mmol) a una mezcla de 1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (2, 8,29 g, 21,9 mmol) y *N*-2-aminoetilglicina (3, 1,30 g, 1,70 mmol) en solución de *N*,*N*-dimetilformamida/agua (2:1, 60 ml) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Posteriormente, se acidificó con una solución acuosa de bisulfato de potasio 1 M (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 250 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se destiló junto con tolueno (3 x 100 ml) y se trituró con éter dietílico (60 ml). El precipitado se filtró, se lavó con éter dietílico (2 x 50 ml) y se secó al aire. El polvo obtenido se disolvió en una mezcla de acetonitrilo/agua (2:1, 20 ml) y se liofilizó para dar el compuesto 4 como un sólido incoloro. Rendimiento: 1,50 g (15 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,87 (bs, 1 H); 9,59-9,41 (m, 2 H); 8,77-8,54 (m, 5 H); 5,07-4,88 (m, 4 H); 4,25-3,92 (m, 2 H); 3,60-3,24 (m, 4 H). LC-MS: 507,3 (M+H)+.

Ejemplo 37: Ácido (S)-4-((2S)-2,3-bis(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanamido)-5-(*terc*-butoxi)-5-oxopentanoico



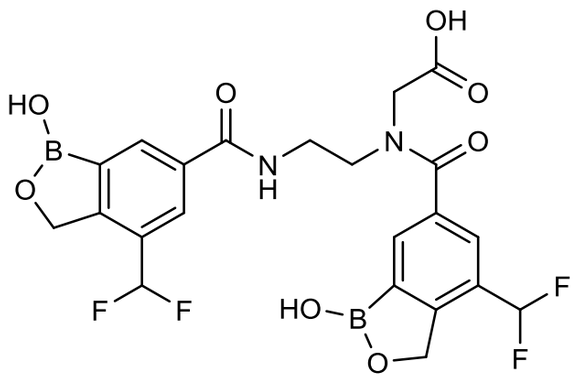
4

Una solución de pentafluorofenol (35,1 g, 191 mmol), ácido 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (1, 40,8 g, 166 mmol) y *N*,*N*'-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 39,3 g, 191 mmol) en acetonitrilo (1 l) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se filtró, se evaporó, se disolvió en acetonitrilo, se volvió a filtrar y se evaporó. El producto crudo se precipitó en diclorometano (1 l) y se filtró para dar el 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (2) como un sólido blanco. Rendimiento: 52,8 g (77 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,79 (s, 1 H); 8,86 (s, 1 H); 8,46 (s, 1 H); 5,30 (s, 2 H).

La resina de cloruro de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,5 mmol/g (3, 4,47 g, 6,71 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (30 ml) durante 30 minutos. Una solución de ácido (2*S*)-5-(*terc*-butoxi)-2-{[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino}-5-oxopentanoico (Fmoc-Glu-OtBu, 1,90 g, 4,47 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (2,96 ml, 17,0 mmol) en diclorometano seco (30 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (1,56 ml, 8,95 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (4:1, 2 x 5 min, 2 x 40 ml). Después la resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 30 ml), diclorometano (2 x 40 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 40 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 20 min, 2 x 40 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 40 ml), 2-propanol (2 x 40 ml) y diclorometano (3 x 40 ml). Una solución de ácido (2*S*)-2,3-bis((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanoico (Fmoc-Dap(Fmoc)-OH, 3,68 g, 6,71 mmol), hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido (HATU, 2,55 g, 6,71 mmol) y 2,4,6-trimetilpiridina (1,60 ml, 12,1 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 2 horas. La

resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 40 ml), diclorometano (2 x 40 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 40 ml). Los grupos Fmoc se eliminaron mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 30 min, 2 x 40 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 40 ml), 2-propanol (2 x 40 ml) y diclorometano (3 x 40 ml). Una solución de 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (2, 5,53 g, 13,4 mmol) y trietilamina (4,99 ml, 35,8 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (6 x 40 ml) y diclorometano (10 x 50 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con 2,2,2-trifluoroetanol (60 ml) durante 16 horas. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (4 x 50 ml). El producto crudo (4) se secó al vacío y se extrajo con acetato de etilo (2 x 70 ml) y una solución acuosa de hidrogenosulfato de potasio 1 M (50 ml), las fases orgánicas se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y el disolvente se evaporó. Después el producto crudo se trituró en éter dietílico (20 ml) para dar ácido (S)-4-((2S)-2,3-bis(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)propanamido)-5-(*terc*-butoxi)-5-oxopentanoico (4) como un sólido beige. Rendimiento: 1,89 g (57 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d4, δH): 8,50 (s, 1 H); 8,46 (s, 1 H); 8,29 (s, 1 H); 8,26 (s, 1 H); 5,28 (d, J=2,6 Hz, 4 H); 5,20 (t, J=5,9 Hz, 1 H); 4,55 (dd, J=8,5 y 5,2 Hz, 1 H); 4,08 (dd, J=6,0 y 2,1 Hz, 2 H); 2,57-2,42 (m, 2 H); 2,34-2,16 (m, 1 H); 2,17-2,08 (m, 1 H); 1,47 (s, 9 H). LC-MS: 746,3 (M+H)+.

Ejemplo 38: *N*-(4-(difluorometil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(4-(difluorometil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina



11

Se añadió ácido sulfúrico concentrado (35 ml) a una solución de ácido 3-bromo-5-yodo-4-metilbenzoico (1, 55,4 g, 162 mmol) en metanol (1,2 l) y la mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche. Después la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida, se disolvió en éter dietílico (700 ml), se lavó con agua (2 x 300 ml) y una solución saturada de carbonato de potasio (1 x 300 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar 3-bromo-5-yodo-4-metilbenzoato de metilo (2) como un sólido blanco. Rendimiento: 50,0 g (87 %). Espectro de ^{1}H RMN (300

MHz, DMSO-d6, δH): 8,32 (d, J=1,7 Hz, 1 H); 8,09 (d, J=1,3 Hz, 1 H); 3,86 (s, 3 H); 2,65 (s, 3 H).

A una solución de 3-bromo-5-yodo-4-metilbenzoato de metilo (2, 37,3 g, 105 mmol) en tetrahidrofurano seco (250 ml) se añadió gota a gota una solución de complejo de cloruro de isopropilmagnesio y cloruro de litio 1,3 M en tetrahidrofurano (89,0 ml, 115 mmol) a -30 C en atmósfera inerte y se agitó durante 20 minutos. Después se añadió *N*,*N*-dimetilformamida (12,2 ml, 158 mmol) a -30 C. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. Después la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida, se disolvió en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con agua (2 x 200 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar 3-bromo-5-formil-4-metilbenzoato de metilo (3) como un sólido blanco. Rendimiento: 24,9 g (92 %).
Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 10,27 (s, 1 H); 8,53-8,34 (m, 2 H); 3,97 (s, 3 H); 2,82 (s, 3 H).

Una solución de 3-bromo-5-formil-4-metilbenzoato de metilo (3, 24,8 g, 96,5 mmol) y trifluoruro de (dietilamino)azufre (DAST, 25,5 ml, 193 mmol) en diclorometano (300 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se inactivó mediante la adición de agua (200 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 200 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron para proporcionar 3-bromo-5-(difluorometil)-4-metilbenzoato de metilo (4) como un sólido blanco. Rendimiento: 23,3 g (87 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,35 (d, J=1,1 Hz, 1 H); 8,14 (d, J=0,9 Hz, 1 H); 6,78 (t, J=54,8 Hz, 1 H); 3,93 (s, 3 H); 2,55 (t, J=1,4 Hz, 3 H).

Una solución de *N*-bromosuccinimida (16,4 g, 91,9 mmol), 3-bromo-5-(difluorometil)-4-metilbenzoato de metilo (4, 23,3 g, 83,5 mmol) y 2,2-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN, 1,36 g, 8,36 mmol) en α,α,α-trifluorotolueno (120 ml) se agitó durante la noche a 85 C. La mezcla de reacción se evaporó y después se extrajo con éter dietílico (2 x 300 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (1 x 150 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para dar 3-bromo-4-(bromometil)-5-(difluorometil)benzoato de metilo (5) crudo que se agitó con acetato de potasio (16,4 g, 167 mmol) en acetonitrilo (300 ml) a 75 C durante la noche. La suspensión se filtró a través de una almohadilla corta de celite y se evaporó. El producto crudo se disolvió en diclorometano y se filtró nuevamente. El filtrado se evaporó y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 9:1) para dar 4-(acetoximetil)-3-bromo-5-(difluorometil)benzoato de metilo (6) como un sólido blanco. Rendimiento: 17,1 g (61 %). RF (SiO2, hexano/acetato de etilo 9:1): 0,50. Espectro

de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,40 (s, 1 H); 8,26 (s, 1 H); 7,02 (t, J=54,7 Hz, 1 H); 5,38 (s, 2 H); 3,97 (s, 3 H); 2,11 (s, 3 H).

Una solución de 4-(acetoximetil)-3-bromo-5-(difluorometil)benzoato de metilo (6, 17,1 g, 50,7 mmol), bis(pinacolato)diboro (14,2 g, 55,7 mmol), acetato de potasio (14,9 g, 152 mmol) y [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (1,24 g, 1,52 mmol) en dioxano seco (200 ml) se agitó a 75 °C en atmósfera de argón durante 2 días. Después la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró y se evaporó. El producto crudo se filtró a través de una columna de gel de sílice (gel de sílice, 0,063-0,200 mm; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 9:1) para proporcionar 4-(acetoximetil)-3-(difluorometil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (7). Rendimiento: 16,3 g (84 %). RF (SiO2, ciclohexano/acetato de etilo 9:1): 0,30. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,57 (s, 1 H); 8,38 (s, 1 H); 7,04 (t, J=55,1 Hz, 1 H); 5,54 (s, 2 H); 3,97 (s, 3 H); 2,06 (s, 3 H); 1,39 (s, 12 H).

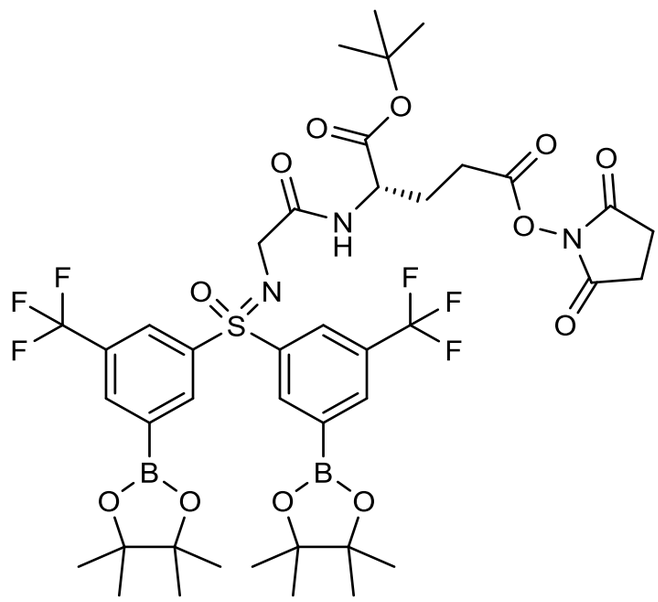
Una solución de 4-(acetoximetil)-3-(difluorometil)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (7, 16,3 g, 42,3 mmol) e hidróxido de sodio (8,45 g, 212 mmol) en agua (200 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Después se añadió una solución de ácido clorhídrico concentrado (20 ml) en agua (50 ml) para reducir el pH hasta 1. La mezcla de reacción se dejó en el refrigerador durante la noche. El precipitado se filtró y se secó para proporcionar ácido 4-(difluorometil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (8) como un sólido blanco. Rendimiento: 8,55 g (89 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 13,25 (bs, 1 H); 9,54 (s, 1 H); 8,51 (s, 1 H); 8,20 (s, 1 H); 7,22 (t, J=55,1 Hz, 1 H); 5,19 (s, 2 H).

Una solución de pentafluorofenol (8,28 g, 45,0 mmol), ácido 4-(difluorometil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (8, 8,55 g, 37,5 mmol) y clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDC.HCl, 10,1 g, 52,5 mmol) en diclorometano (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se evaporó, se disolvió en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (3 x 200 ml) y salmuera (1 x 200 ml). La capa orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto crudo 9 se recristalizó a partir de ciclohexano caliente (300 ml) y acetato de etilo (30 ml) para dar el 4-(difluorometil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (9) como un sólido blanco. Rendimiento: 8,20 g (56 %). LC-MS: 395,5 (M+H)+.

Una solución de 4-(difluorometil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de perfluorofenilo (9, 8,20 g, 20,8 mmol), (2-aminoetil)glicina (10, 1,23 g, 10,4

mmol) y trietilamina (14,5 ml, 104 mmol) en tetrahidrofurano (40 ml) y agua (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después el tetrahidrofurano se evaporó y se añadió una solución acuosa de hidrogenosulfato de potasio 1 M (30 ml) al residuo. Esta mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron. El producto crudo 11 se disolvió en acetato de etilo (10 ml) y se precipitó con ciclohexano (100 ml). El precipitado se filtró, se lavó con ciclohexano (50 ml) y se liofilizó para proporcionar *N*-(4-(difluorometil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonil)-*N*-(2-(4-(difluorometil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)glicina (11) como un sólido blanco. Rendimiento: 4,59 g (82 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,87 (bs, 1 H); 9,66-9,33 (m, 2 H); 8,95-6,68 (m, 7 H); 5,15 (d, J=11,9 Hz, 4 H); 4,39-3,94 (m, 2 H); 3,76-3,37 (m, 4 H). LC-MS: 539,1 (M+H)+.

Ejemplo 39: 1-(*terc*-butil)-5-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-(2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)-λ^{6}-sulfaniliden)amino)acetil)-*L*-glutamato



4

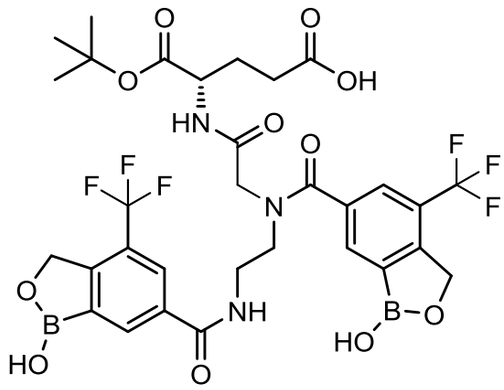
Posteriormente se añadieron diclorometano seco (37 ml) y trietilamina (1,53 ml, 11,0 mmol) a 2,5-dioxopirrolidin-1-il-2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)-λ^{6}-sulfaniliden)amino)acetato (1, 2,78 g, 3,66 mmol) preparado en el Ejemplo 33 y ácido (*S*)-4-amino-5-(*terc*-butoxi)-5-oxopentanoico (2, H-Glu-OtBu, 891 mg, 4,39 mmol). La mezcla se sonicó para dar una solución que se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. Los componentes volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se redisolvió en acetato de etilo (200 ml). La solución resultante se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (3 x 50 ml) y salmuera (50 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó hasta la sequedad. El residuo se redisolvió en acetato de etilo (50 ml) y se añadió una solución de pinacol (432 mg, 3,66 mmol) en acetato de etilo (20 ml). La solución resultante se evaporó al vacío para dar ácido (S)-5-(*terc*-butoxi)-5-oxo-4-(2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)-λ^{6}-

sulfaniliden)amino)acetamido)pentanoico (3) como una espuma de color amarillo pálido. Rendimiento: 3,07 g (99 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,57 (d, J=12,7 Hz, 2 H); 8,40 (dd, J=8,3 y 0,7 Hz, 2 H); 8,25 (s, 2 H); 7,96 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 4,57 (m, 1 H); 3,71 (dd, J=22,9 y 17,4 Hz, 2 H); 2,53-2,43 (m, 2 H); 2,37-2,24 (m, 1 H); 2,15-2,02 (m, 1 H); 1,47 (s, 9 H); 1,37 (s, 24 H). Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -62,64 (s). LC-MS: 683,4 (M-2 x pinacol-H)-.

Posteriormente se añadió carbonato de *N*,*N*-disuccinimidilo (DSC, 1,84 g, 7,19 mmol) y piridina (0,58 ml, 7,19 mmol) a una solución de ácido (*S*)-5-(*terc*-butoxi)-5-oxo-4-(2-((oxobis(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)-λ^6-sulfaniliden)amino)acetamido)pentanoico (3, 3,05 g, 3,59 mmol) en acetonitrilo seco (18 ml) y la mezcla se sonicó para formar una suspensión fina. La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche para dar una solución transparente. La solución se evaporó hasta la sequedad y el residuo se distribuyó entre acetato de etilo (250 ml) y una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (100 ml). Las fases se separaron, la orgánica se lavó con solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M (4 x 100 ml) y salmuera (70 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó hasta la sequedad. El residuo se disolvió en diclorometano (40 ml), seguido de la adición de pinacol (636 mg, 5,39 mmol). El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se evaporó a partir de diclorometano (50 ml). La espuma resultante se trituró con ciclohexano (3 x 50 ml); el semisólido resultante se decantó, se disolvió en diclorometano (50 ml) y se evaporó hasta la sequedad al vacío. El residuo se evaporó a partir de diclorometano (3 x 50 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (4) como una espuma blanca. Rendimiento: 2,82 g (83 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, δH): 8,57 (s, 1 H); 8,51 (s, 1 H); 8,43 (s, 1 H); 8,31 (s, 1 H); 8,25 (s, 1 H); 8,24 (s, 1 H); 7,77 (d, J=7,9 Hz, 1 H); 4,60 (m, 1 H); 3,73 (dd, J=39,6 y 17,3 Hz, 2 H); 2,82 (s, 4 H); 2,79-2,62 (m, 2 H); 2,43-2,30 (m, 1 H); 2,20-2,06 (m, 1 H); 1,49 (s, 9 H); 1,36 (s, 24 H).

Espectro de ^{19}F RMN (282 MHz, $CDCl_3$, δF): -62,63 (s). LC-MS: 864,5 (M-pinacol+H)+, 946,7 (M+H)+.

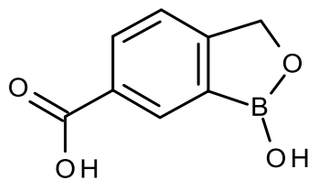
Ejemplo 40: Ácido (*S*)-5-(*terc*-butoxi)-4-(2-(1-hidroxi-*N*-(2-(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)acetamido)-5-oxopentanoico



La resina de cloruro de 2-clorotritilo de malla 100-200 a 1,5 mmol/g (1, 4,39 g, 6,59 mmol) se dejó hinchar en diclorometano seco (30 ml) durante 30 minutos. Una solución de 1-*terc*-butil éster de ácido (S)-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)pentanodioico (Fmoc-Glu-OtBu, 1,87 g, 4,39 mmol) y *N*,*N*-diisopropiletilamina (2,91 ml, 16,7 mmol) en diclorometano seco (30 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se trató con una solución de *N*,*N*-diisopropiletilamina (1,53 ml, 8,78 mmol) en una mezcla de metanol/diclorometano (4:1, 2 x 5 min, 2 x 40 ml). Después la resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 30 ml), diclorometano (2 x 40 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 40 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 20 min, 2 x 40 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 40 ml), 2-propanol (2 x 40 ml) y diclorometano (3 x 40 ml). Una solución de *N*-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-*N*-(2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)glicina (Fmoc-AEG(Fmoc)-OH, 3,71 g, 6,59 mmol), hexafluorofosfato de 1-((dimetilamino)(dimetiliminio)metil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridina 3-óxido (HATU, 2,50 g, 6,59 mmol) y 2,4,6-trimetilpiridina (1,57 ml, 11,9 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante 2 horas. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 40 ml), diclorometano (2 x 40 ml) y *N*,*N*-dimetilformamida (2 x 40 ml). El grupo Fmoc se eliminó mediante el tratamiento con piperidina al 20 % en *N*,*N*-dimetilformamida (1 x 5 min, 1 x 30 min, 2 x 40 ml). La resina se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (3 x 40 ml), 2-propanol (2 x 40 ml) y diclorometano (3 x 40 ml). Una solución de 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxilato de pentafluorofenilo (2, 5,43 g, 13,2 mmol) y trietilamina (4,90 ml, 35,1 mmol) en *N*,*N*-dimetilformamida (40 ml) se añadió a la resina y la mezcla se agitó durante la noche. La resina se filtró y se lavó con *N*,*N*-dimetilformamida (6 x 40 ml) y diclorometano (10 x 50 ml). El producto se escindió de la resina mediante el tratamiento con 2,2,2-trifluoroetanol (60 ml) durante 16 horas. La resina se separó por filtración y se lavó con diclorometano (4 x 50 ml). Los disolventes se evaporaron; el residuo se extrajo con una solución acuosa de hidrogenosulfato de potasio 1 M (50 ml) y acetato de etilo (2 x 70 ml), las fases orgánicas se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y el disolvente se evaporó. El producto crudo se precipitó a partir de acetato de etilo/ciclohexano (1:10, 40 ml), se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,063-0,200 mm; eluyente: acetonitrilo/agua 10:1) y se liofilizó para dar ácido (S)-5-(*terc*-

butoxi)-4-(2-(1-hidroxi-*N*-(2-(1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)etil)-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxamido)acetamido)-5-oxopentanoico (3) como un sólido blanco. Rendimiento: 1,50 g (45 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, AcOD-d4, δH): 8,44 (s, 1 H); 8,24 (s, 1 H); 8,05 (s, 1 H); 7,77 (s, 1 H); 5,25 (d, J=17,1 Hz, 4 H); 4,70-4,25 (m, 3 H); 4,03-3,67 (m, 4 H); 2,49 (bs, 2 H); 2,22 (bs, 1 H); 1,49 (s, 9 H).
LC-MS: 760,3 (M+H)+.

Ejemplo 41: Ácido 1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico



Se añadió *N*-bromosuccinimida (NBS, 88,1 g, 495 mmol) a una suspensión fría (10 ^{o}C) de 4-metibenzonitrilo (58,6 g, 500 mmol) en ácido sulfúrico acuoso al 50 % (270 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 40 horas a 10 C en la oscuridad. Después de eso la suspensión se filtró y la torta del filtro se lavó con agua (100 ml) y se disolvió en acetato de etilo (800 ml). La solución del producto crudo en acetato de etilo se lavó con agua (400 ml), una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (2 x 400 ml) y salmuera (200 ml). La solución orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó hasta la sequedad para dar 3-bromo-4-metilbenzonitrilo crudo como cristales amarillos. El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación. Rendimiento: 90,70 g (92 %). RF (SiO2, hexanos/acetato de etilo 9:1): 0,45. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, CDCl3, δH): 7,82 (d, J=1,5 Hz, 1 H); 7,50 (dd, J=7,9 y 1,7 Hz, 1 H); 7,34 (d, J=7,9, 1 H); 2,47 (s, 3 H).

Se añadieron peróxido de benzoilo (1 g) y *N*-bromosuccinimida (NBS, 96,3 g, 541 mmol) a una solución de 3-bromo-4-metilbenzonitrilo (90,7 g, 463 mmol) en tetraclorometano (1,00 l). La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. Después de eso, la mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con diclorometano (500 ml) y se extrajo con agua (2 x 500 ml). La solución orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó hasta la sequedad para dar 3-bromo-4-(bromometil)benzonitrilo crudo como un aceite pardo. Rendimiento: 135 g. RF (SiO2, hexanos/acetato de etilo 9:1): 0,45.

Se añadió acetato de potasio (98,1 g, 1,00 mol) a una solución fría (4 ^{o}C) solución del 3-bromo-4-(bromometil)benzonitrilo crudo anterior (135 g) en acetonitrilo (700 ml). La mezcla se agitó a 70 °C durante 24 horas. La mezcla se evaporó y el residuo se diluyó en acetato de etilo (800 ml) y se extrajo con agua (2 x 500 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio y se evaporó hasta la sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,060 mm; eluyente:

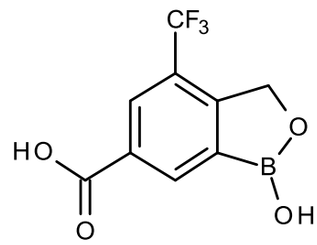
hexanos/acetato de etilo de 20:1 a 5:1) para dar acetato de 2-bromo-4-cianobencilo como cristales blancos. Rendimiento: 60,90 g (52 % en dos etapas). RF (SiO2, hexanos/acetato de etilo 4:1): 0,30. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, CDCl3, δH): 7,87 (d, J=1,5 Hz, 1 H); 7,64 (dd, J=8,1 y 1,7 Hz, 1 H); 7,53 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 5,22 (s, 2 H); 2,19 (s, 3 H).

En atmósfera de argón, se disolvieron acetato de 2-bromo-4-cianobencilo (60,0 g, 236 mmol), acetato de potasio (46.3 g, 472 mmol), bis(pinacotato)diboro (65,9 g, 259 mmol) y complejo de [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) con diclorometano (5 g) en 1,4-dioxano desgasificado (800 ml) y la mezcla se sometió a reflujo durante 18 horas. Después de eso, la mezcla se filtró y el filtrado se evaporó y el residuo se redisolvió en acetato de etilo (800 ml). La solución se lavó con agua (2 x 400 ml) y salmuera (400 ml). La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio y se evaporó hasta la sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 60, 0,040-0,060 mm; eluyente: hexanos/acetato de etilo 8:1) para dar cristales blancos de acetato de 4-ciano-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencilo. Rendimiento: 48,80 g (69 %). RF (SiO2, hexanos/acetato de etilo 4:1): 0,35. Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, CDCl3, δH): 8,13 (d, J=1,7 Hz, 1 H); 7,71 (dd, J=7,9 y 1,9 Hz, 1 H); 7,49 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 5,42 (s, 2 H); 2,13 (s, 3 H).

Una solución de hidróxido de sodio (13,1 g, 327 mmol) en metanol (300 ml) se añadió gota a gota a una solución de acetato de 4-ciano-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencilo (44.8 g, 149 mmol) en metanol (300 ml) a 30 C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas adicionales. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (200 ml). Se añadió ácido clorhídrico acuoso 2 M (660 ml) y la suspensión resultante se agitó durante 10 minutos. La suspensión se enfrió hasta 10 °C y se filtró. La torta del filtro se lavó con agua (100 ml) y n-hexano (100 ml) para dar 1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonitrilo como un polvo blanco. Rendimiento: 20,15 g (85 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 9,55 (bs, 1 H); 8,09 (s, 1 H); 7,90 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 7,63 (d, J=7,9 Hz, 1 H); 5,07 (s, 2 H).

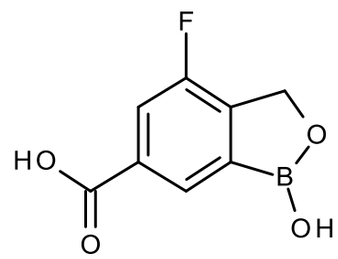
Una suspensión de 1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carbonitrilo (20,15 g, 127 mmol) en ácido clorhídrico conc. (1,50 l) se sometió a reflujo durante 24 horas y se enfrió hasta 10 ^{o}C. La suspensión se filtró y la torta del filtro se lavó con agua (300 ml). La torta del filtro se suspendió en agua (500 ml) y se liofilizó. El residuo se suspendió en diclorometano (500 ml) y se filtró. La torta del filtro se lavó con diclorometano (200 ml) y se secó al vacío para dar ácido 1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico como un polvo blanco. Rendimiento: 12,30 g (55 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,92 (s, 1H); 9,36 (s, 1 H); 8,37 (s, 1 H); 8,04 (dd, J=7,9 y 0,9 Hz, 1 H); 7,52 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 5,05 (s, 2 H). LC-MS m/z: 178,2 (M+H).

Ejemplo 42: Ácido 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico



El ácido 1-hidroxi-4-(trifluorometil)-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico se preparó como se describió en el Ejemplo 28.

Ejemplo 43: Ácido 4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico



Una solución agitada intensamente de ácido 3-fluoro-4-metilbenzoico (1, 61,7 g, 400 mmol) en ácido sulfúrico (96 %, 400 ml) se enfrió con un baño externo de agua helada y se añadió *N*-bromosuccinimida (72,0 g, 405 mmol) en tres porciones durante 20 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, después se añadió otra porción de *N*-bromosuccinimida (72,0 g, 405 mmol) de una vez y la mezcla completa se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La suspensión resultante se diluyó con agua helada (3,00 l) y se agitó durante 10 minutos. El sólido se separó por filtración, se lavó con agua (200 ml), se trituró con agua (3 x 600 ml) y se aspiró tanto como fue posible. El sólido húmedo se suspendió en agua (400 ml), se agitó a temperatura ambiente y se añadió una solución de hidróxido de sodio (50,0 g, 1,25 mol en 200 ml de agua). La solución resultante se calentó hasta 40 ^{o}C durante la noche. La filtración de la solución ligeramente turbia proporcionó un filtrado amarillento claro al que se añadió una solución de bisulfato de potasio (180 g, 1,32 mol en 400 ml de agua). El precipitado blanco se extrajo con una mezcla de diclorometano/tetrahidrofurano 4:1 (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron hasta la sequedad para dar un residuo sólido blanco. Se añadió cloruro de tionilo (30,0 ml, 413 mmol) a la suspensión enfriada agitada (-78 °C) de este residuo en metanol anhidro (500 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y después se calentó hasta 60 C durante la noche. La solución se enfrió hasta temperatura ambiente y se mantuvo a 4 °C durante la noche. El material cristalino se separó por filtración, se lavó con metanol (2 x 50 ml), *terc*-butil metil éter (2 x 50 ml) y se secó al vacío para proporcionar 2,3-dibromo-5-fluoro-4-metilbenzoato de metilo (2) como cristales incoloros. Rendimiento: 78,2 g (60 %). Espectro de ^{1}H RMN

(300 MHz, CDCl3, δH): 7,37 (d, J=9,0 Hz, 1 H); 3,94 (s, 3 H); 2,46 (d, J=2,3 Hz, 3 H). LC-MS m/z: 327,2 (M+H)+.

Una suspensión de cobre en polvo fino (44,0 g, 692 mmol) y 2,3-dibromo-5-fluoro-4-metilbenzoato de metilo (2, 75,2 g, 231 mmol) en ácido propiónico (100 ml) se agitó y se calentó a 85-90 °C durante 6 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con una mezcla de ciclohexano/tolueno (3:1, 800 ml). La mezcla de reacción se lavó con agua (3 x 200 ml), solución acuosa de bisulfato de potasio al 10 % (2 x 200 ml) y salmuera (2 x 300 ml). La solución orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó hasta la sequedad para dar un aceite amarillento que se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,060 mm; eluyente: ciclohexano/tolueno 3:1) para proporcionar 3-bromo-5-fluoro-4-metilbenzoato de metilo (3) como cristales incoloros. Rendimiento: 52,5 g (92 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, CDCl3, δH): 7,51 (s, 1 H); 7,37 (d, J=9,0 Hz, 1 H); 3,86 (s, 3 H); 2,37 (d, J=2,4 Hz, 3 H). LC-MS m/z: 347,3 (M+H)+.

El 3-bromo-5-fluoro-4-metilbenzoato de metilo (3, 51,9 g, 210 mmol) se disolvió en 1,4-dioxano anhidro (400 ml), se añadió acetato de potasio anhidro (65,3 g, 666 mmol) y bis(pinacolato)diboro (4, 75,1 g, 296 mmol) a temperatura ambiente y esta mezcla se desgasificó. Se añadió 1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (1,88 g, 2,57 mmol) y la mezcla se calentó hasta 75 °C en una atmósfera de argón durante 40 horas. La mezcla se concentró a presión reducida y se disolvió en tolueno (1,1 l) y se extrajo con agua (2 x 200 ml). La solución orgánica se secó mediante el uso de sulfato de sodio anhidro, se evaporó a presión reducida y después se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice 60, 0,040-0,063 mm; eluyente: tolueno/acetato de etilo 9:1) para proporcionar 3-fluoro-4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (5) como un sólido blanco. Rendimiento: 50,0 g (81 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, CDCl3, dH): 8,20 (s, 1 H); 7,70 (d, J=10,0 Hz, 1 H); 3,85 (s, 3 H); 2,50 (s, 3 H); 1,36 (s, 12 H). LC-MS m/z: 295,4 (M+H)+.

Se añadieron azobisisobutironitrilo (AIBN, 0,86 g, 5,20 mmol) y *N*-bromosuccinimida (NBS, 25,4 g, 143 mmol) a una solución de 3-fluoro-4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (5, 40,0 g, 136 mmol) en 1,2-dicloroetano (200 ml). La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (500 ml) y se extrajo con agua (2 x 500 ml). La solución orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó hasta la sequedad para dar 4-(bromometil)-3-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (6) como cristales amarillentos. El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Rendimiento: 35,5 g (70 %). LC-MS m/z: 373,4 (M+H)+.

El 4-(bromometil)-3-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (6, 7,46 g, 20,0 mmol) se agitó con una solución acuosa de hidróxido de sodio 2,5 M (40,0 ml, 100 mmol) a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió una solución acuosa de ácido clorhídrico 6 M (20,0 ml, 120 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 minutos y se mantuvo a 4 °C durante la noche. El precipitado blanco se recogió por filtración y se lavó con agua (2 x 100 ml) y se secó al aire para proporcionar ácido 4-fluoro-1-hidroxi-1,3-dihidrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-carboxílico (7) como un sólido blanco que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Rendimiento: 3,76 g (96 %). Espectro de ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d6, δH): 12,8 (s, 1 H); 9,57 (s, 1 H); 8,20 (s, 1 H); 7,72 (d, J=7,1 Hz, 1 H); 5,14 (s, 2 H). LC-MS m/z: 197,4 (M+H)+.

Preparación de derivados de insulina

Los análisis de LCMS se realizaron mediante el uso de una columna C18 y TFA al 0,1 % en agua como amortiguador A y TFA al 0,1 % en acetonitrilo como amortiguador B.

La LCMS de los derivados de boro-insulina generalmente muestran especies deshidratadas como los picos principales:

$[M + nH - 2x\ m\ M_{agua}]^{n+}$ para el estado de ionización “n” y número “m” de ácidos borónicos

$[M + nH - 1x\ m\ M_{agua}]^{n+}$ para el estado de ionización “n” y número “m” de boroxoles

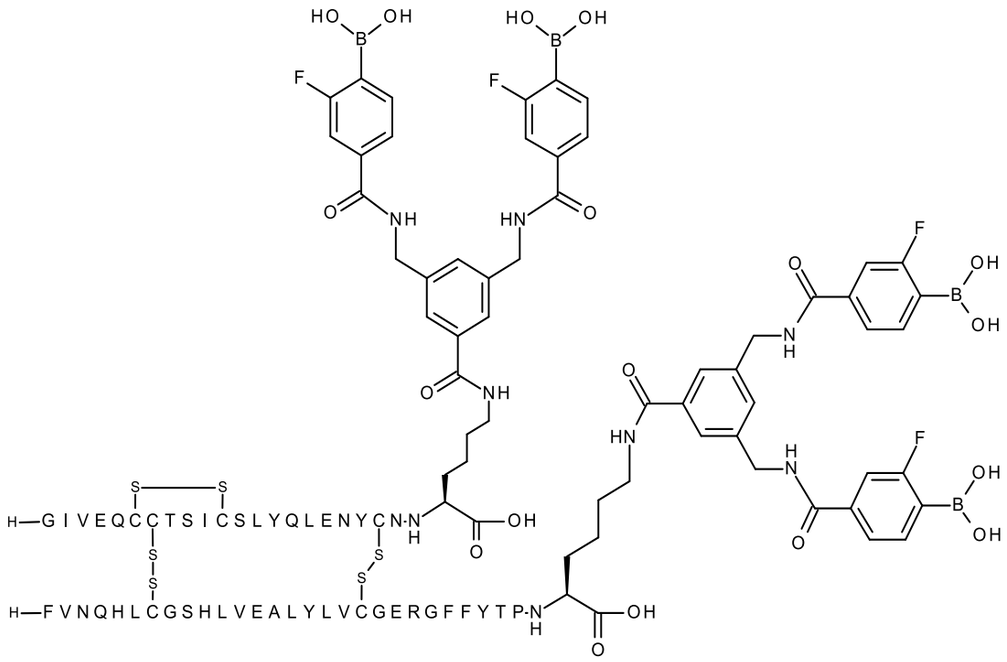
por ejemplo, $[M + 5H - 2x\ (4x\ 18{,}015)]^{5+}$ para el estado pentaiónico de un derivado con 4 ácidos borónicos

Los valores medidos y calculados para $[M + 4H - x(agua)]^{4+}$ y $[M + 5H - x(agua)]^{5+}$ se muestran en la Tabla 2 (mostrada en el Ejemplo B).

Los conjugados de insulina en los ejemplos se representan mediante el uso de las abreviaturas estándar de una letra para los aminoácidos. Los átomos de azufre de los residuos de cisteína se representan específicamente para ilustrar los puentes disulfuro. Los residuos que se modifican por conjugación se representan para mostrar exactamente dónde se ha producido la modificación del aminoácido relevante. Los extremos N de la insulina se denotan con fuente pequeña H-, y los extremos C se denotan con fuente pequeña -OH, como es estándar en la química de péptidos. H- y -OH no se usan cuando un residuo terminal se modifica por conjugación, en cuyo caso los residuos se representan expandidos, como se explicó anteriormente. Las sustituciones en la insulina humana se ilustran en algunos casos con un asterisco en fuente pequeña (*).

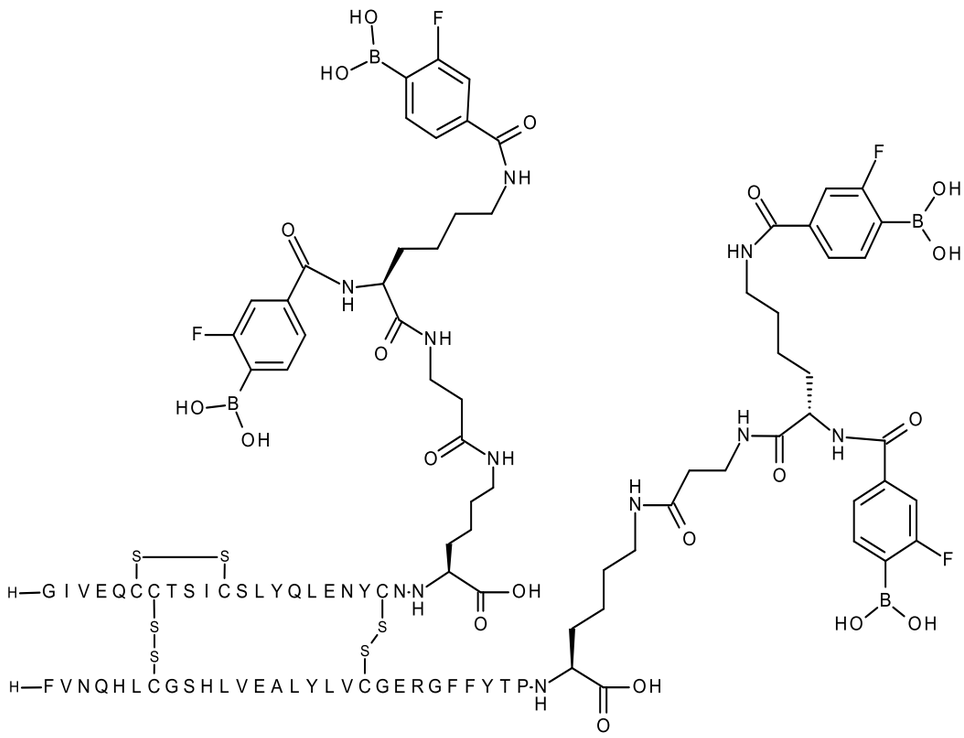
Los componentes básicos que aún no eran succinimidil éster, se activaron mediante el uso de HONSU/DIC o TSTU en acetonitrilo o THF antes de la conjugación con insulina.

Ejemplo 101:



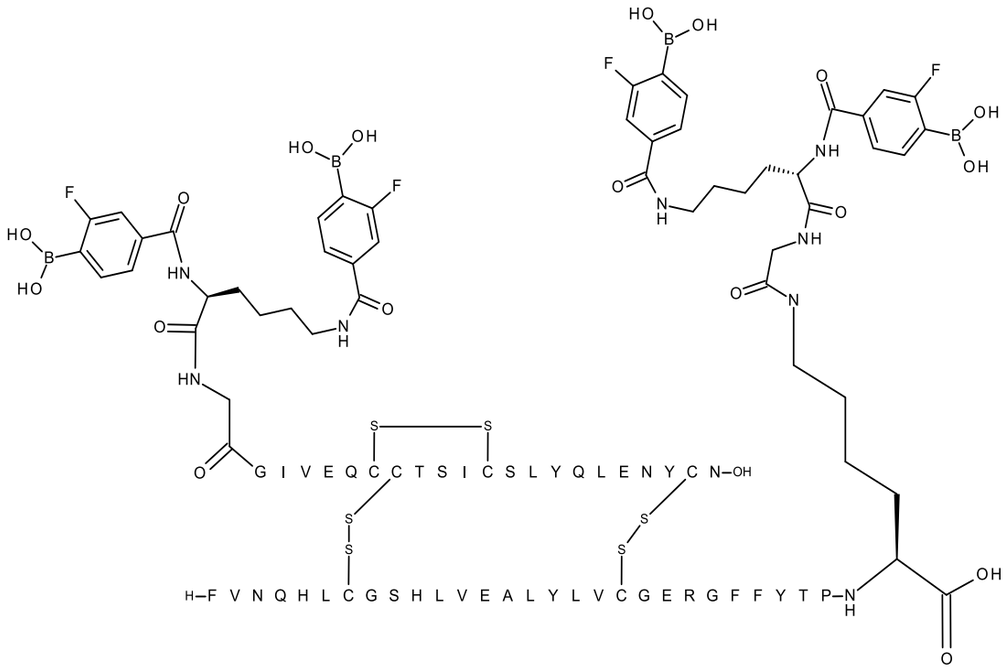
La insulina humana A22K desB30 (500 mg, 0,086 mmol) se disolvió en carbonato de sodio 0,1 M (5 ml), pH 10,5. El componente básico del Ejemplo 2 (146 mg, 0,189 mmol) se disolvió en MeCN (5 ml) y se añadió a la solución de insulina mencionada. El pH se monitorizó y se mantuvo cerca de 10,5. Después de 30 minutos, la LCMS muestra la formación del producto deseado. La mezcla se diluyó con MeCN al 20 % en agua (11 ml) y el pH se ajustó a 1,5 mediante el uso de TFA. El producto se purificó por HPLC de fase inversa (RP-HPLC) en una columna C18 mediante el uso de TFA al 0,1 % en agua como amortiguador A y TFA al 0,1 % en acetonitrilo como amortiguador B. El producto se aisló por liofilización. LCMS de $[M + 4H - 8x\ agua]^{4+}$ medida 1670,4, calculada 1670,6, ver la Tabla 2 (mostrada en el Ejemplo B).

Ejemplo 102:



El derivado de insulina del Ejemplo 102 se preparó de manera similar al derivado de insulina del Ejemplo 101 a partir de insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 3. LCMS del producto $[M + 4H - 8x \text{ agua}]^{4+}$ medida 1689,0, calculada 1689,2.

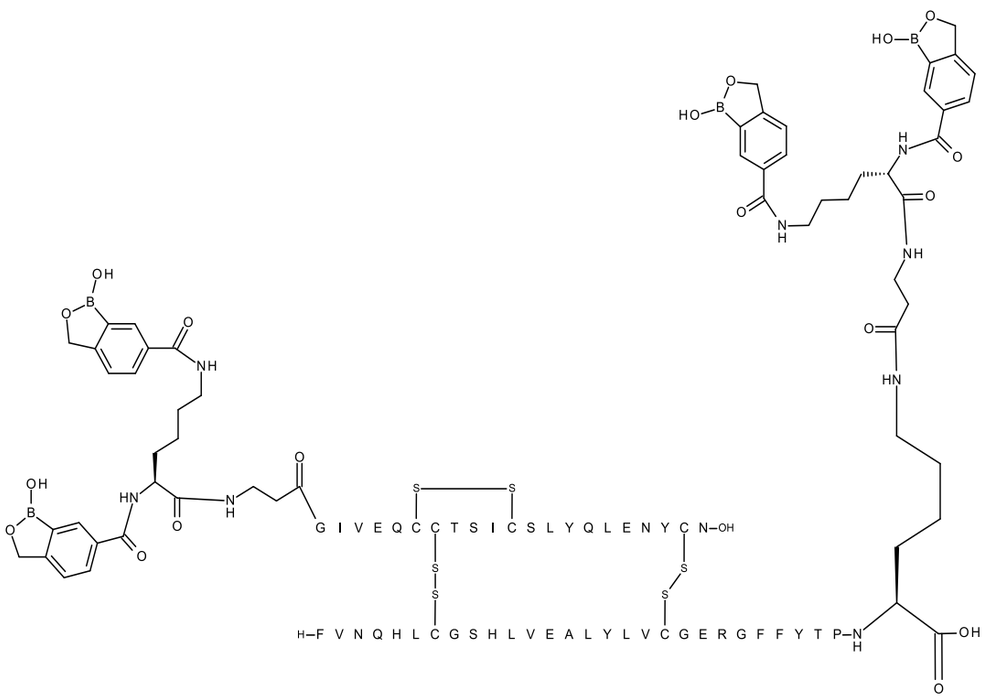
Ejemplo 103:



El derivado de insulina del Ejemplo 103 se preparó con insulina humana desB30 disuelta (232 mg, 0,041 mmol) en DMSO y la adición del componente básico del Ejemplo 4 (35,6 mg, 0,045 mmol) en DMSO junto con NMM (1,22 mmol, 135,5 µl). El producto se purificó por HPLC de fase inversa (RP-HPLC) en una columna C18 mediante el uso de TFA al 0,1 % en agua como amortiguador A y TFA al 0,1 % en acetonitrilo como amortiguador B y se

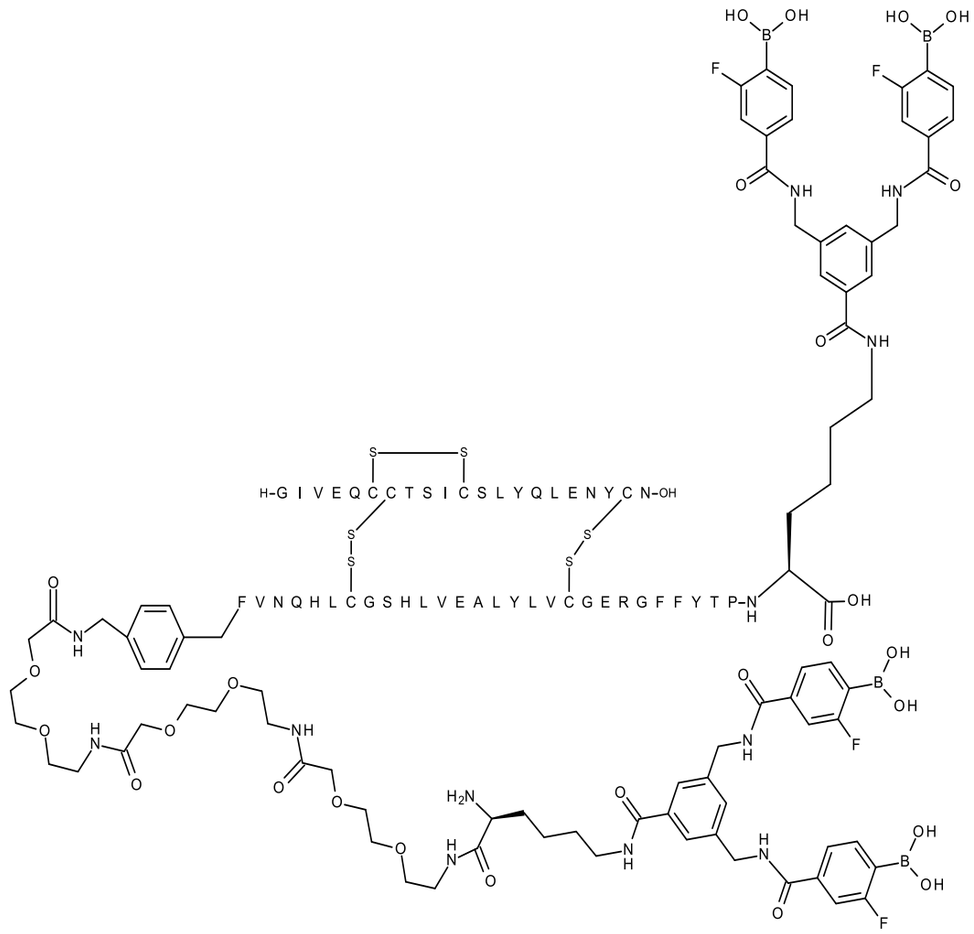
aisló por liofilización. LCMS del producto [M + 4H - 4x agua]$^{4+}$ medida 1663,0, calculada 1664,1.

Ejemplo 104:



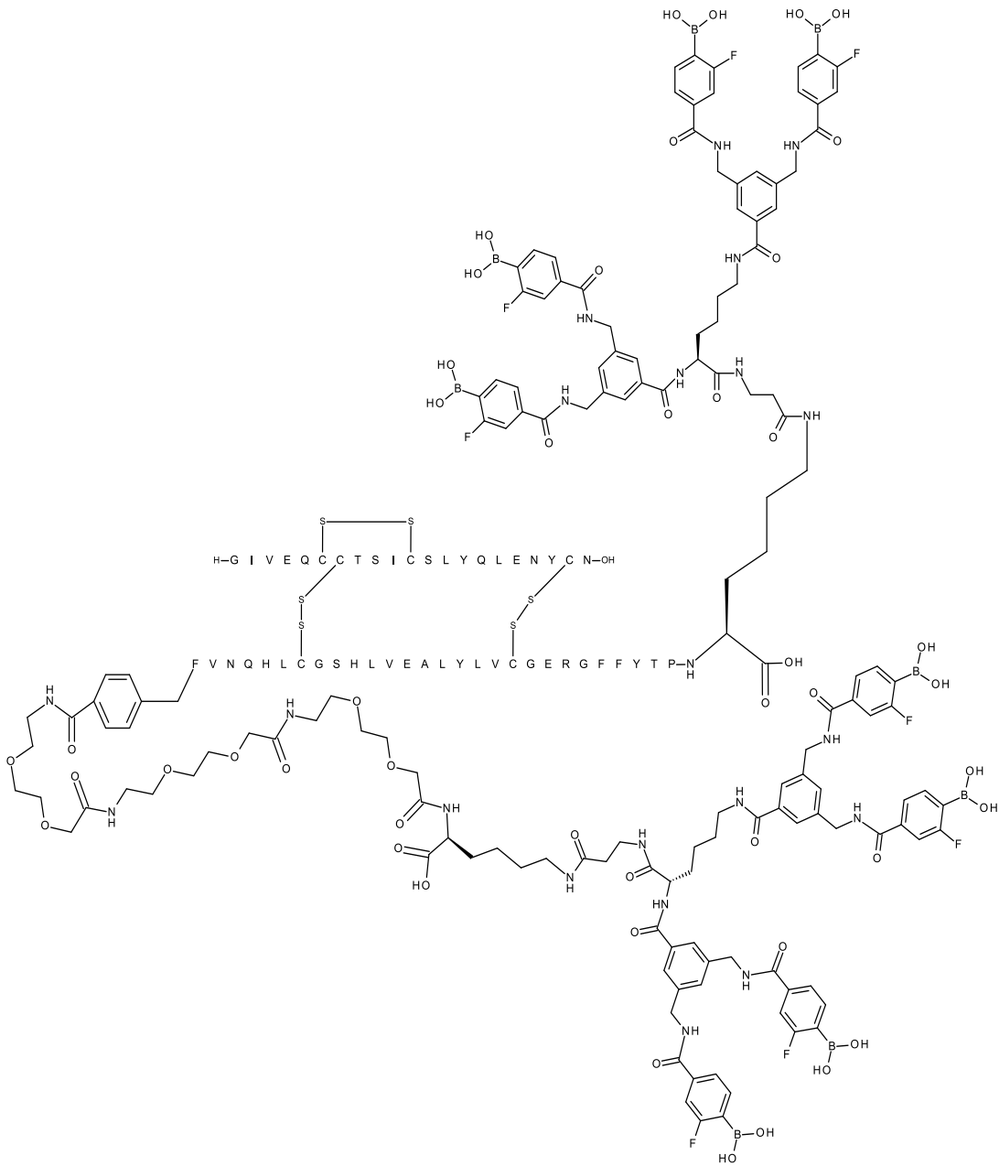
El derivado de insulina del Ejemplo 104 se preparó de manera similar al derivado de insulina del Ejemplo 103 a partir de insulina humana desB30 y un análogo del componente básico del Ejemplo 4 producido mediante el uso de 4-carboxibenzoboroxol, lisina y beta-alanina.

Ejemplo 105:



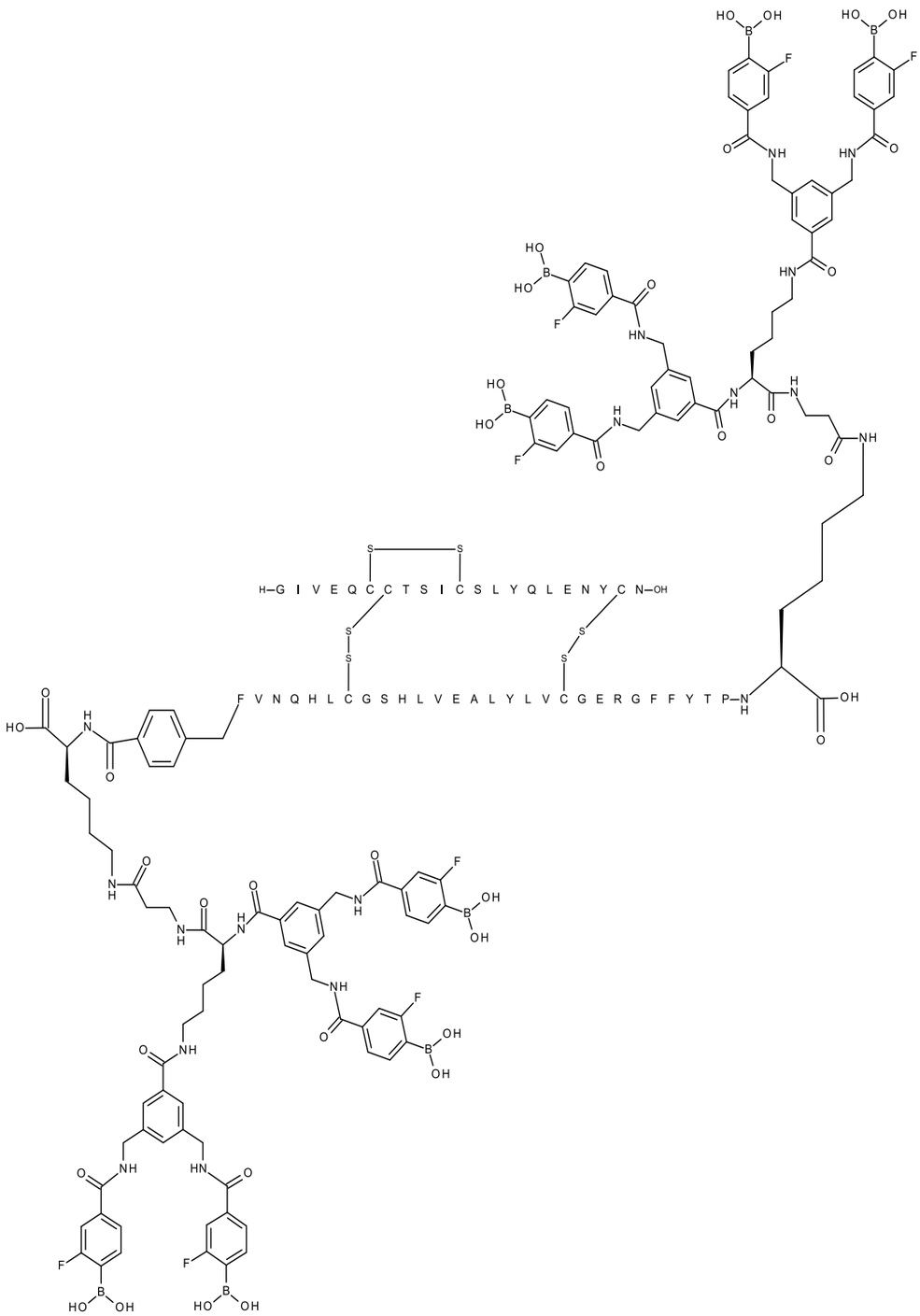
La insulina humana DesB30 (400 mg) se disolvió en AcOH 0,1 M (5 ml) y el pH se ajustó a 3,5 mediante el uso de NaOH 0,1 N. Una solución del enlazador aldehído del Ejemplo 6 (200 mg) se disolvió en DMF (0,5 ml) y se añadió. Después de agitar durante 30 minutos, se añadió picolina borano (44 mg) disuelta en NMP (0,5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a TA. Se añadió agua (20 ml) y el pH se ajustó a 1 mediante el uso de 01. M HCl y el producto se purificó por HPLC. Los grupos Boc en Lys en la extensión se eliminaron mediante el uso de TFA. El producto intermedio de insulina bis-Lys (33 mg) se disolvió en Na_2CO_3 0,2 M (0,400 ml) y el pH se ajustó a 10,5. El diboronato succinimidil éster del Ejemplo 2 (2,5 eq, 0,6 mg) se disolvió en acetonitrilo (340 µl) y se añadió a la mezcla. La reacción se agitó durante 10 min, el progreso de la reacción se monitorizó por LCMS y el producto se aisló por HPLC de manera similar al Ejemplo 101. LCMS de $[M + 4H - 4x \text{ agua}]^{4+}$ medida 1827,3, calculada 1827,3.

Ejemplo 106:



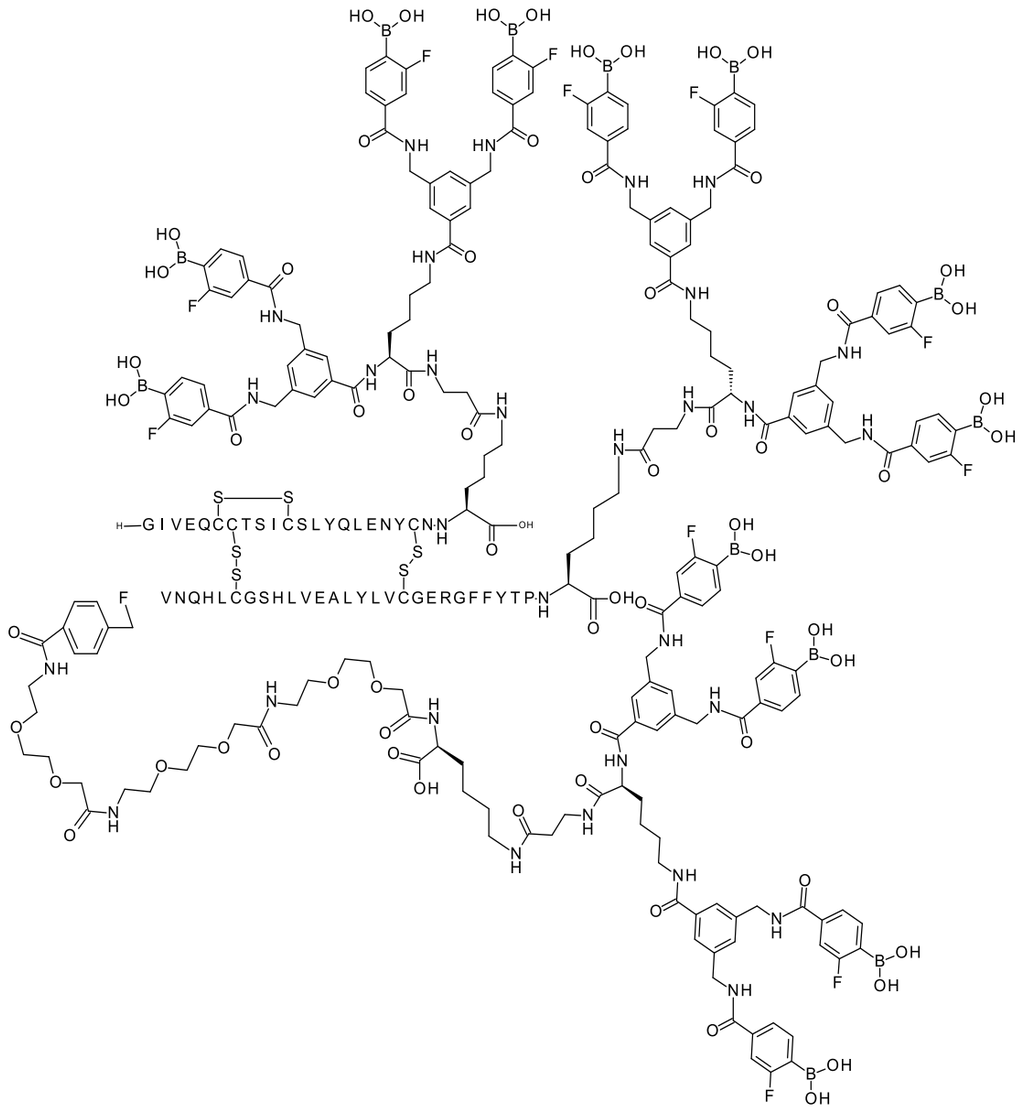
El Ejemplo 106 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 mediante el uso del componente básico del Ejemplo 7. LCMS medida 1724,3, calculada 1724,2.

Ejemplo 107:



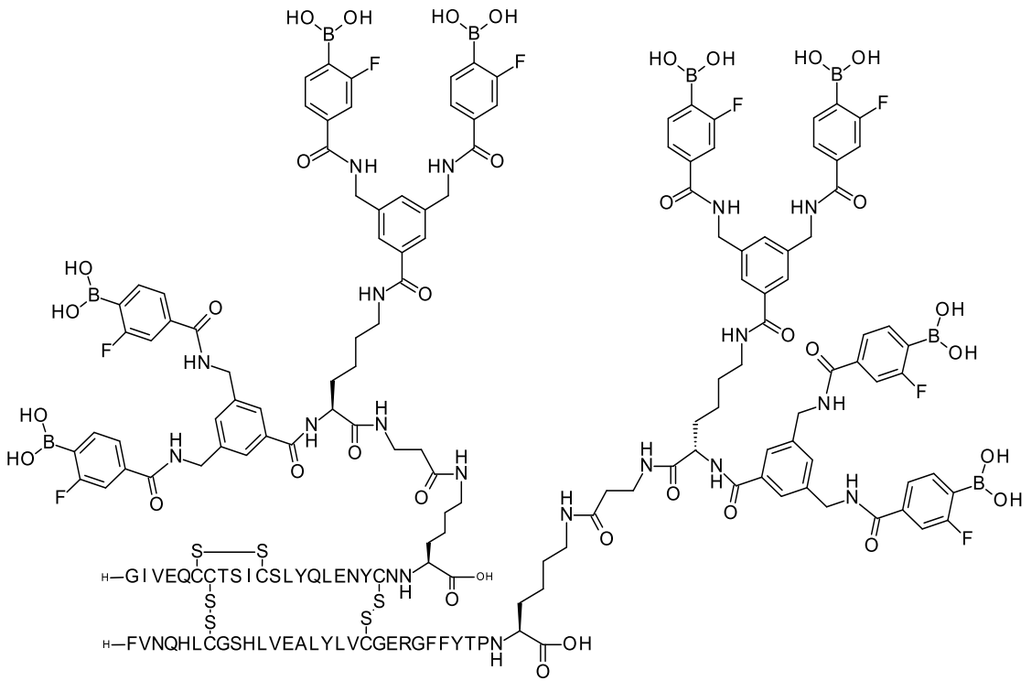
El Ejemplo 107 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 mediante el uso del componente básico del Ejemplo 7. LCMS medida 1640,8, calculada 1640,9.

Ejemplo 108:



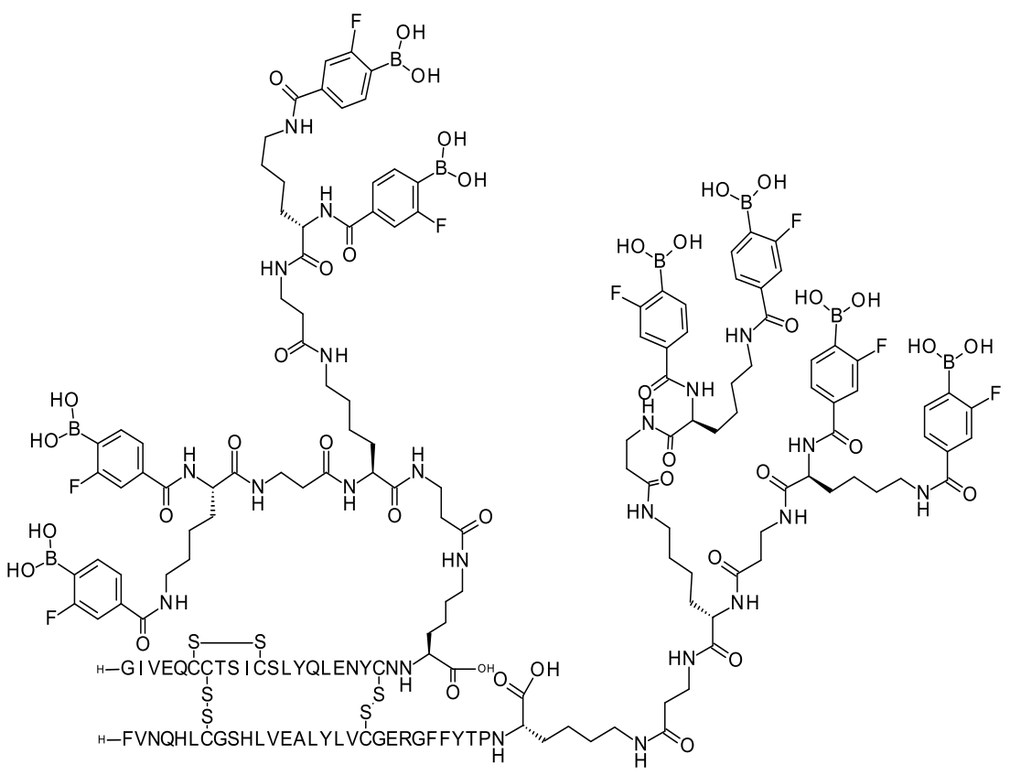
El Ejemplo 109 se preparó de manera similar al Ejemplo 107 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 7. LCMS medida 1987,5, calculada 1987,5.

Ejemplo 109:



La insulina humana A22K desB30 (500 mg, 0,086 mmol) se disolvió en amortiguador de carbonato de sodio 0,2 M (6 ml), pH 10,8. El componente básico del Ejemplo 7 (307 mg, 0,189 mmol) se disolvió en MeCN (6 ml). La LCMS después de 10 minutos mostró el producto esperado que se purificó por HPLC.

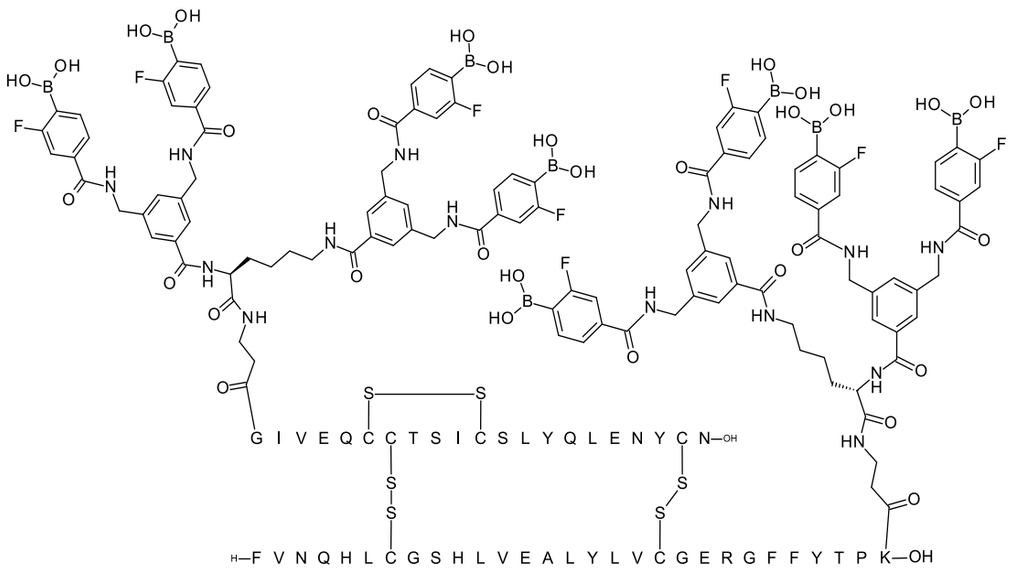
Ejemplo 110:



La insulina humana A22K desB30 (435 mg, 0,075 mmol) se disolvió en amortiguador de carbonato de sodio 0,2 M (10 ml), pH 10,8. El componente básico del Ejemplo 8 (279 mg, 0,164 mmol) activado como succinimidil éster (mediante el uso de TSTU/DIEA en MeCN)

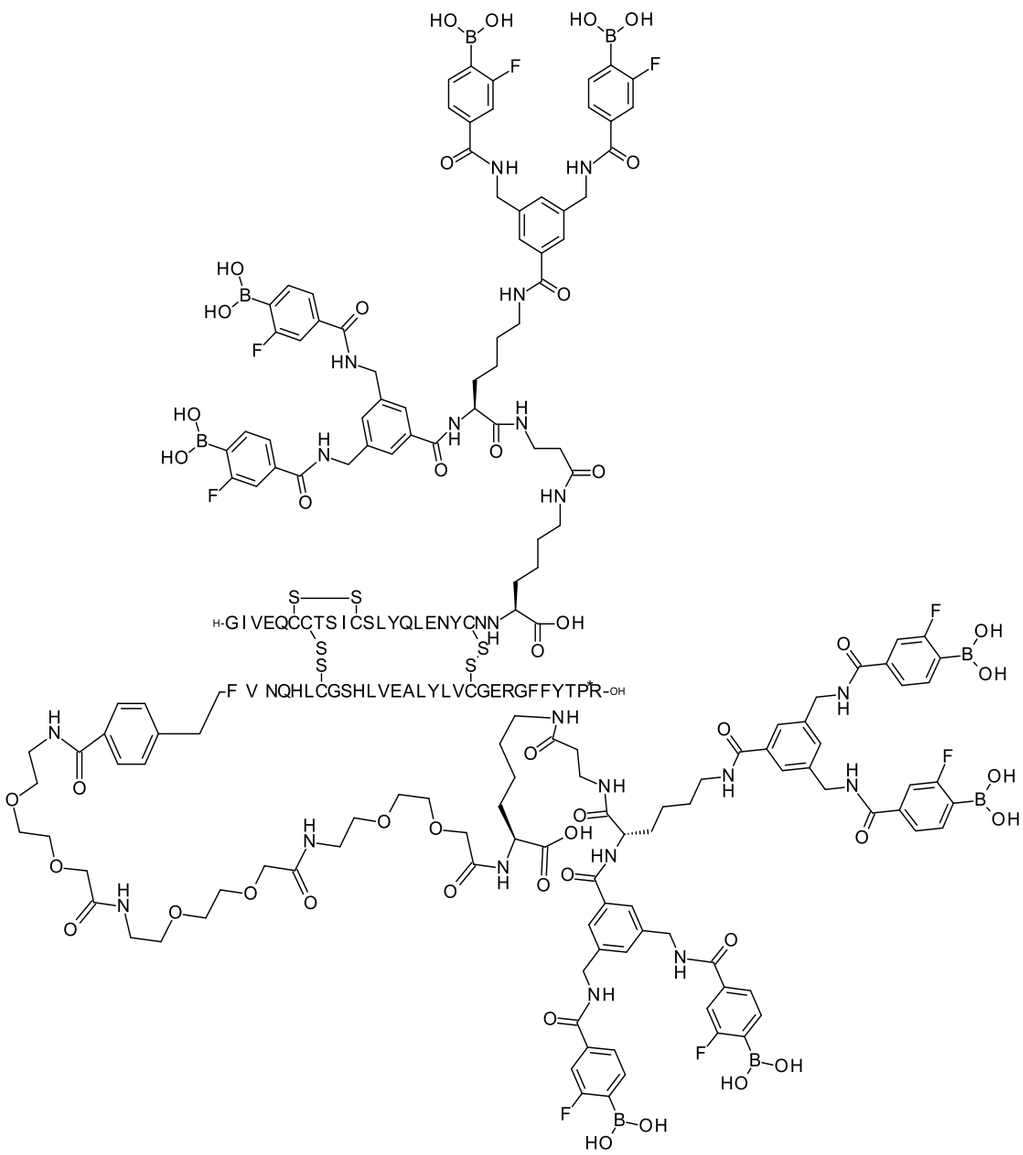
se disolvió en MeCN (6 ml). La LCMS después de 10 minutos mostró el producto esperado que se purificó por HPLC. LCMS de [M + 5H - 8x agua]$^{5+}$ medida 1643,7, calculada 1643,7.

Ejemplo 111:



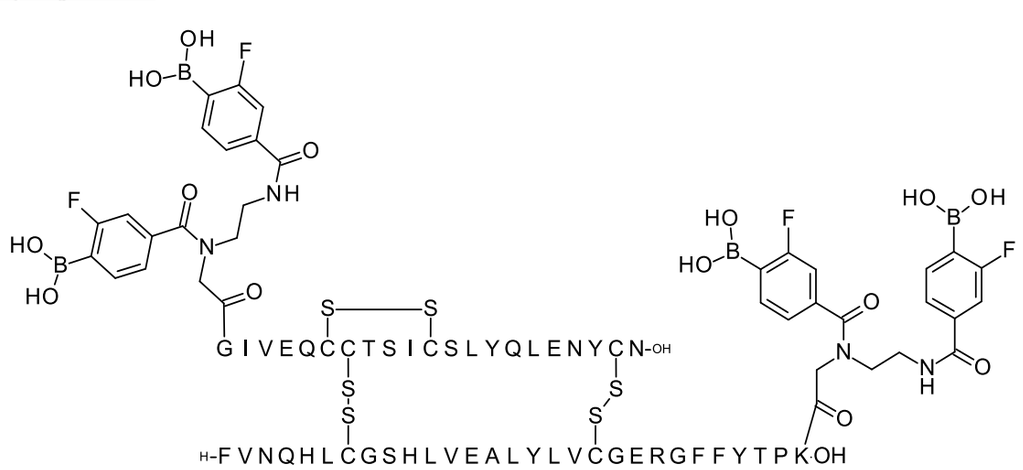
El Ejemplo 111 se preparó de manera similar al Ejemplo 103 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 7.

Ejemplo 112:



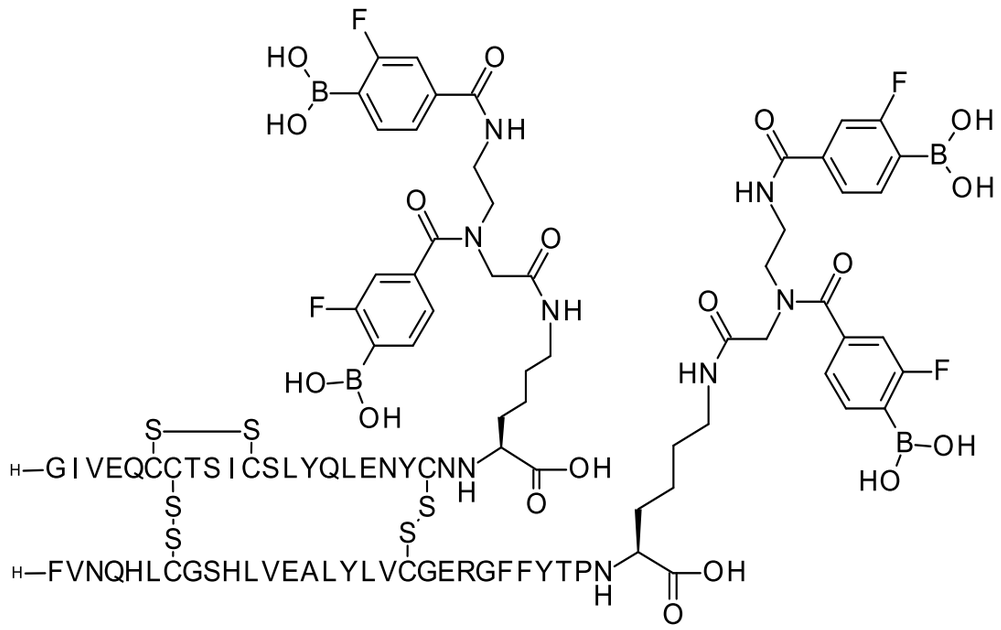
El Ejemplo 112 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K B29R desB30 y el componente básico del Ejemplo 7.

Ejemplo 113:



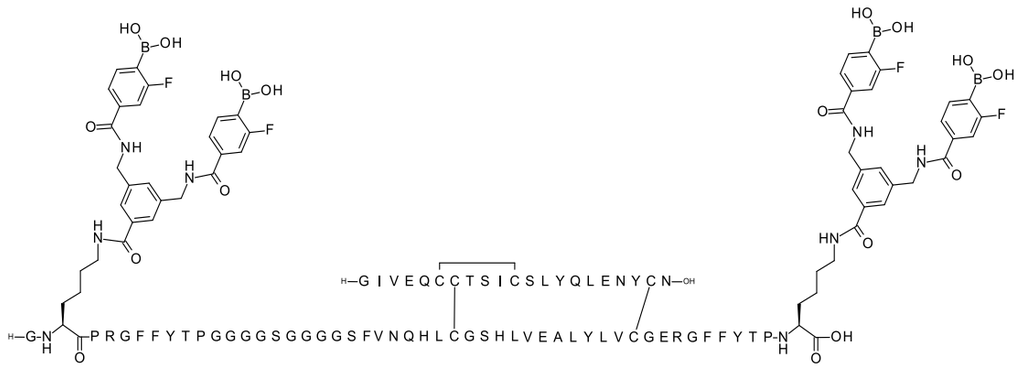
El Ejemplo 113 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 114:



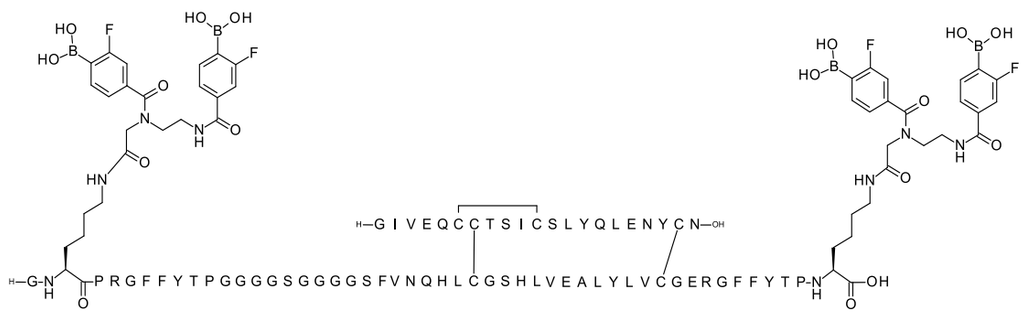
El Ejemplo 114 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 115:



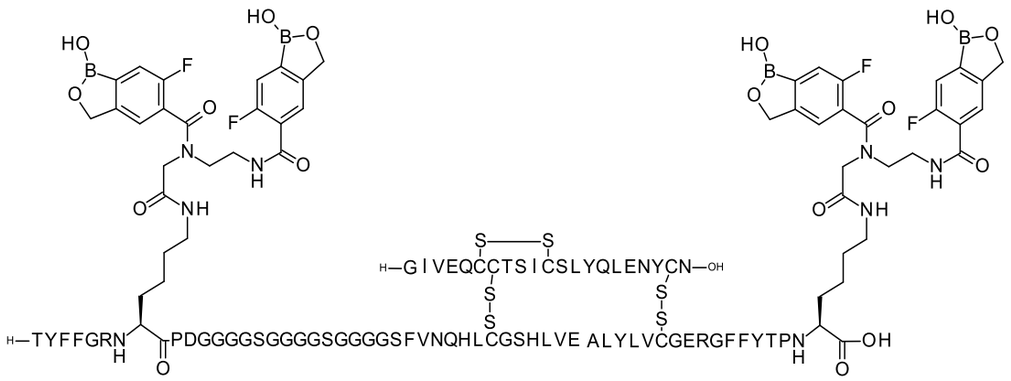
El Ejemplo 115 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 3.

Ejemplo 116:



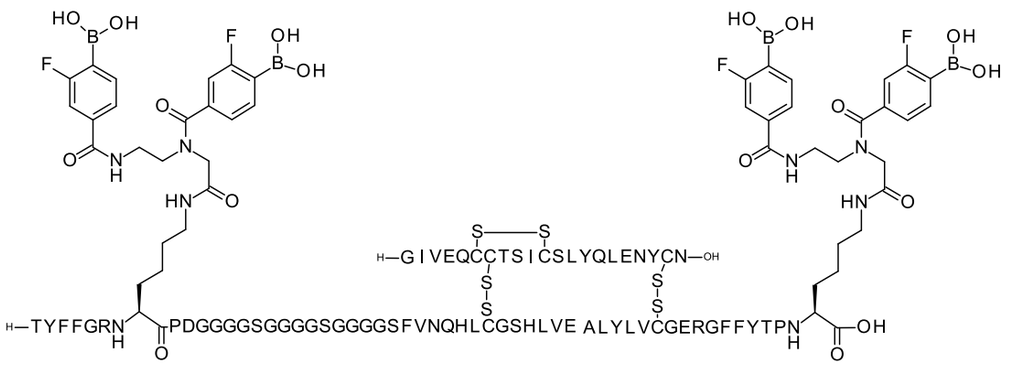
El Ejemplo 116 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 117:



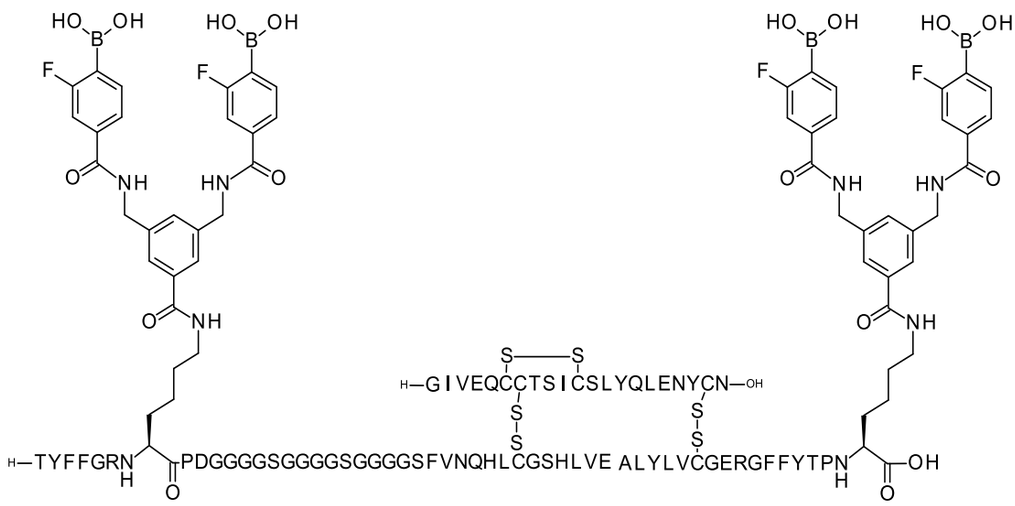
El Ejemplo 117 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 10.

Ejemplo 118:



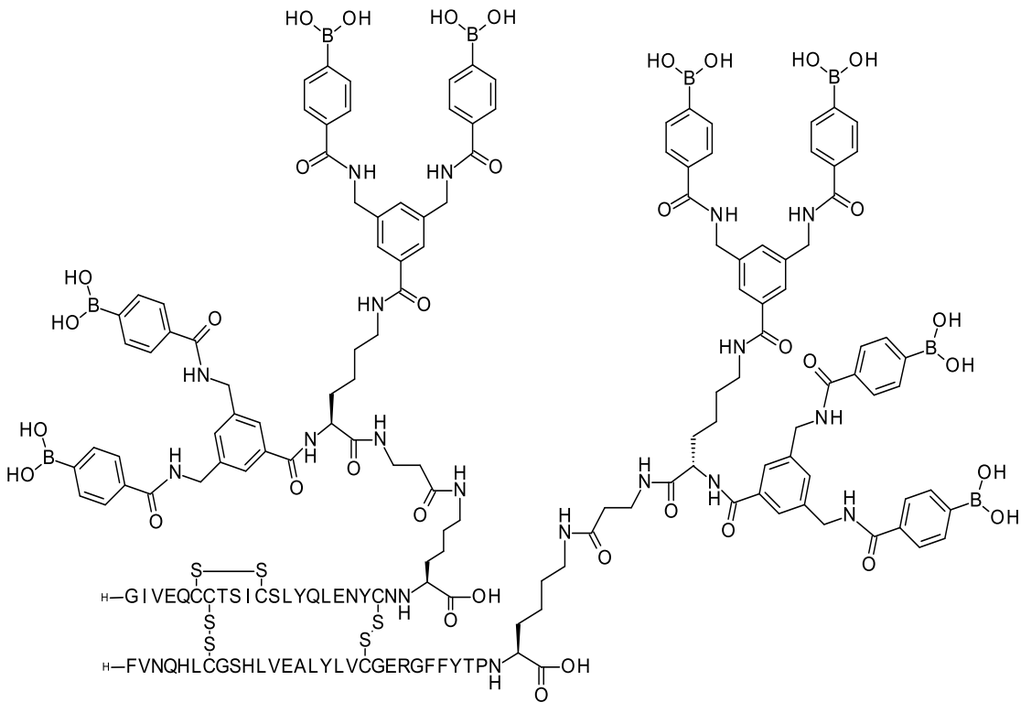
El Ejemplo 118 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 119:



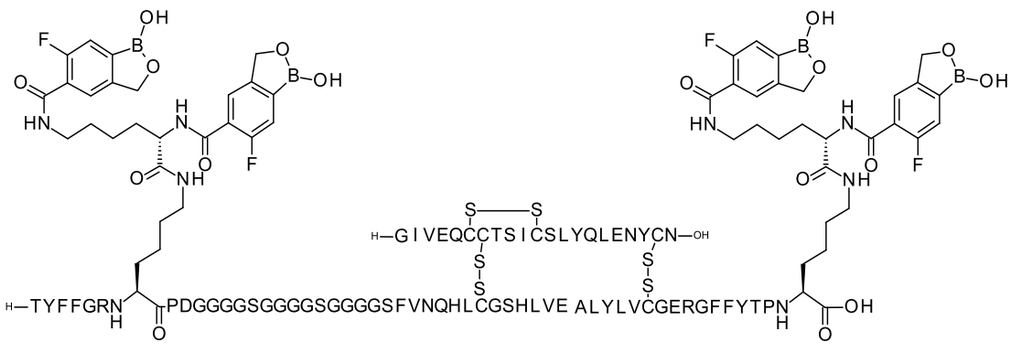
El Ejemplo 119 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 2.

Ejemplo 120:



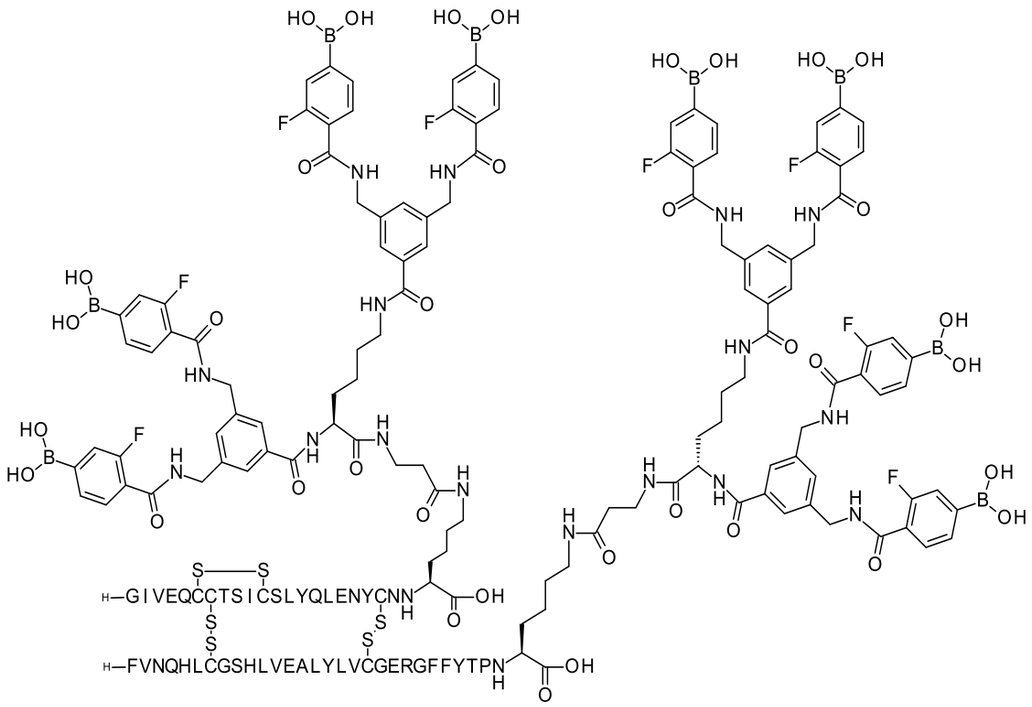
El Ejemplo 120 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 11.

Ejemplo 121:



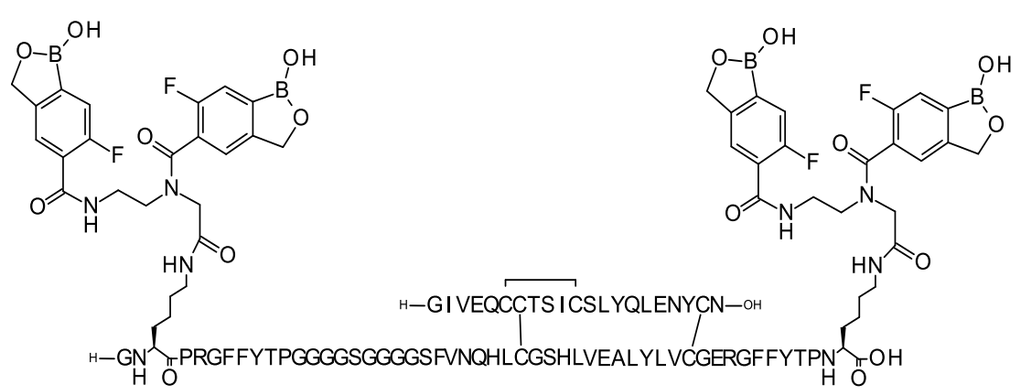
El Ejemplo 121 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 10.

Ejemplo 122:



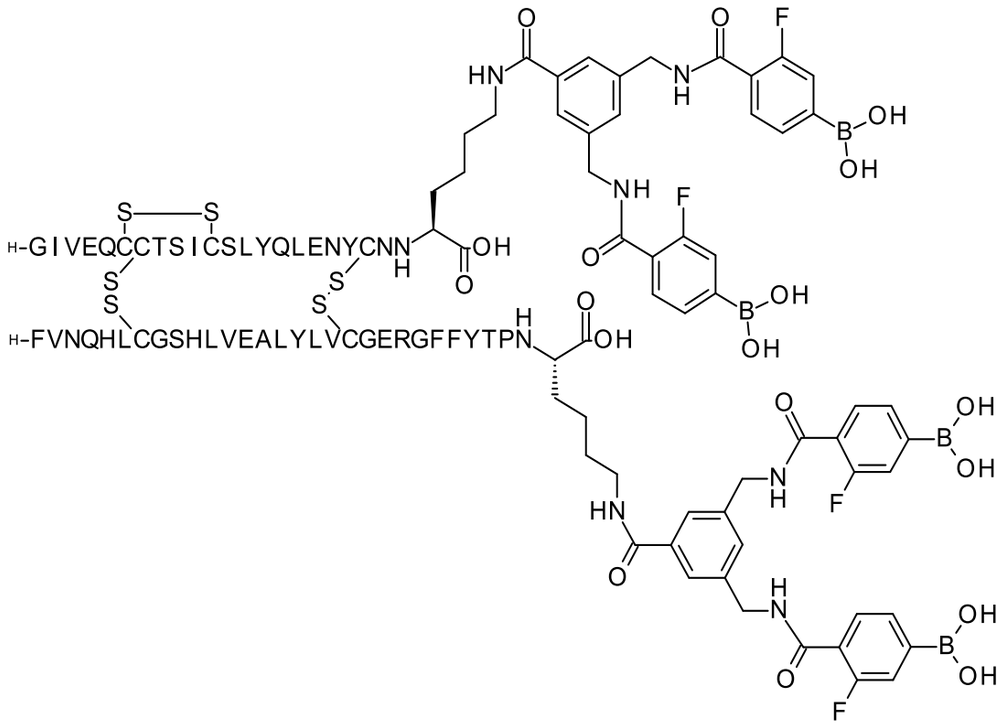
El Ejemplo 122 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 12.

Ejemplo 123:



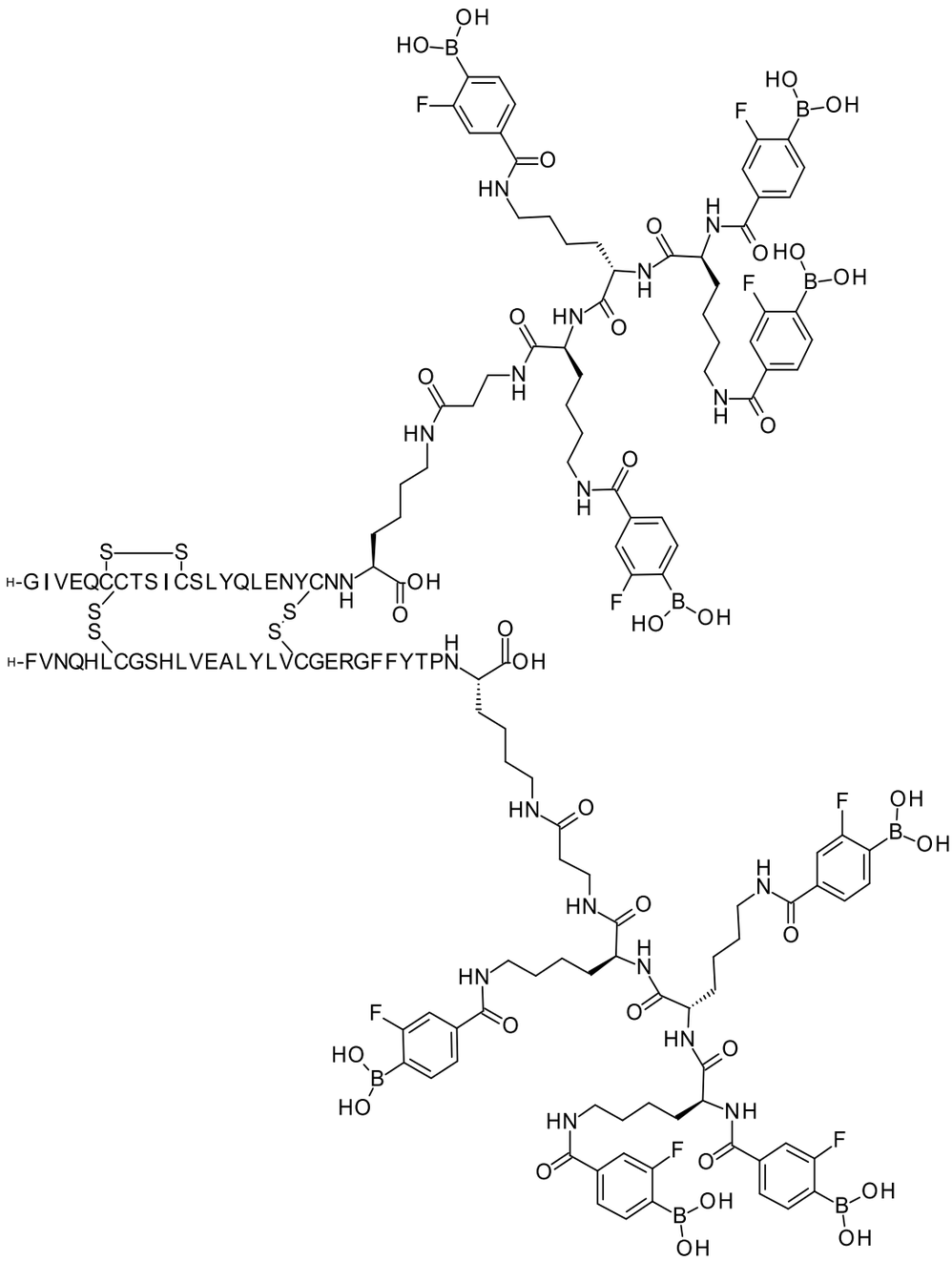
El Ejemplo 123 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPRGFFYTPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 10.

Ejemplo 124:



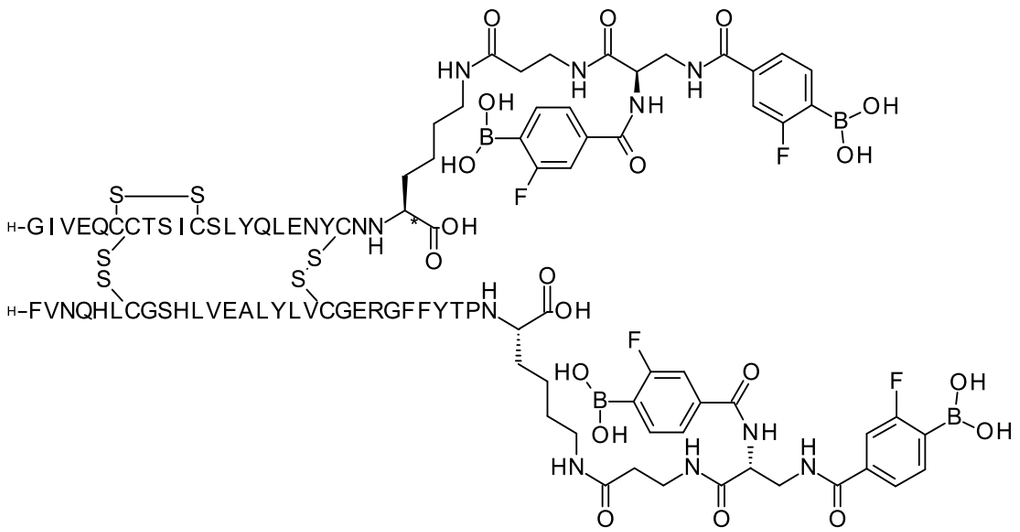
El Ejemplo 124 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 13.

Ejemplo 125:



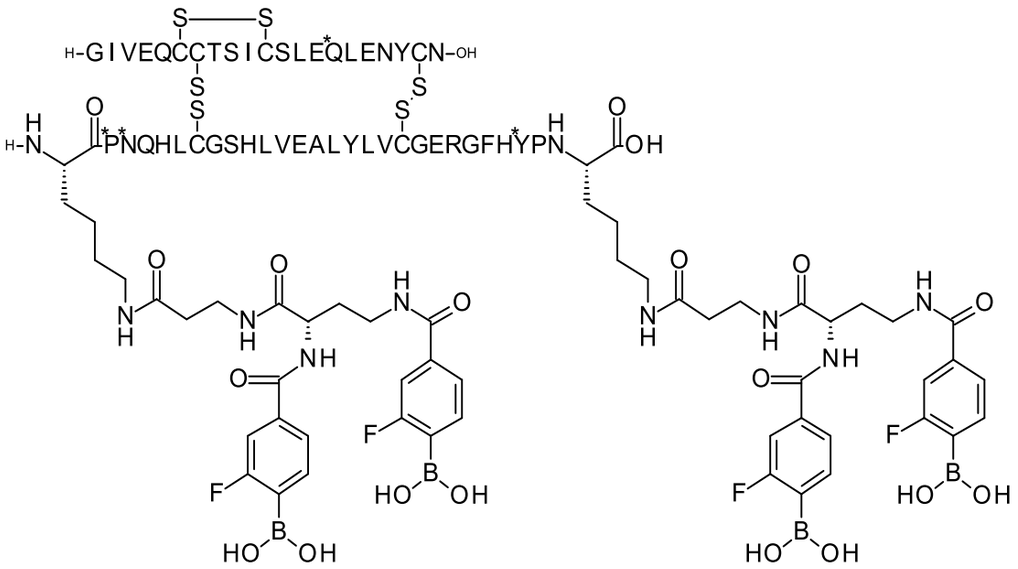
El Ejemplo 125 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 14.

Ejemplo 126:



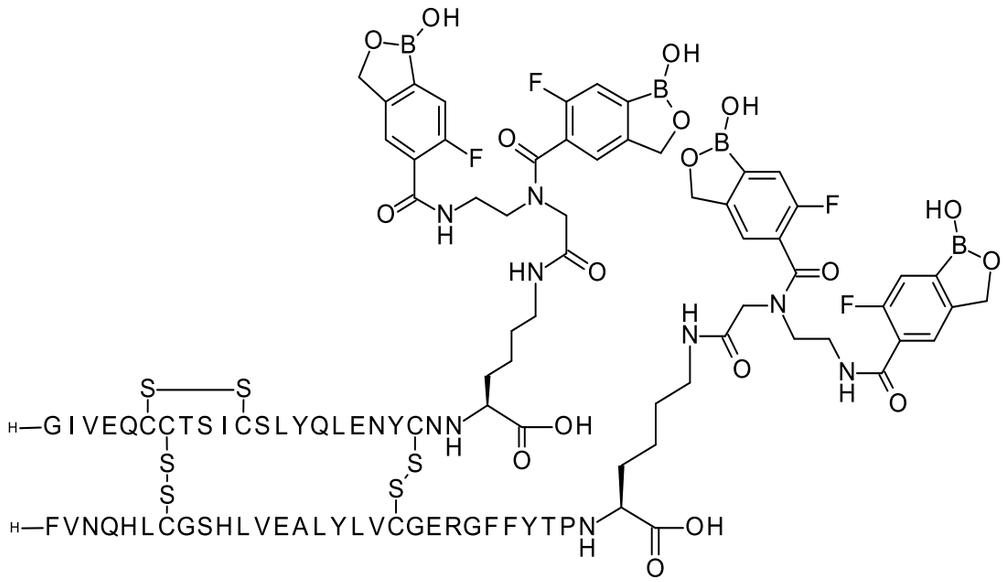
El Ejemplo 126 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 15.

Ejemplo 127:



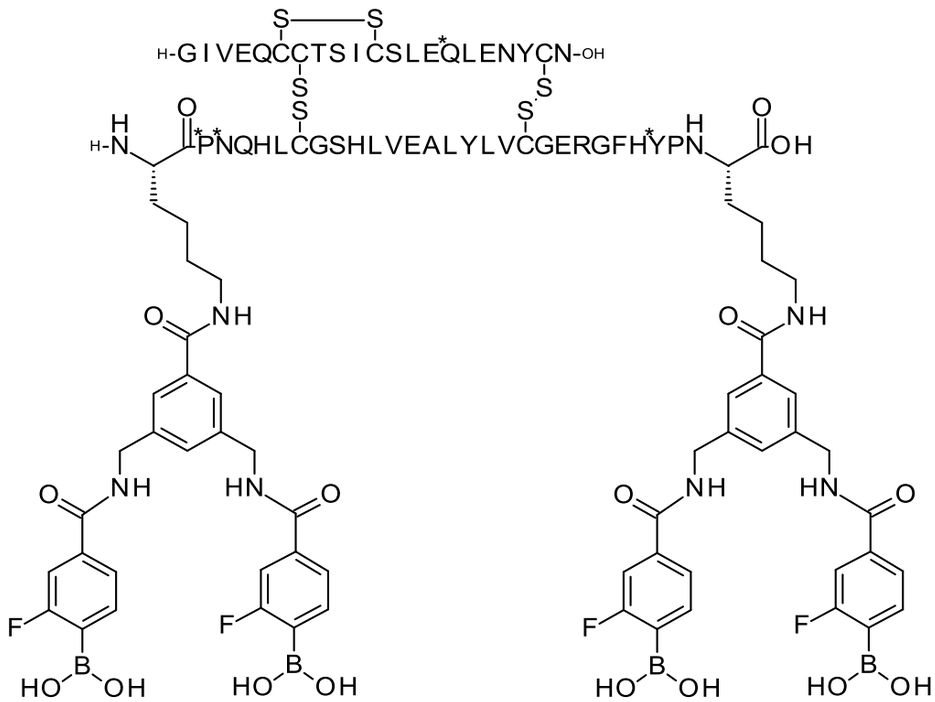
El Ejemplo 127 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 primero por acilación de la insulina con ácido gamma-aminobutírico, seguido del componente básico del Ejemplo 15.

Ejemplo 128:



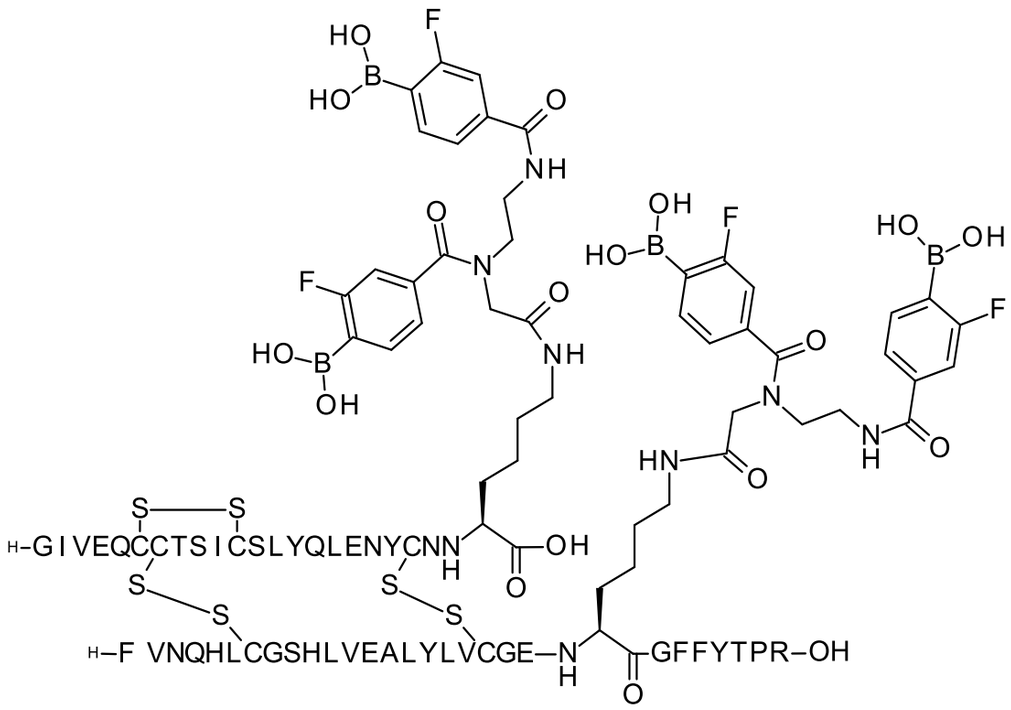
El Ejemplo 128 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 15.

Ejemplo 129:



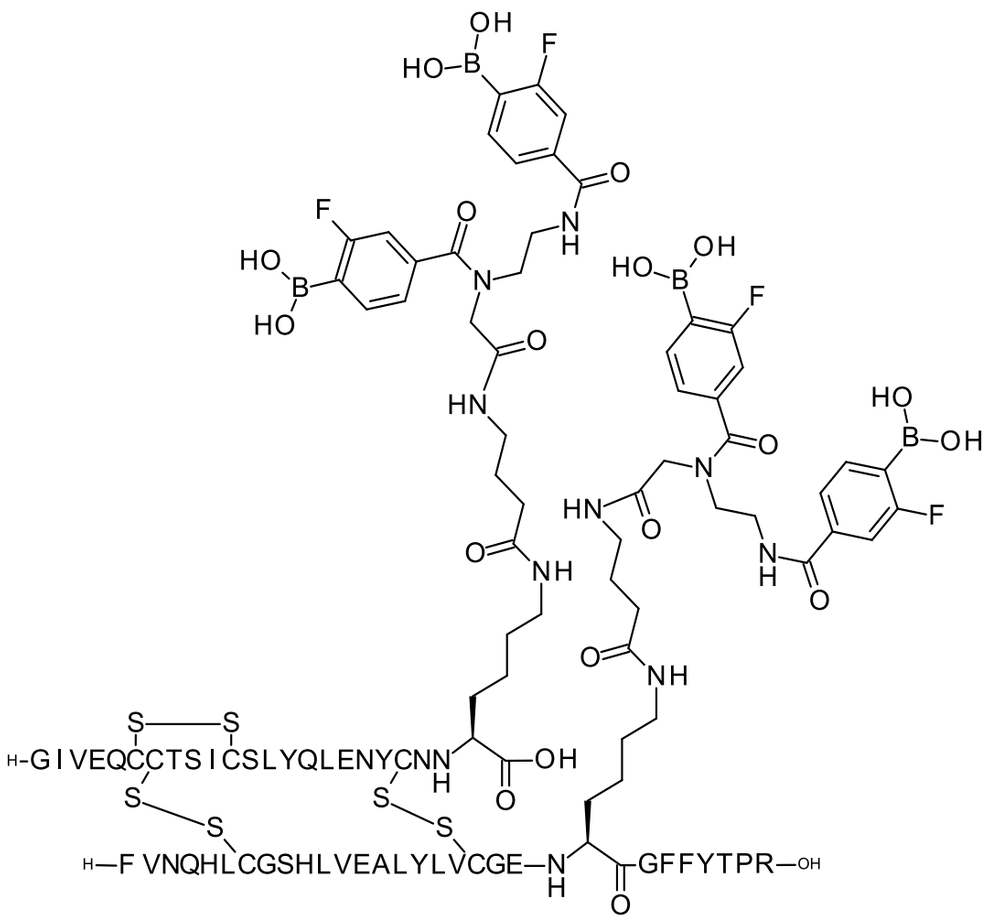
El Ejemplo 129 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 3.

Ejemplo 130:



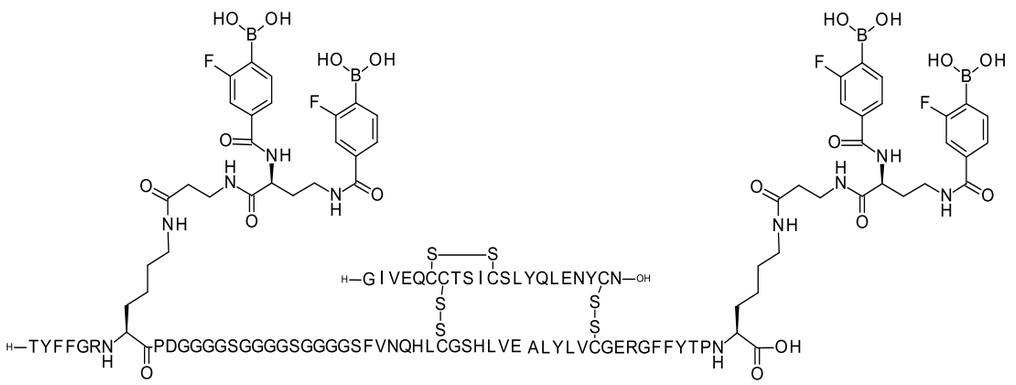
El Ejemplo 130 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K B22K B29R desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 131:



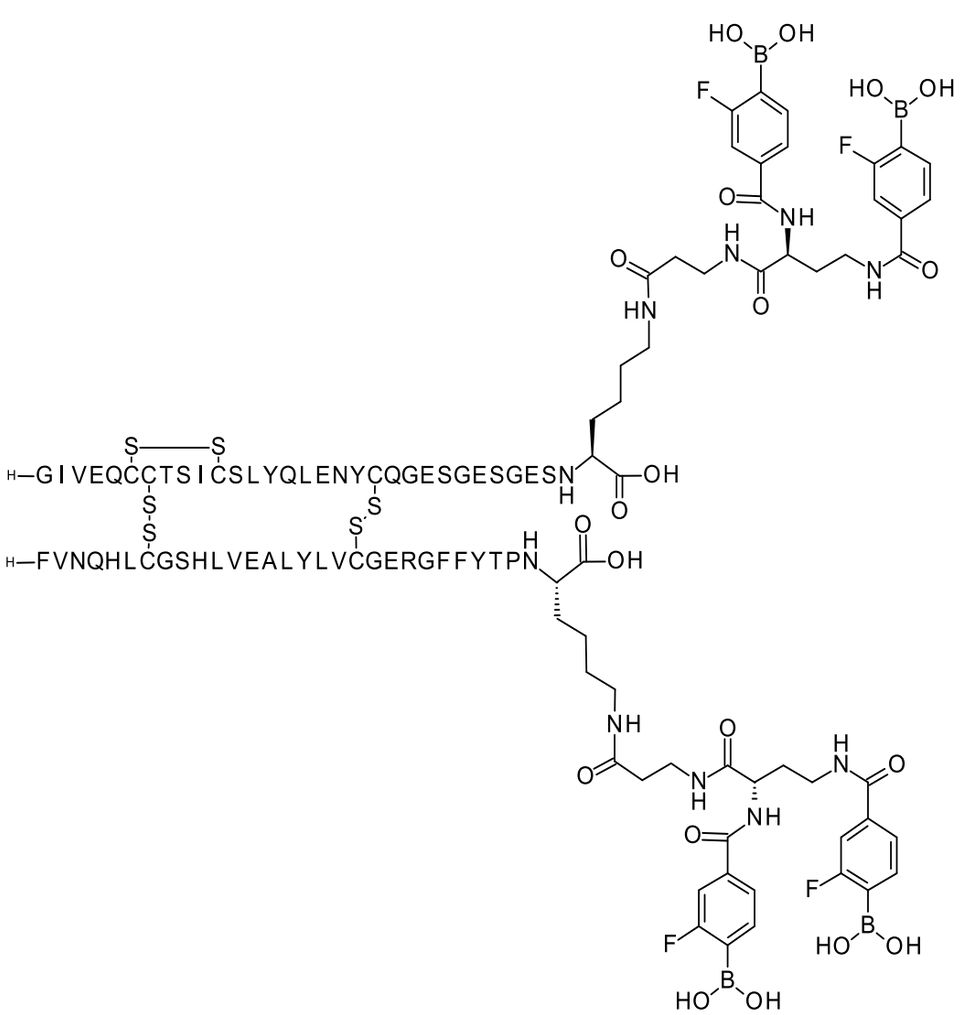
El Ejemplo 131 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K B22K B29R desB30 primero por acilación de la insulina con ácido gamma-aminobutírico, seguido por el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 132:



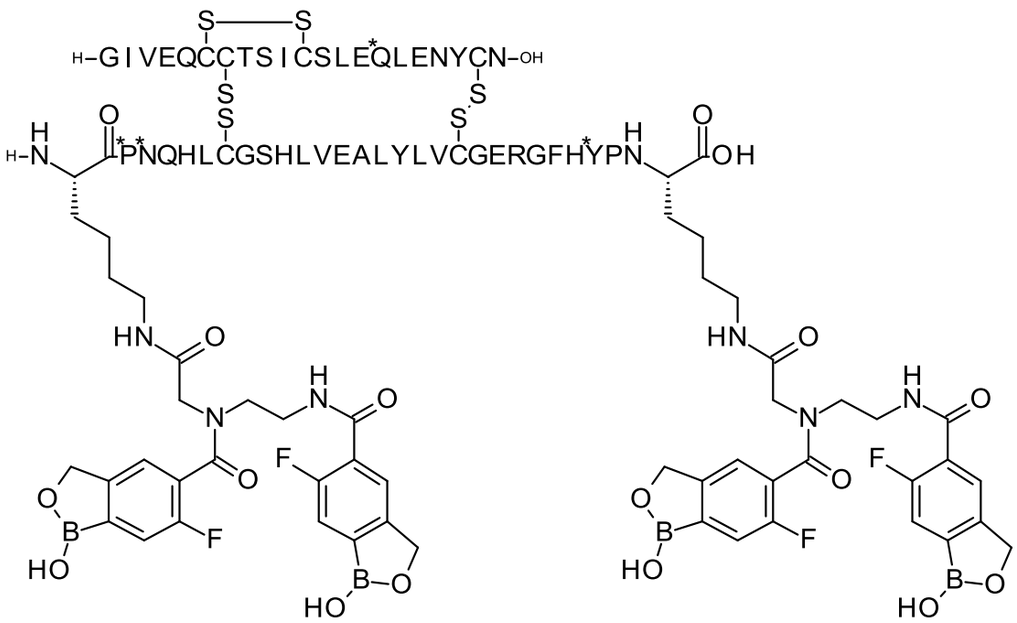
El Ejemplo 132 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 primero por acilación de la insulina con ácido gamma-aminobutírico, seguido del componente básico del Ejemplo 15.

Ejemplo 133:



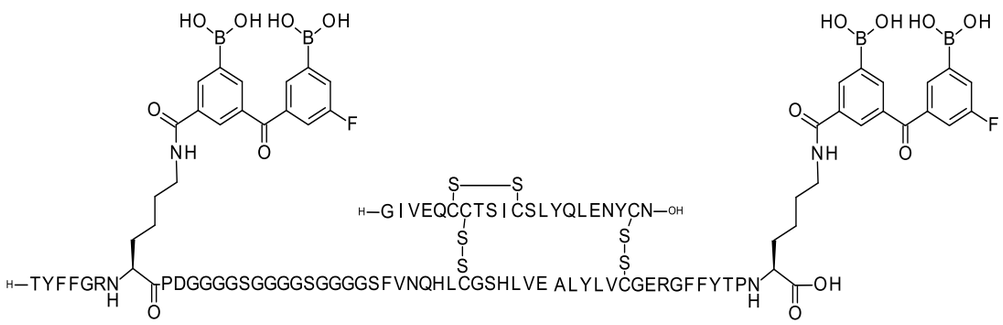
El Ejemplo 133 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 15.

Ejemplo 134:



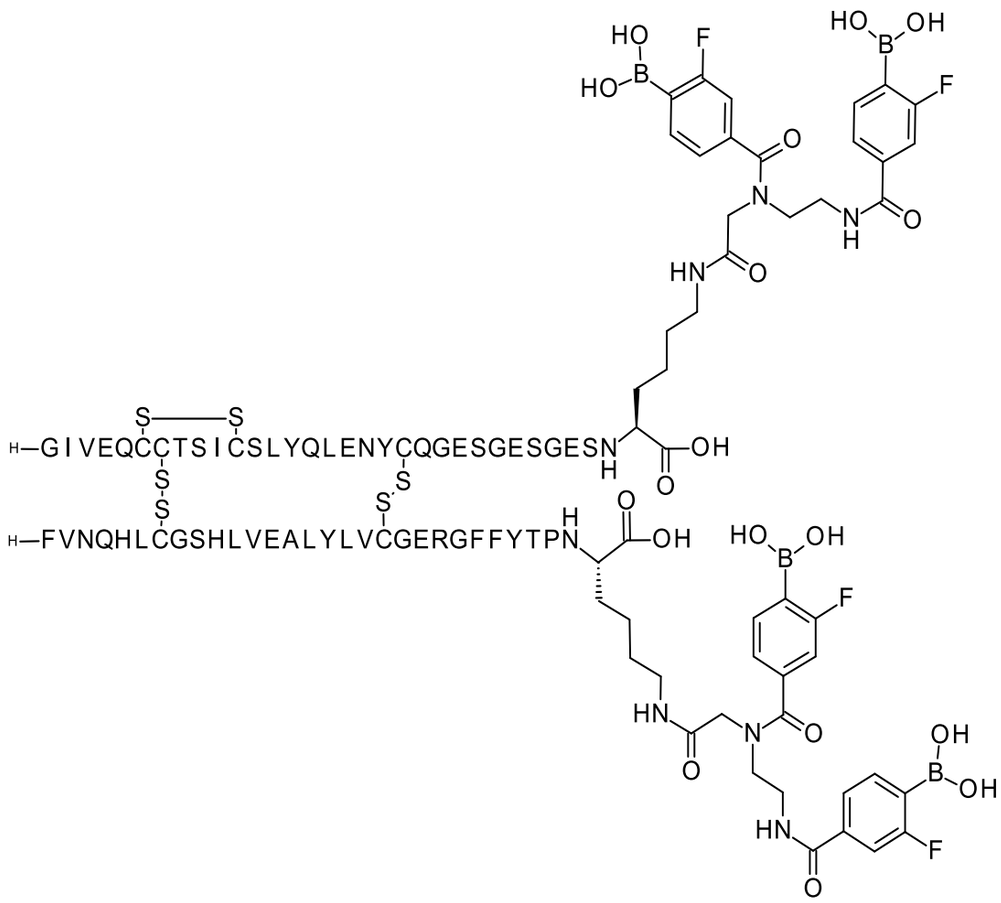
El Ejemplo 134 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 10.

Ejemplo 135:



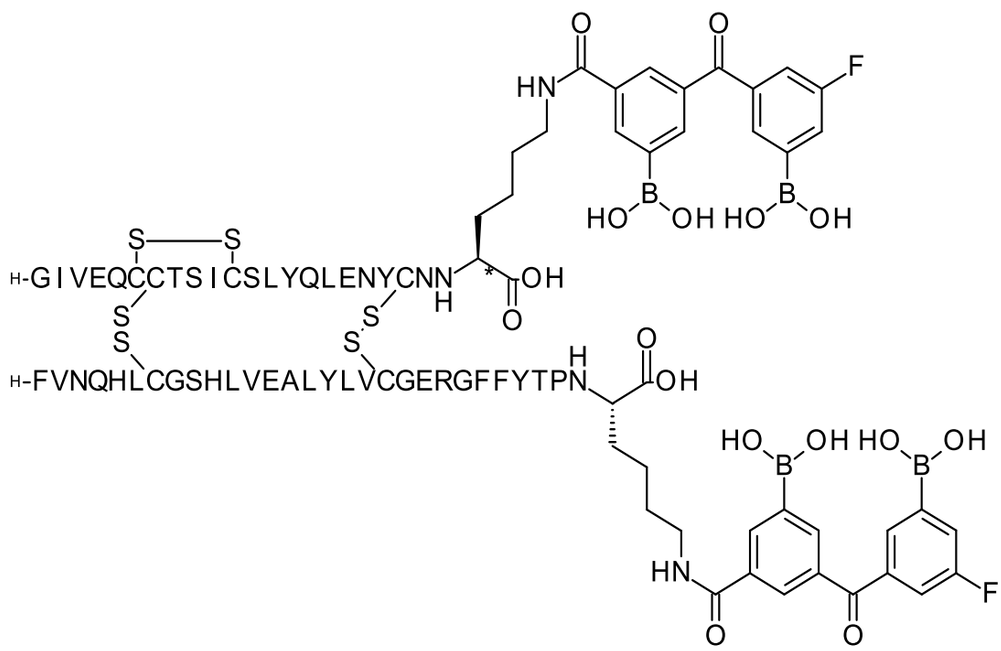
El Ejemplo 135 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 136:



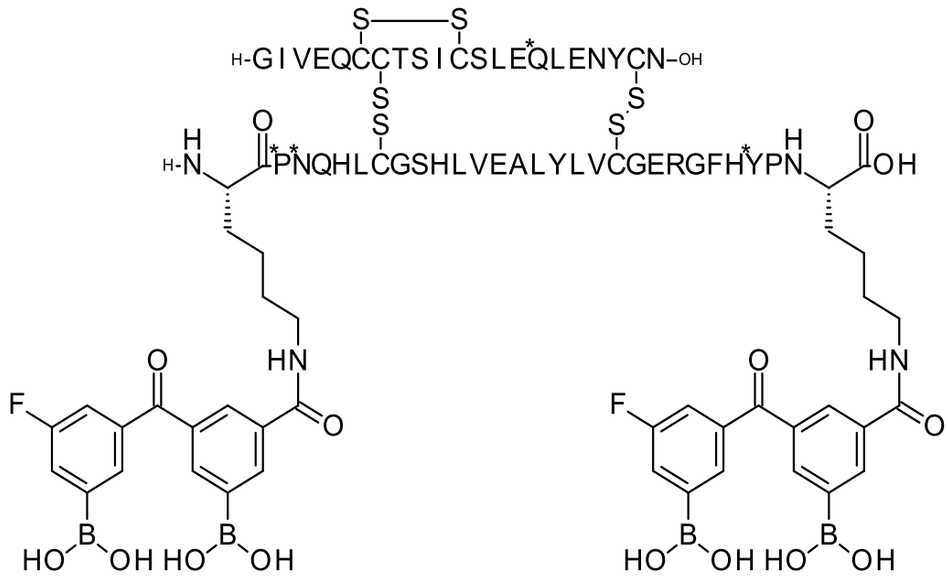
El Ejemplo 136 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 137:



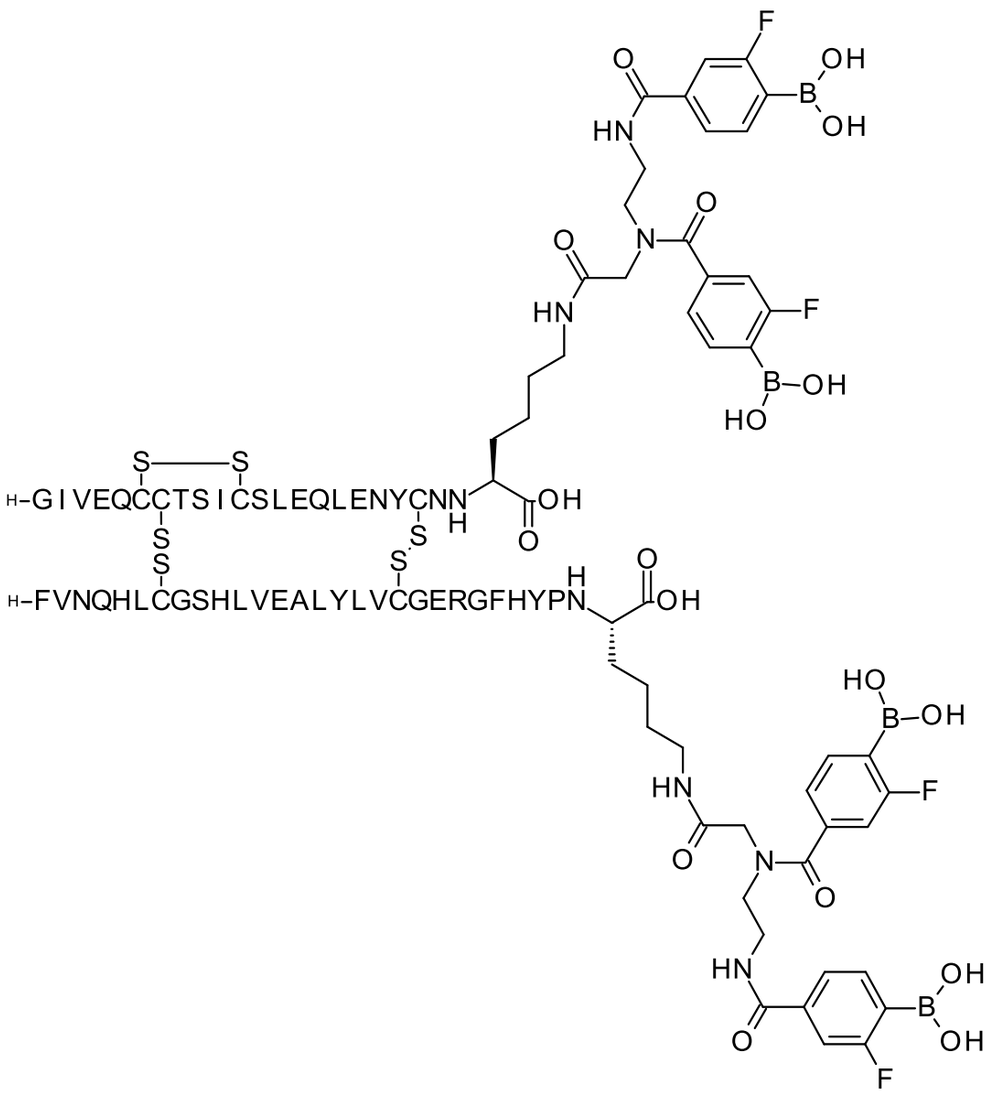
El Ejemplo 137 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 138:



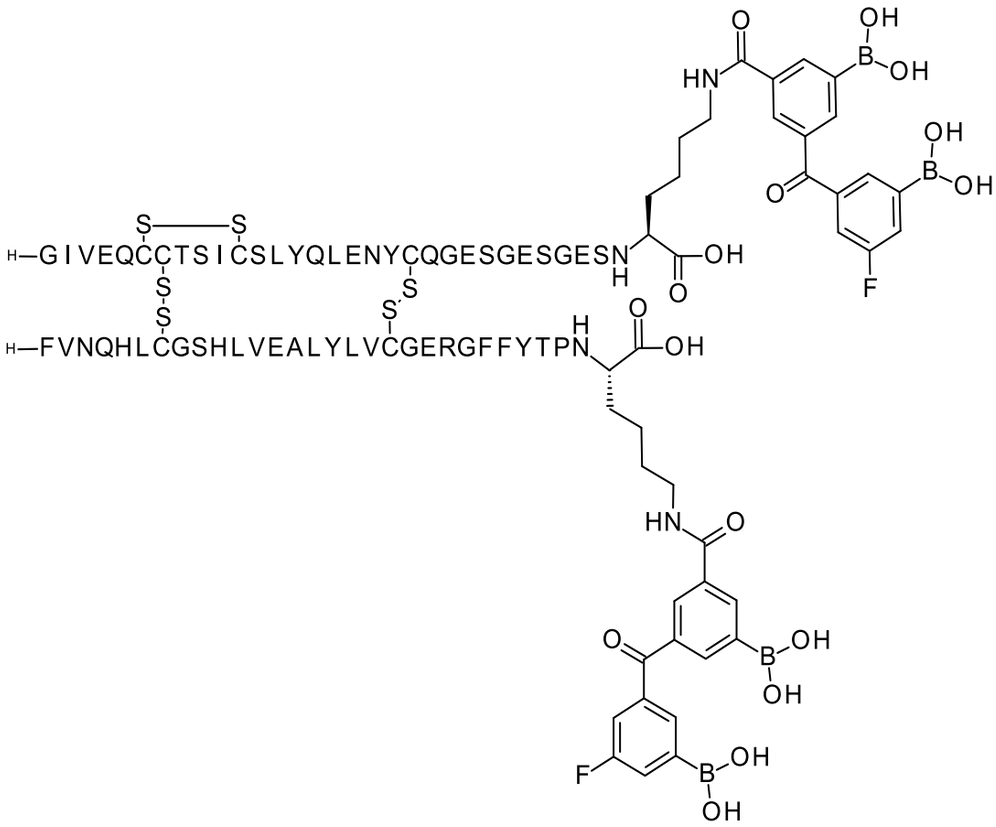
El Ejemplo 138 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 139:



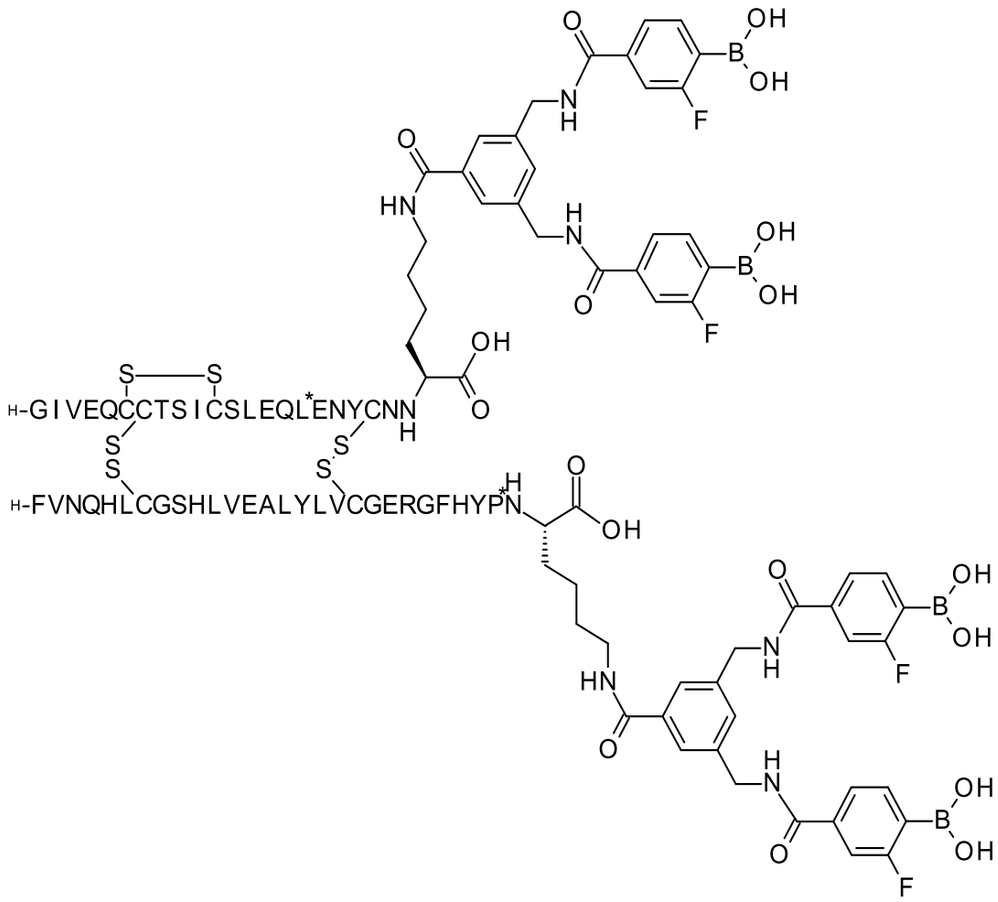
El Ejemplo 139 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 140:



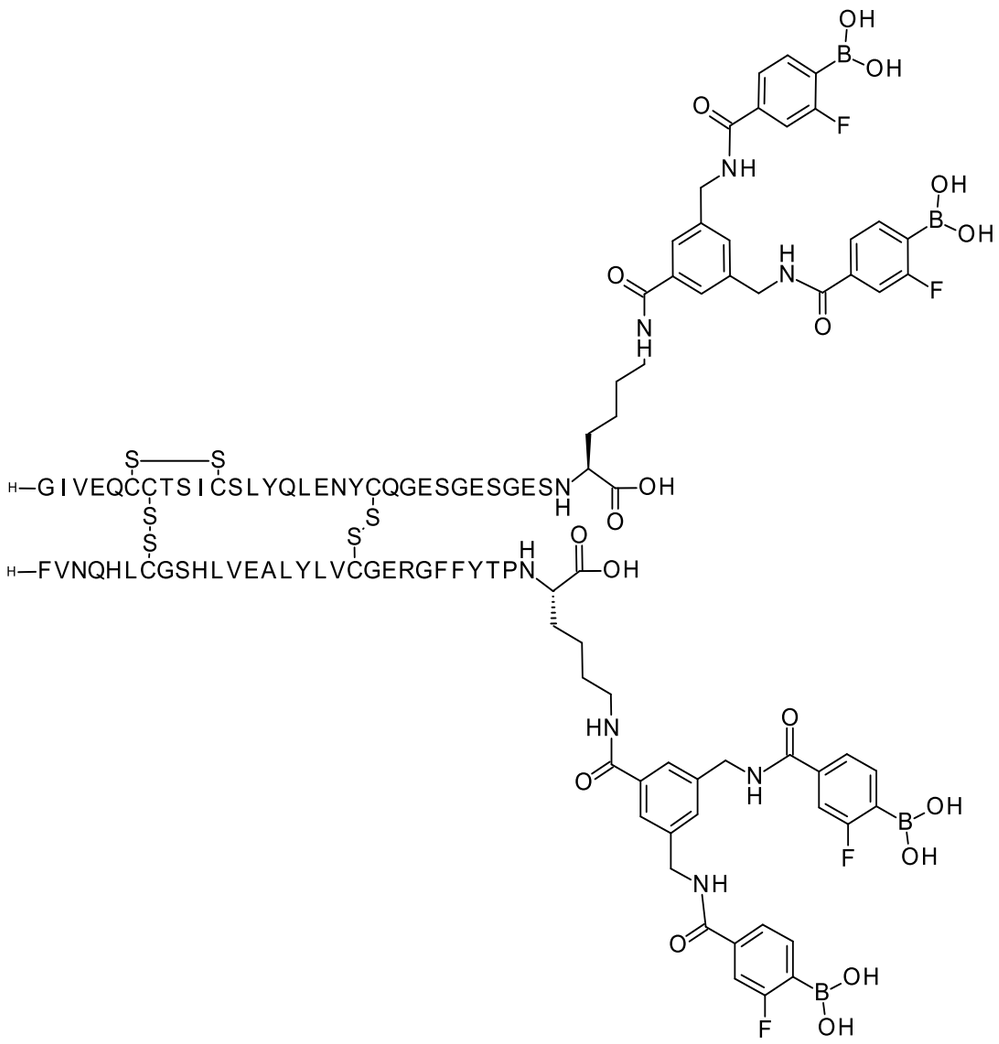
El Ejemplo 140 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 141:



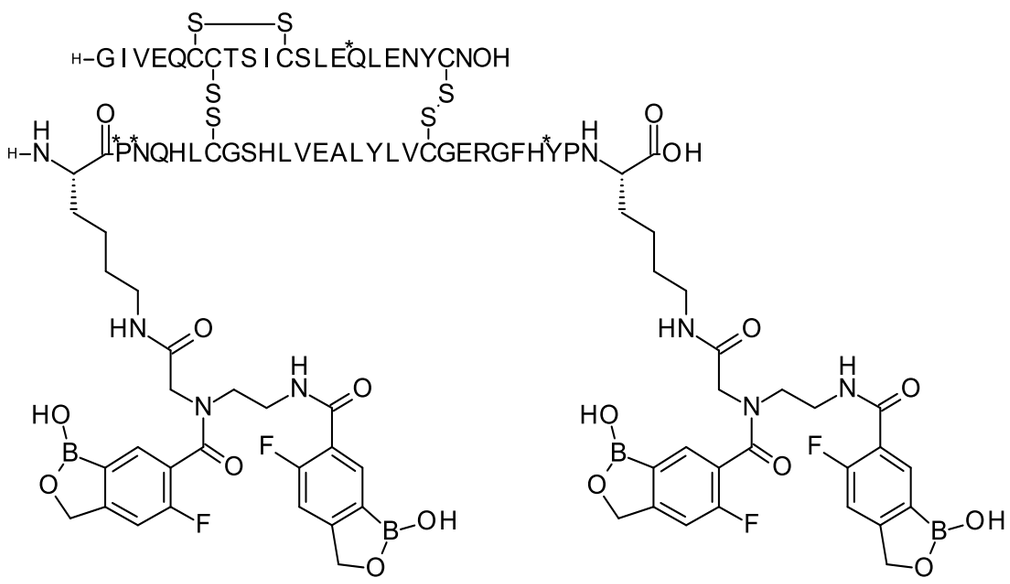
El Ejemplo 141 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 2.

Ejemplo 142:



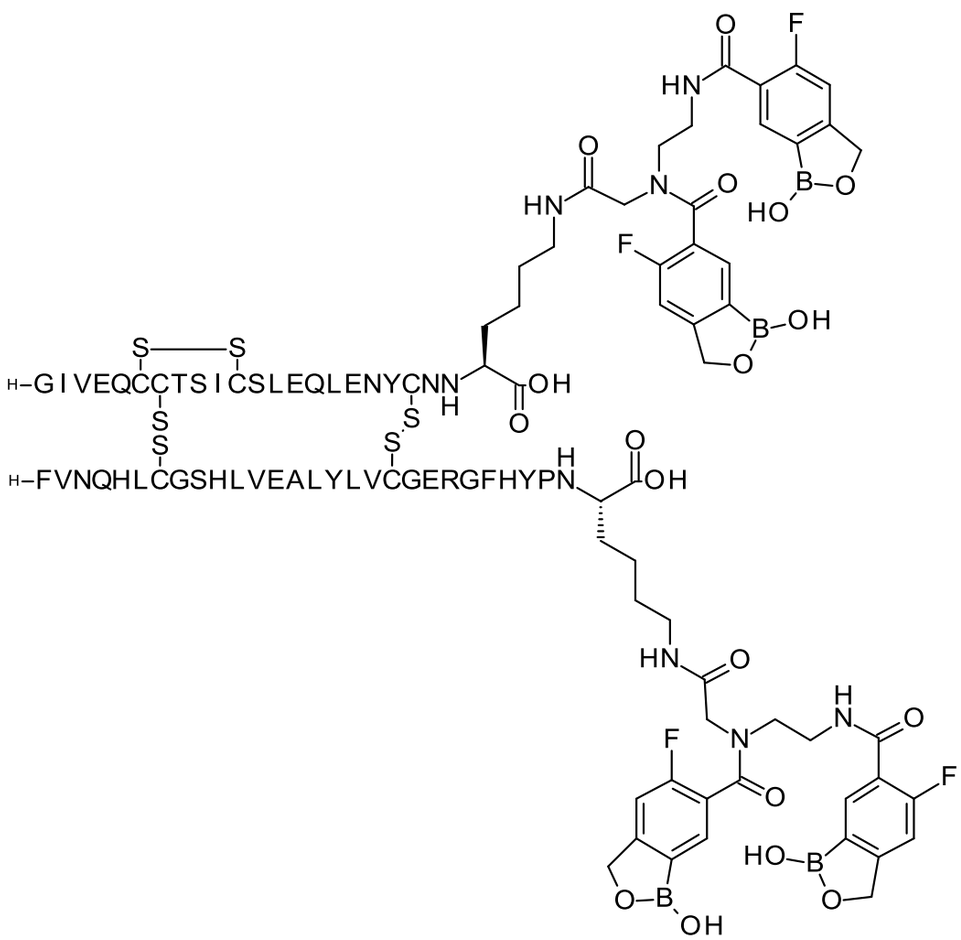
El Ejemplo 142 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 2.

Ejemplo 143:



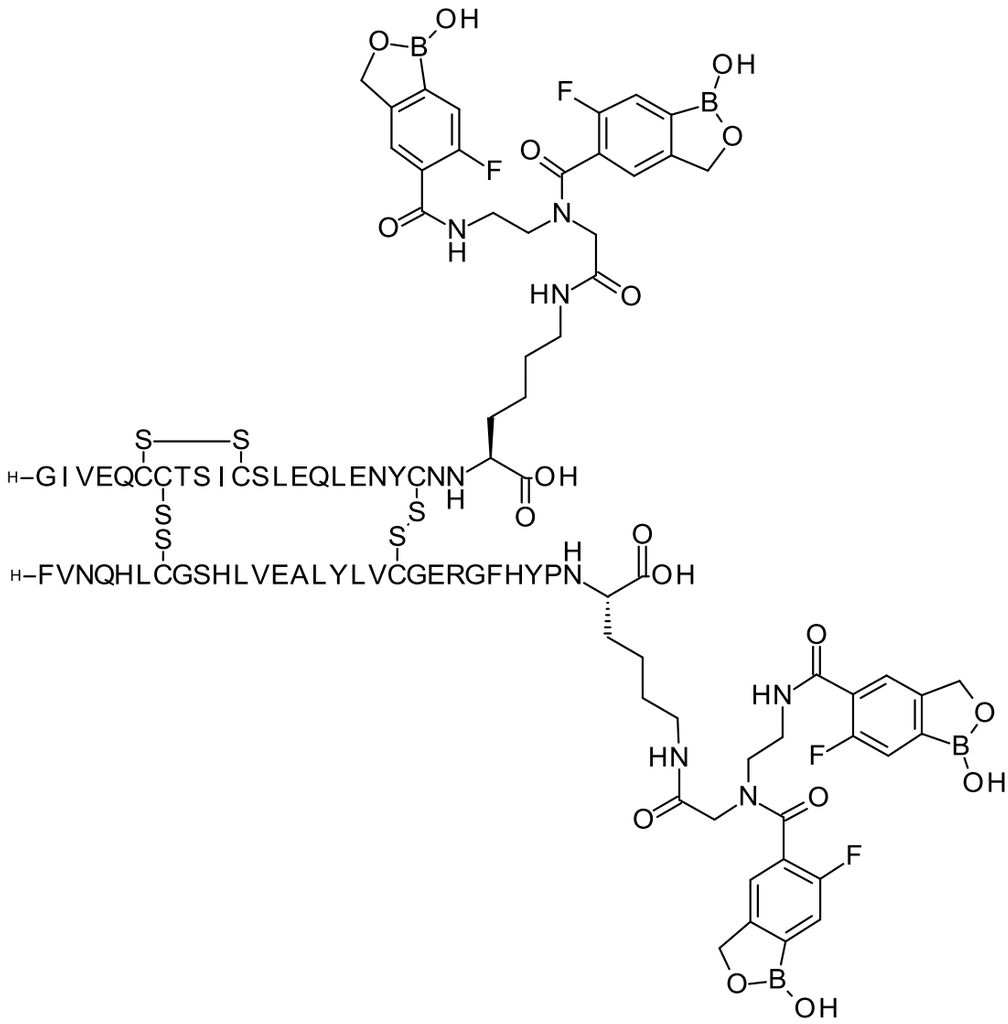
El Ejemplo 143 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 10.

Ejemplo 144:



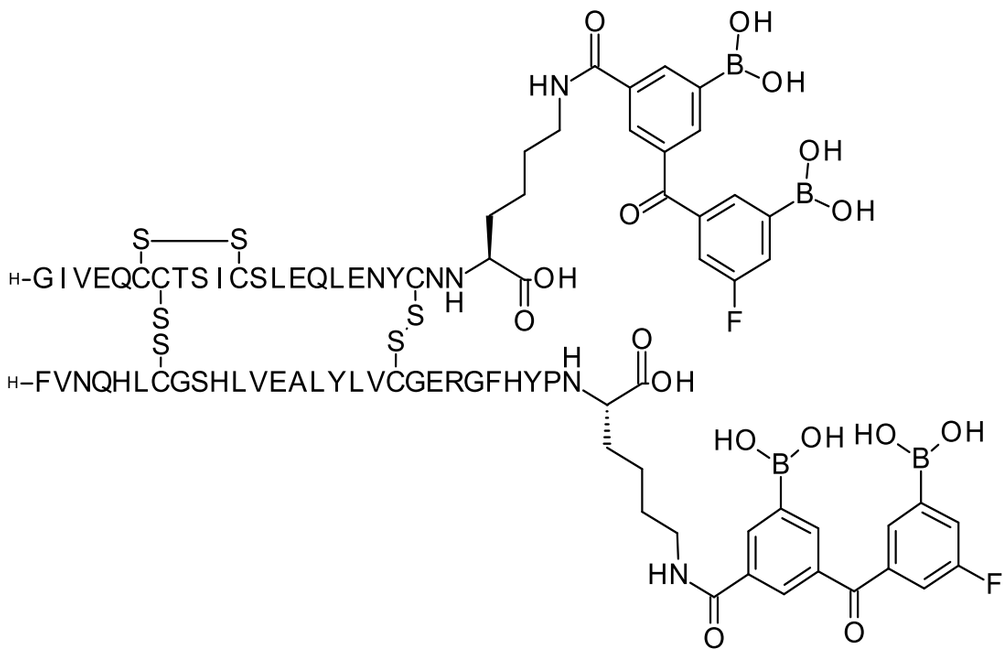
El Ejemplo 144 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 10.

Ejemplo 145:



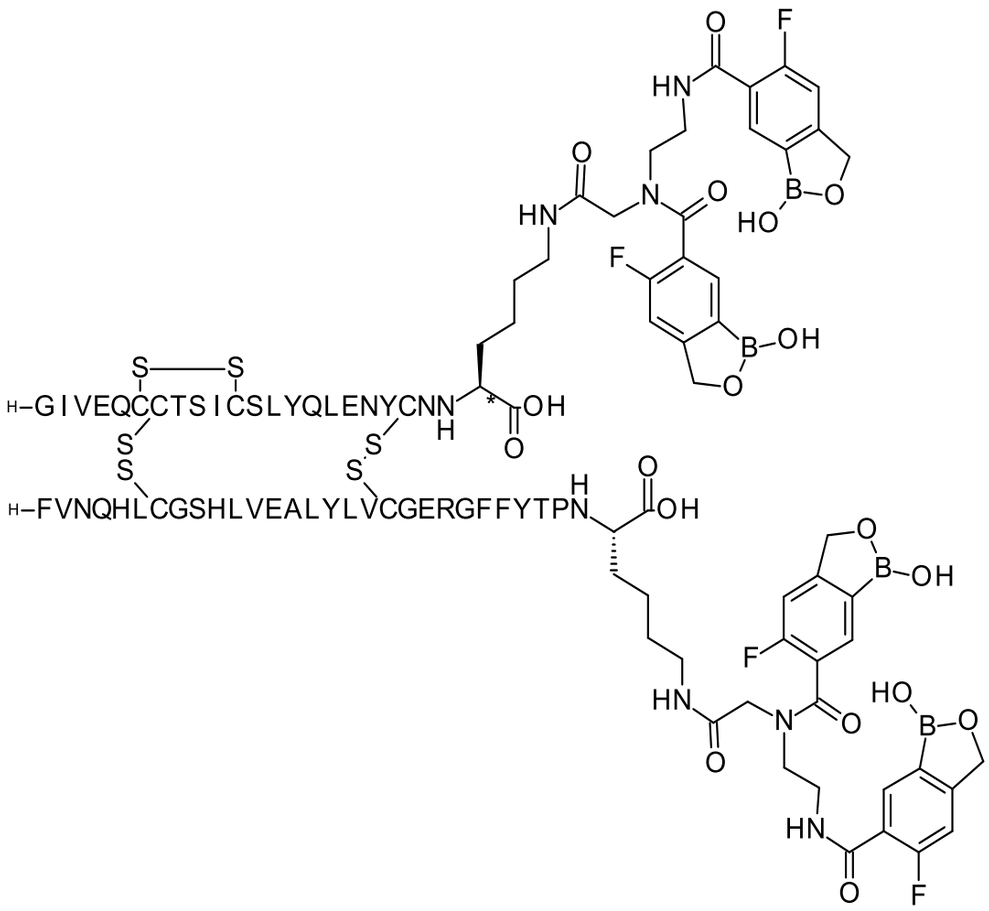
El Ejemplo 145 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 10.

Ejemplo 146:



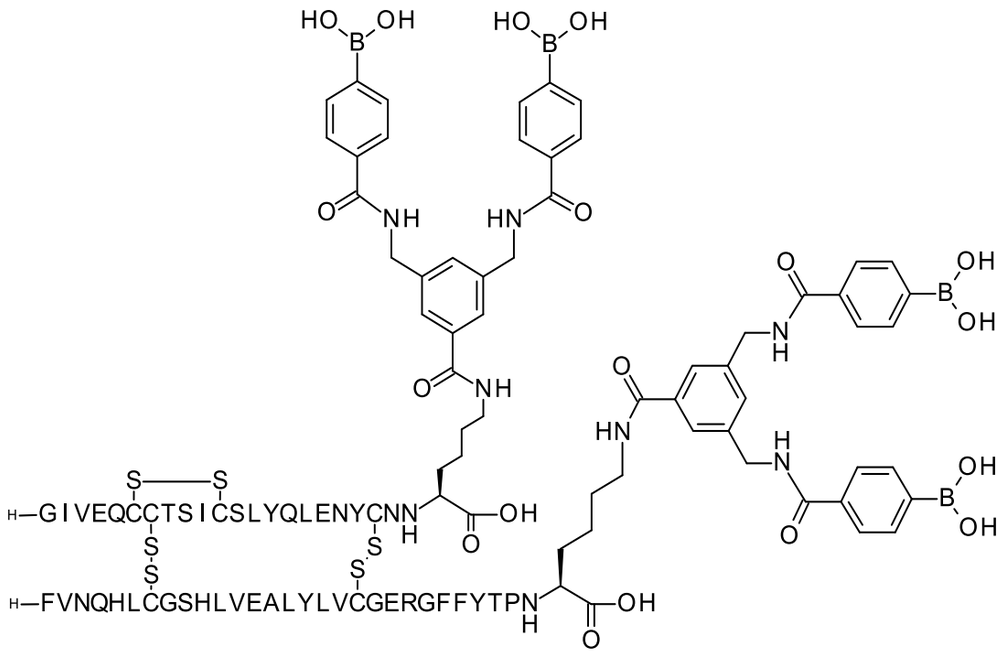
El Ejemplo 146 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 147:



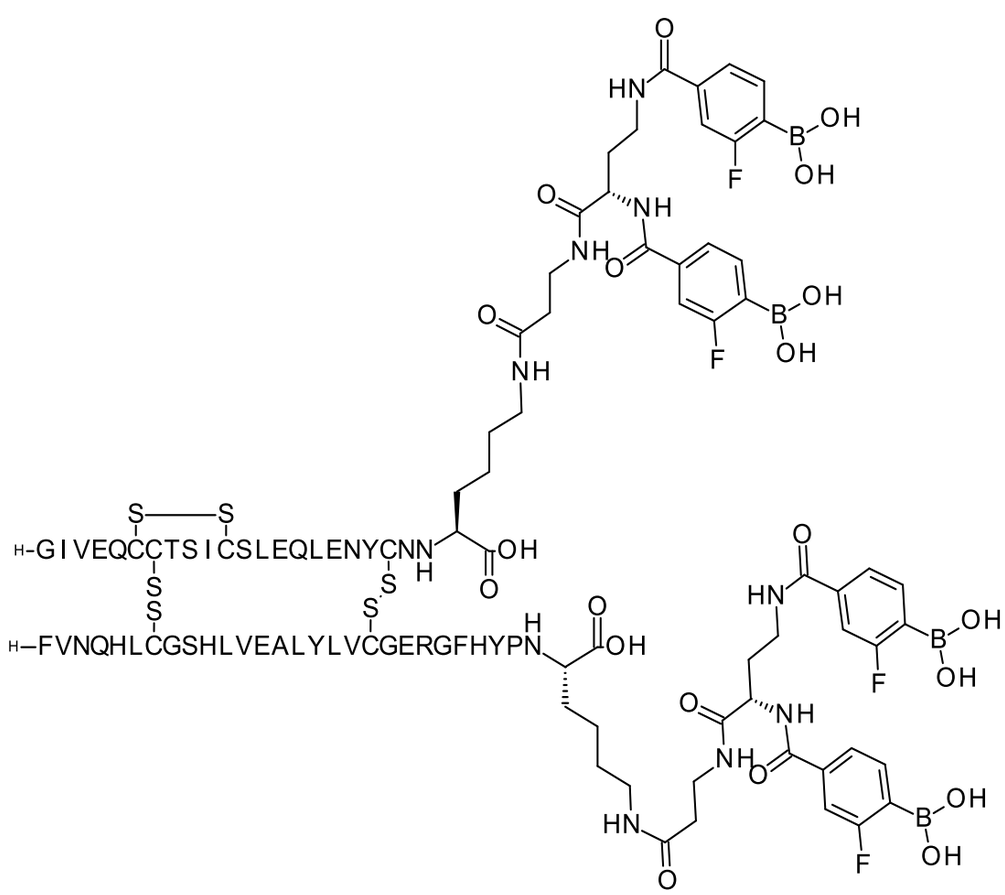
El Ejemplo 147 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 10.

Ejemplo 148:



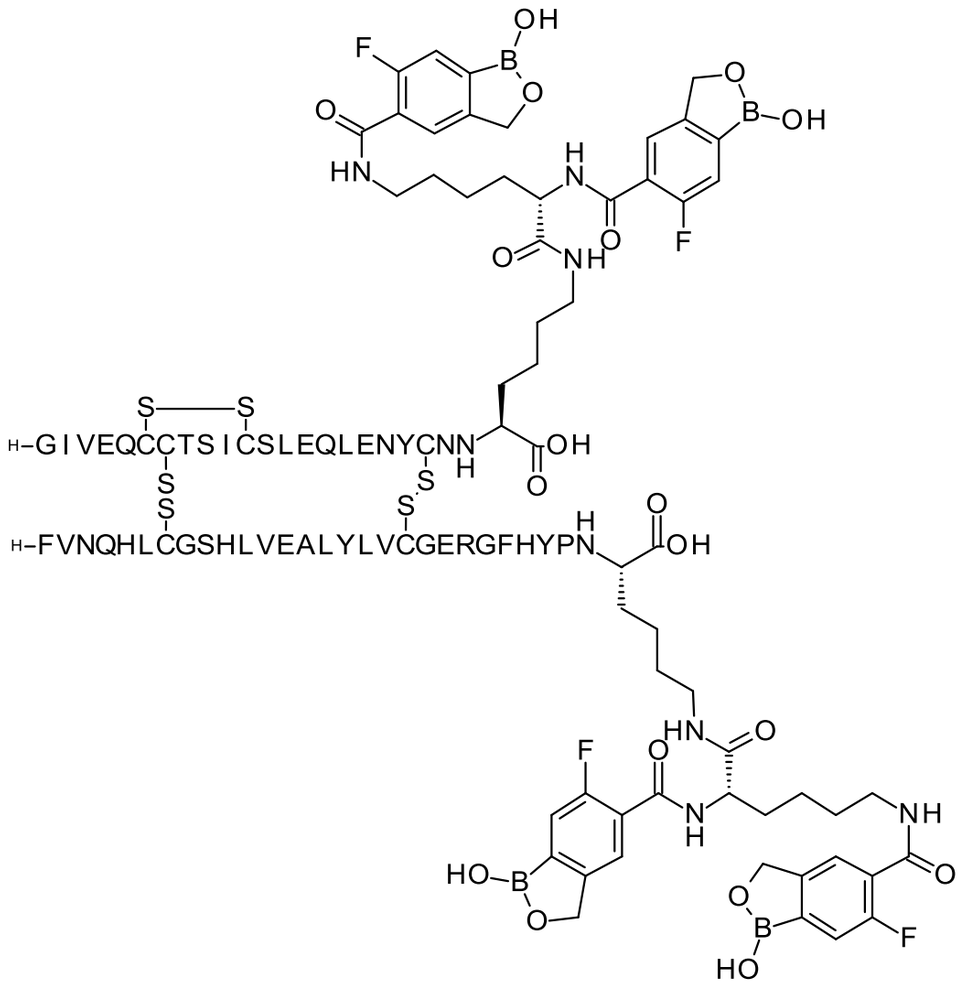
El Ejemplo 148 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 17.

Ejemplo 149:



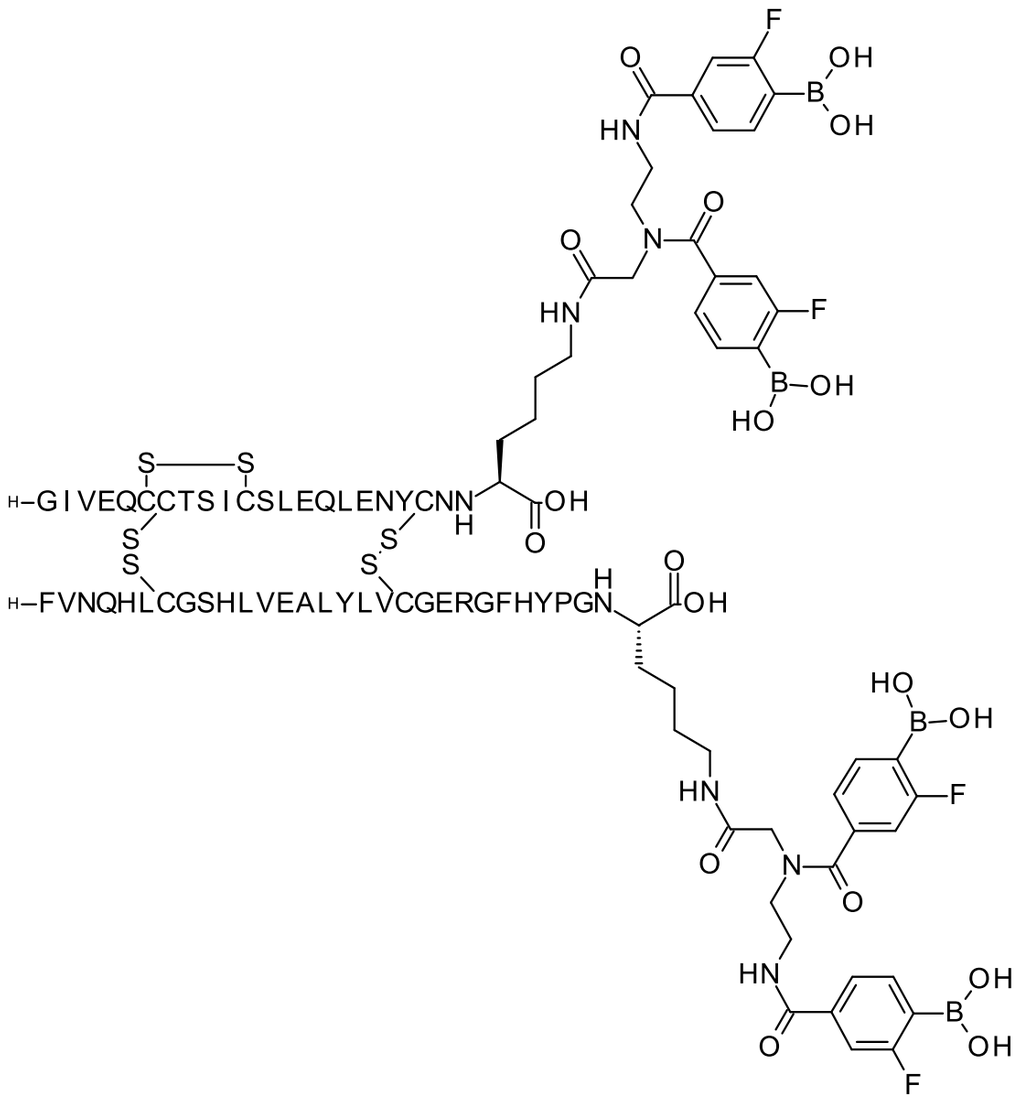
El Ejemplo 149 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 15.

Ejemplo 150:



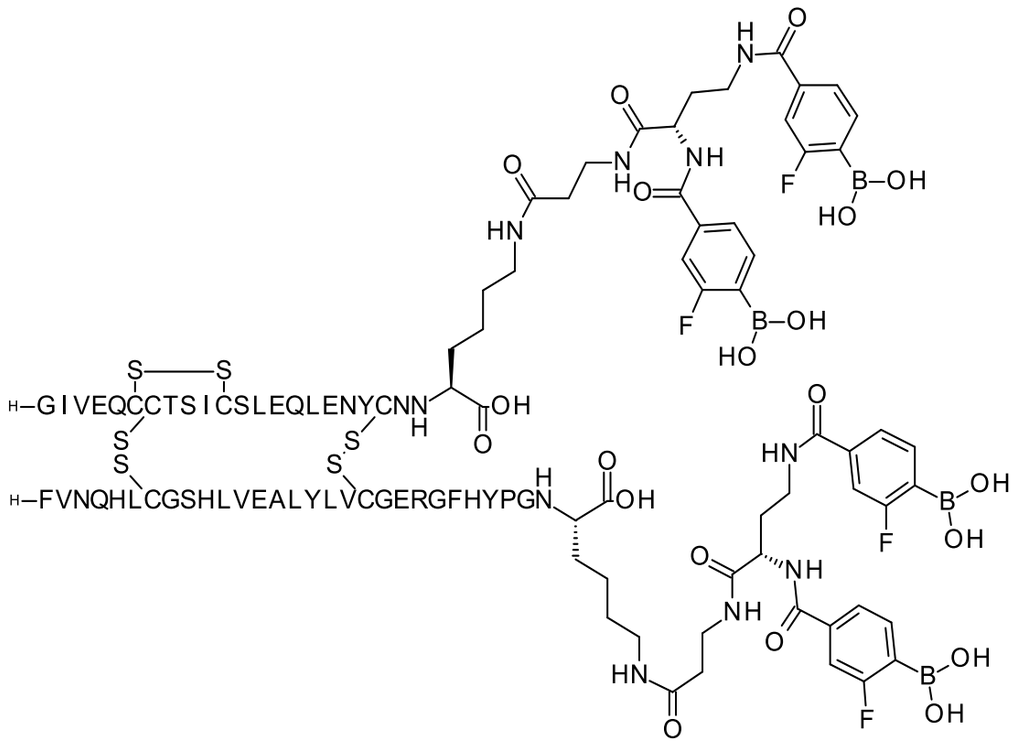
El Ejemplo 150 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 18.

Ejemplo 151:



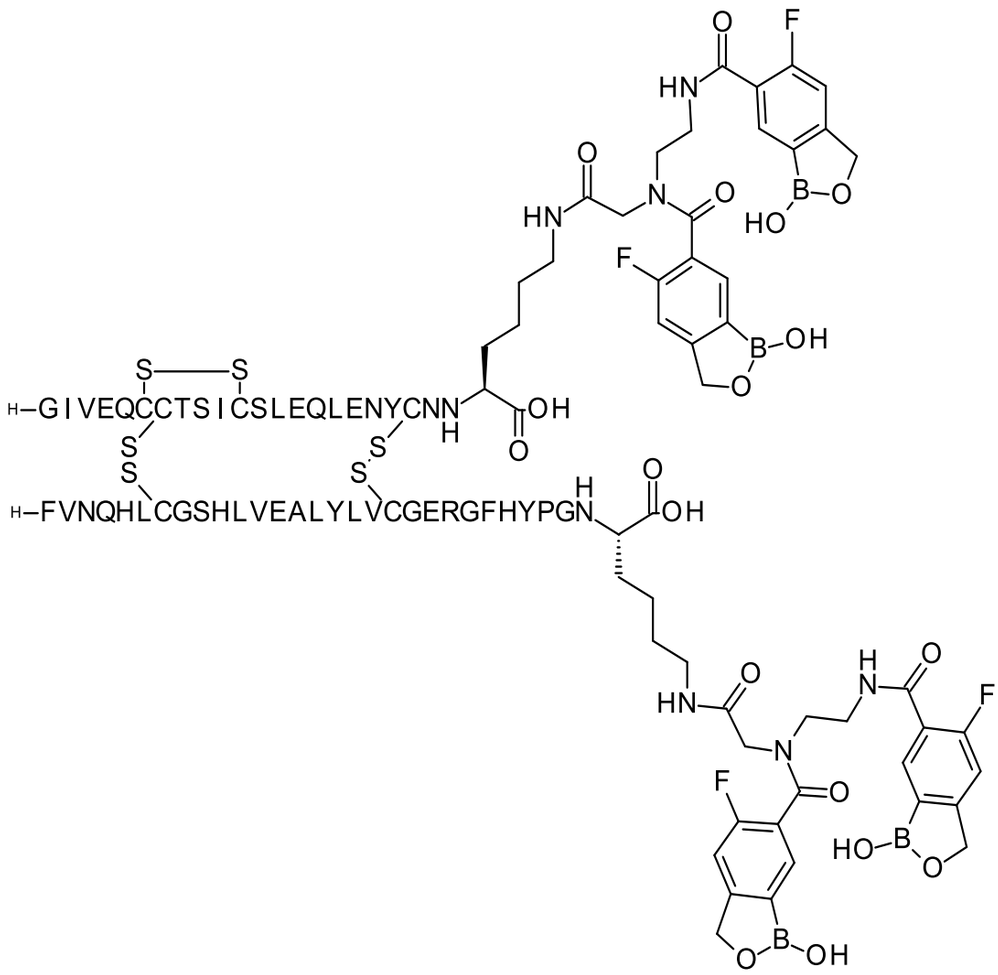
El Ejemplo 151 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 152:



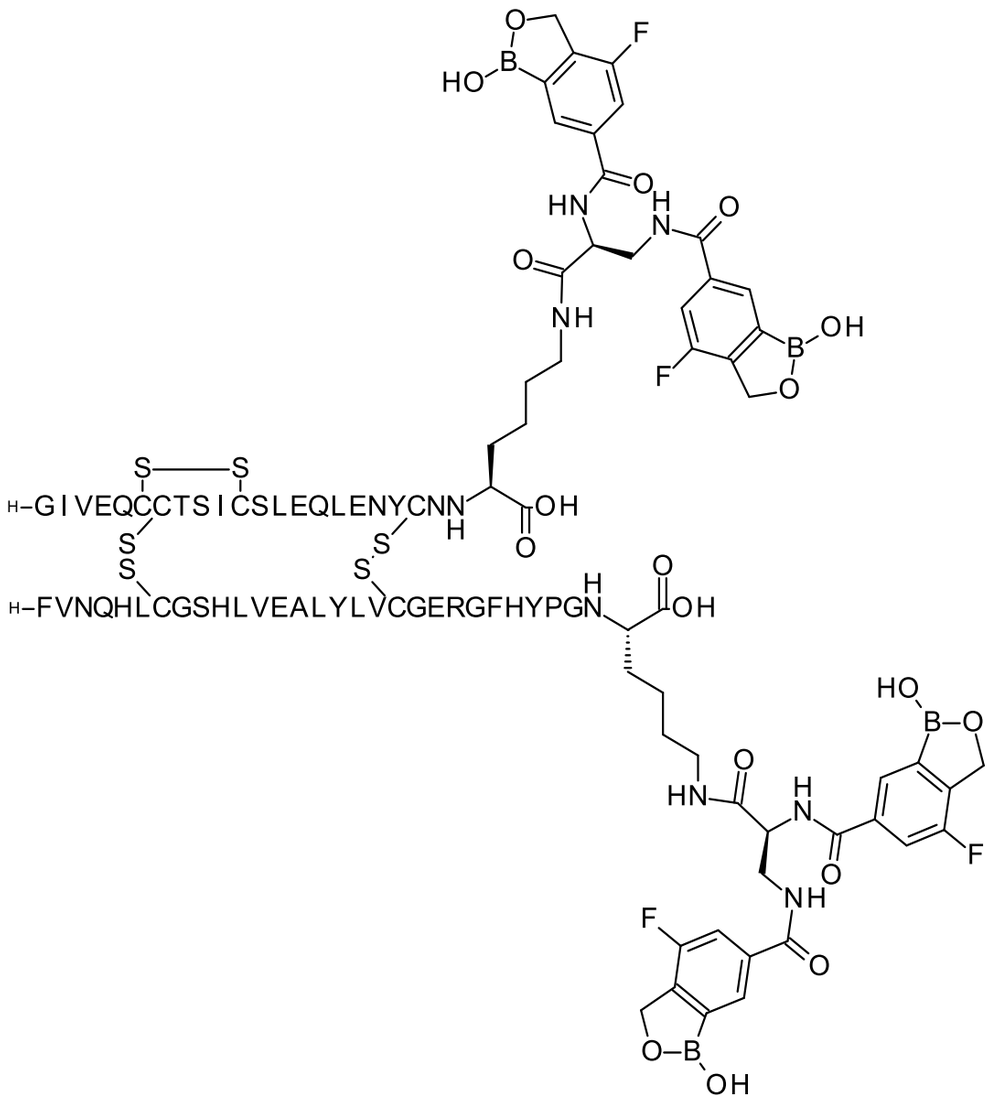
El Ejemplo 152 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 y el componente básico del Ejemplo 15.

Ejemplo 153:



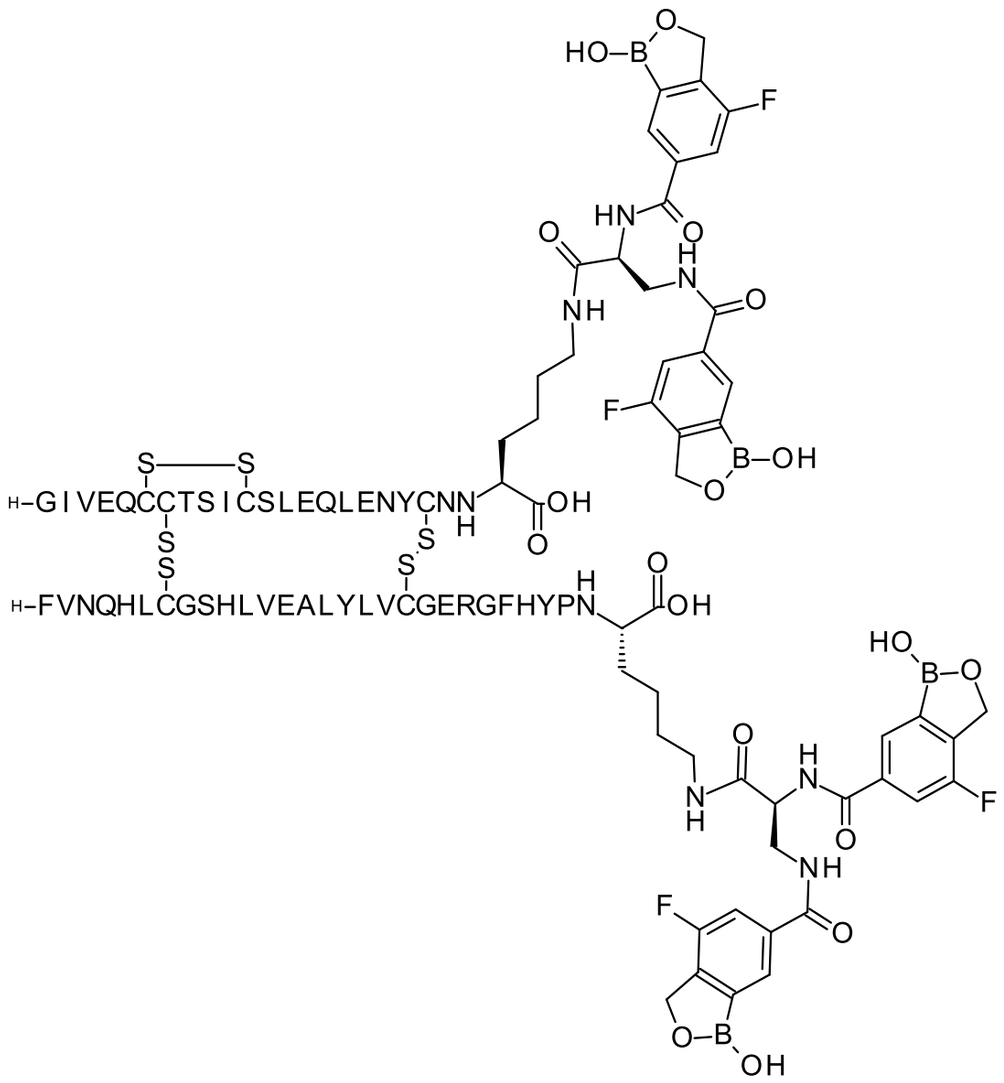
El Ejemplo 153 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 154:



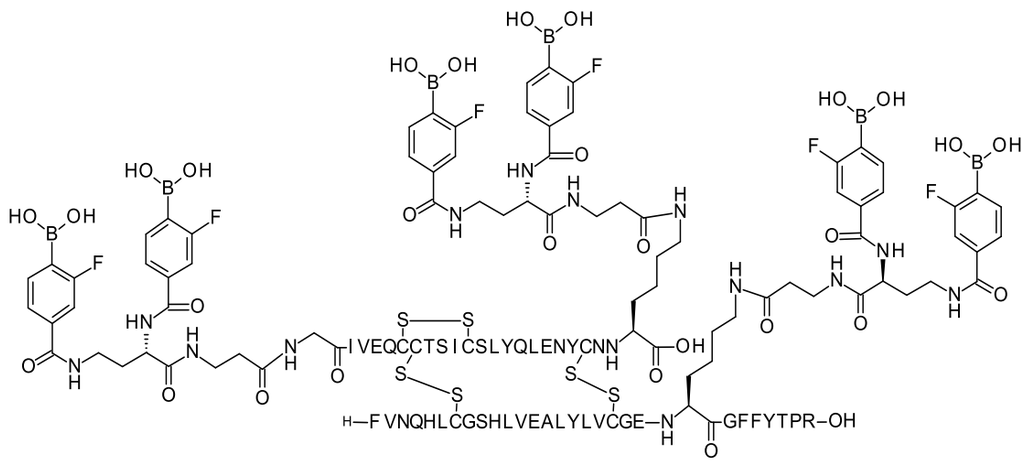
El Ejemplo 154 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 y el componente básico del Ejemplo 19.

Ejemplo 155:



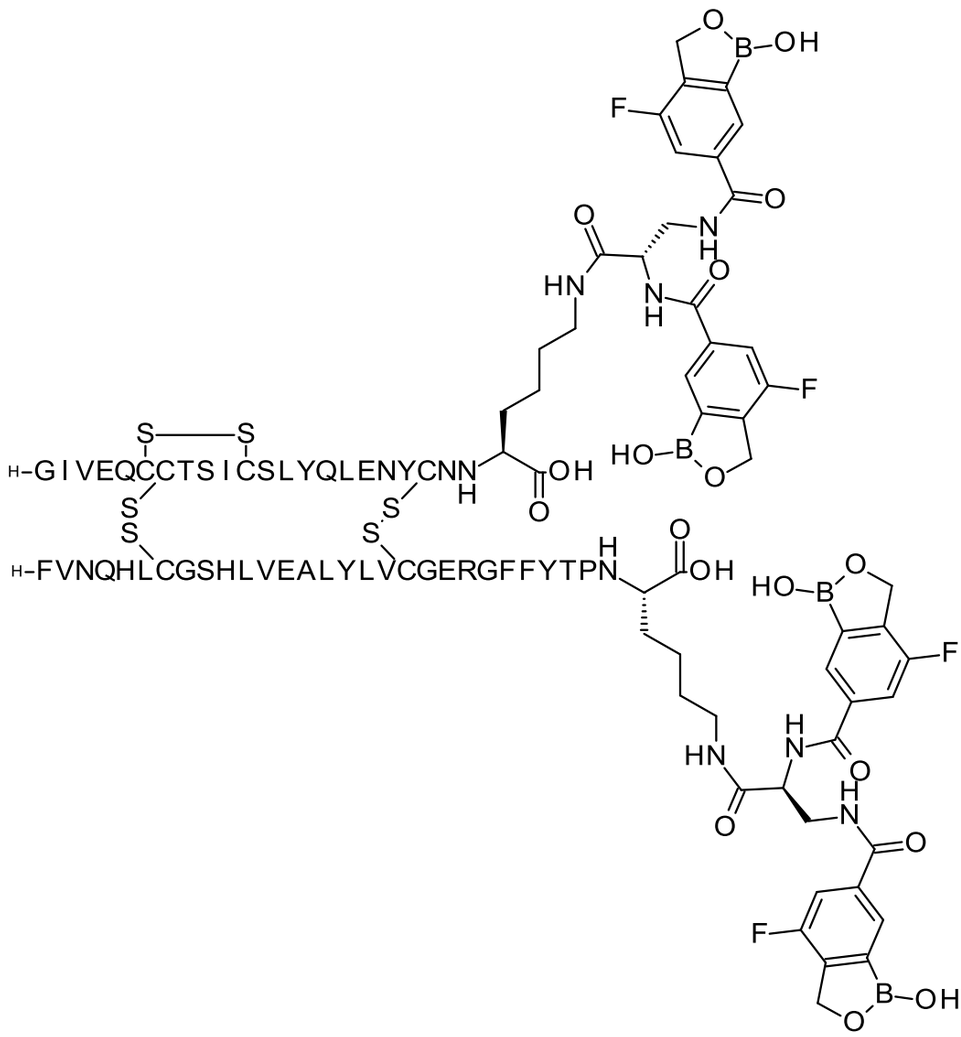
El Ejemplo 155 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 19.

Ejemplo 156:



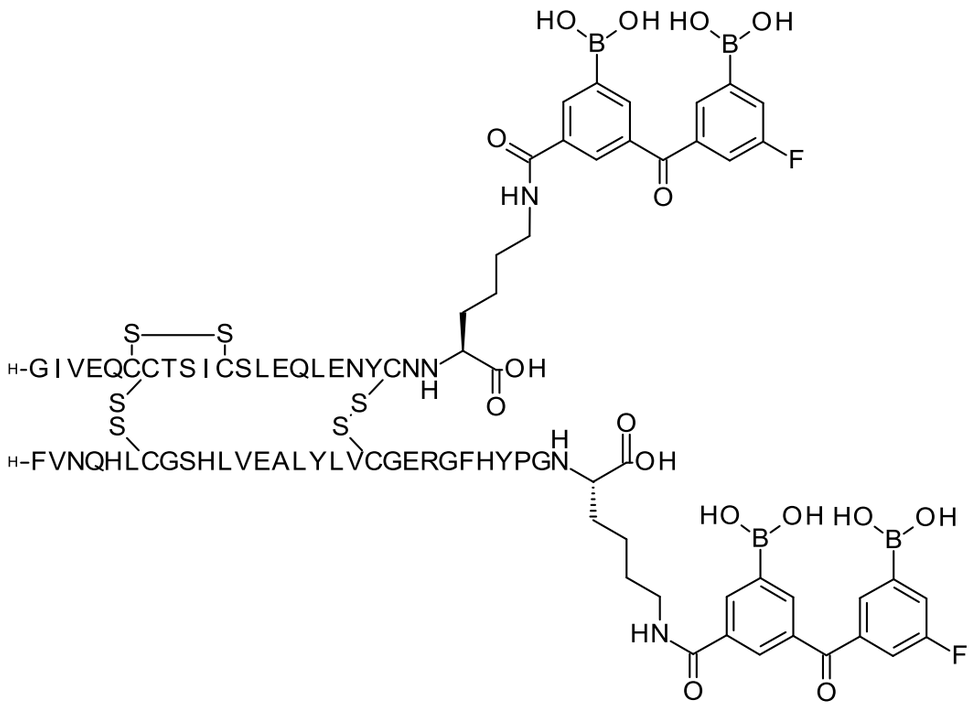
El Ejemplo 156 se preparó de manera similar al Ejemplo 103 a partir de la insulina humana A22K B22K B29R desB30 y el componente básico del Ejemplo 15.

Ejemplo 157:



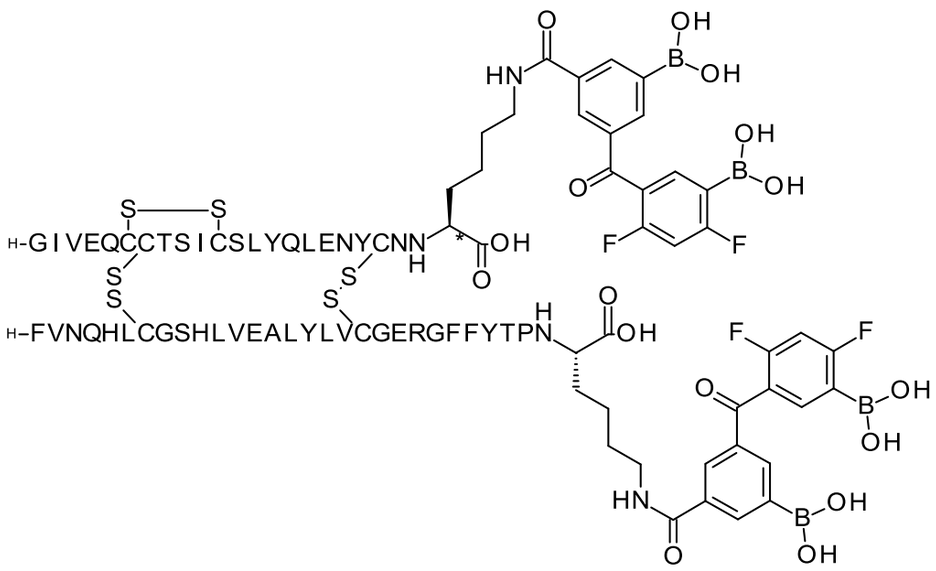
El Ejemplo 157 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 19.

Ejemplo 158:



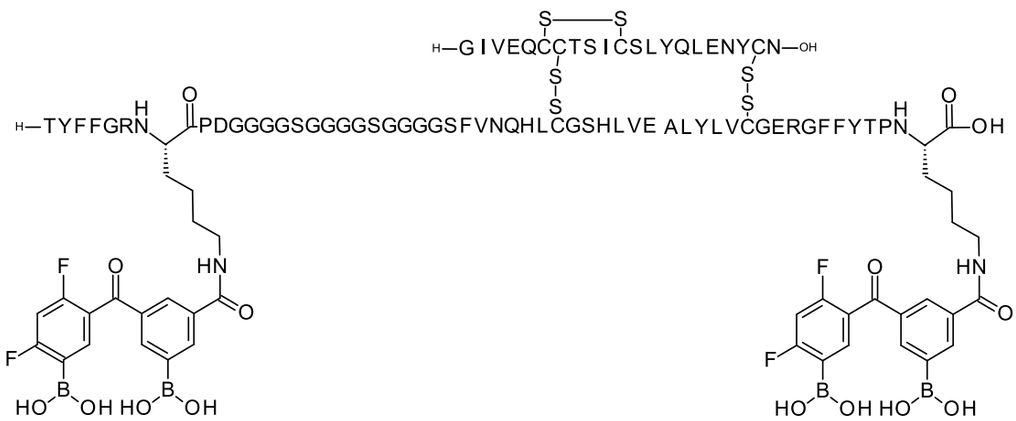
El Ejemplo 158 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H B27P B28G desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 159:



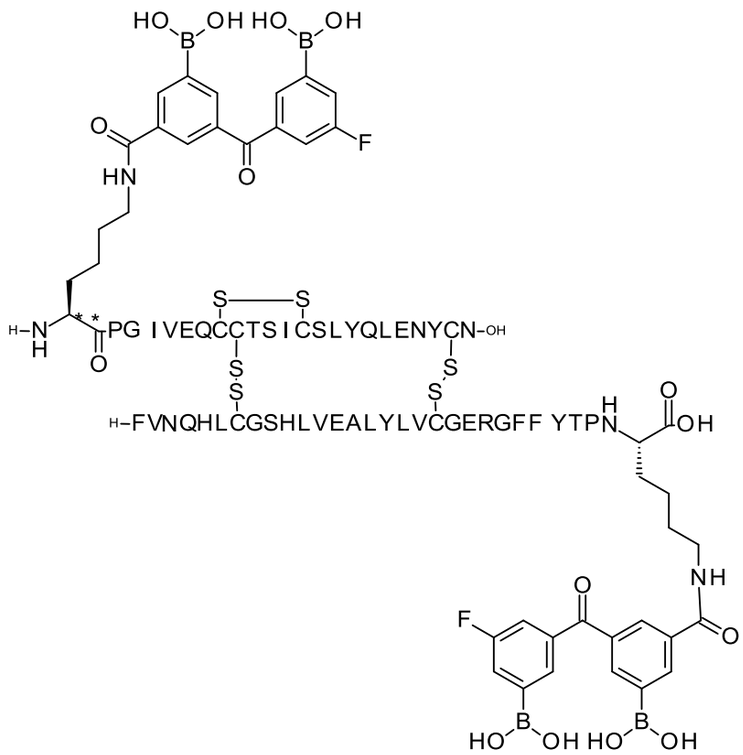
El Ejemplo 159 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 160:



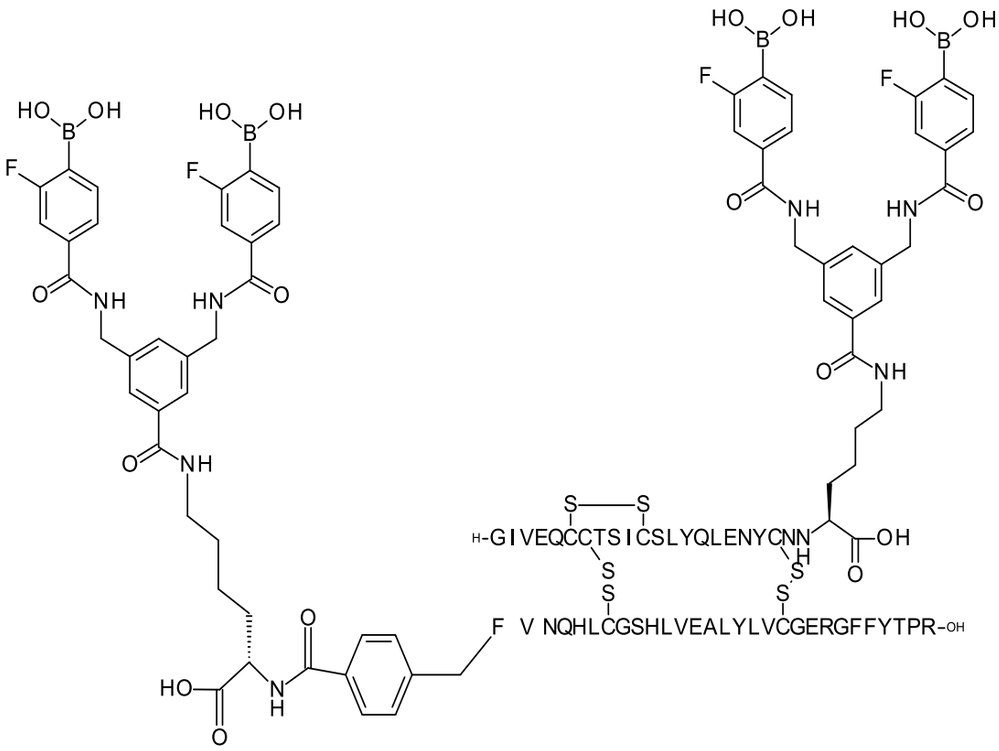
El Ejemplo 160 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-TYFFGRKPDGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 161:



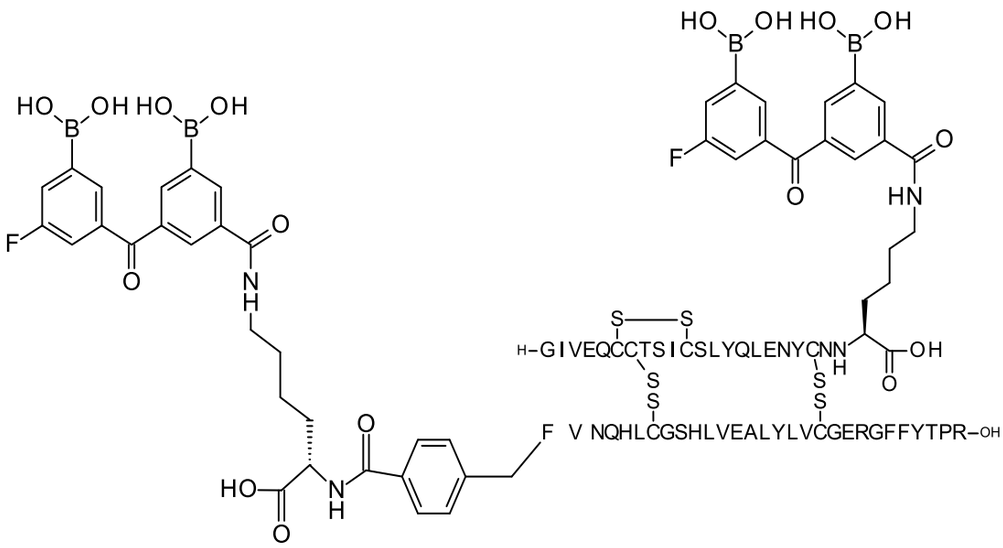
El Ejemplo 161 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A-2K A-1P desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 162:



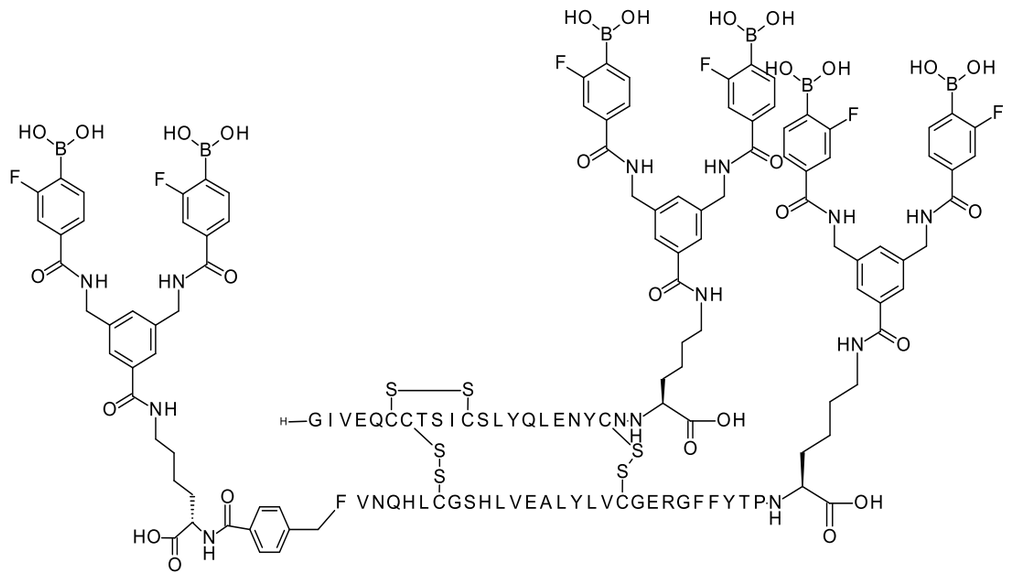
El Ejemplo 162 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K B29R desB30 y el componente básico del Ejemplo 2.

Ejemplo 163:



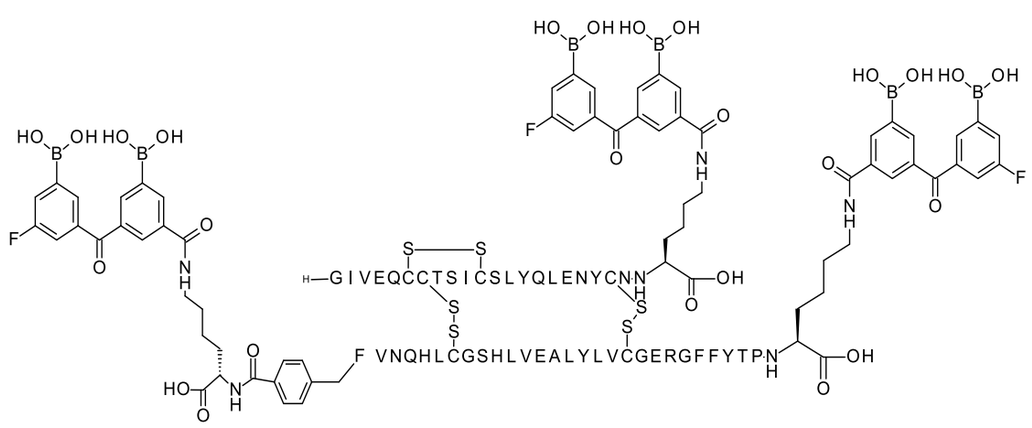
El Ejemplo 163 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K B29R desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 164:



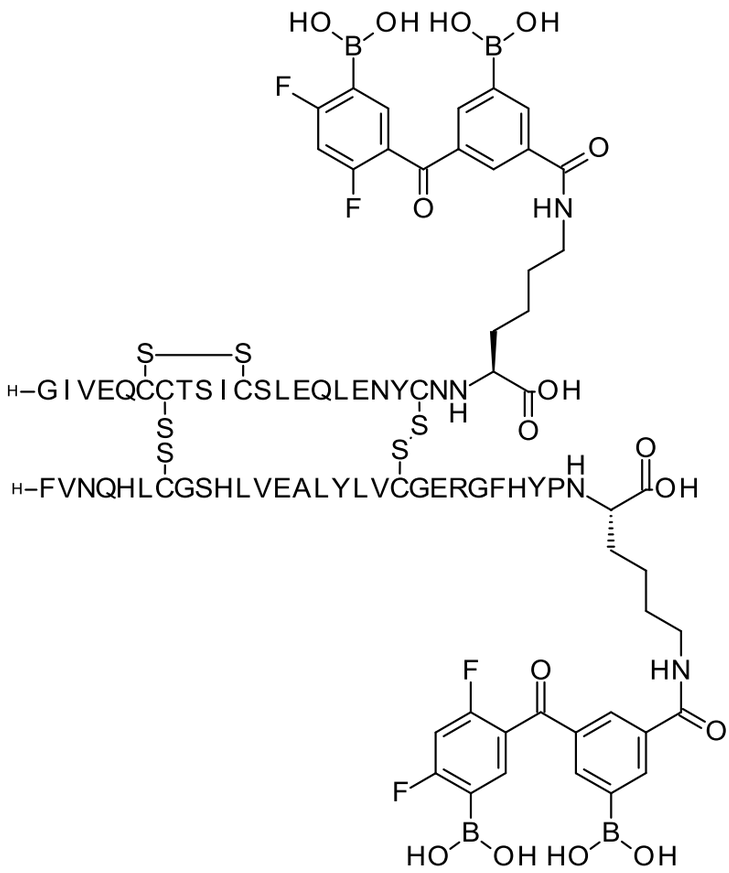
El Ejemplo 164 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 2.

Ejemplo 165:



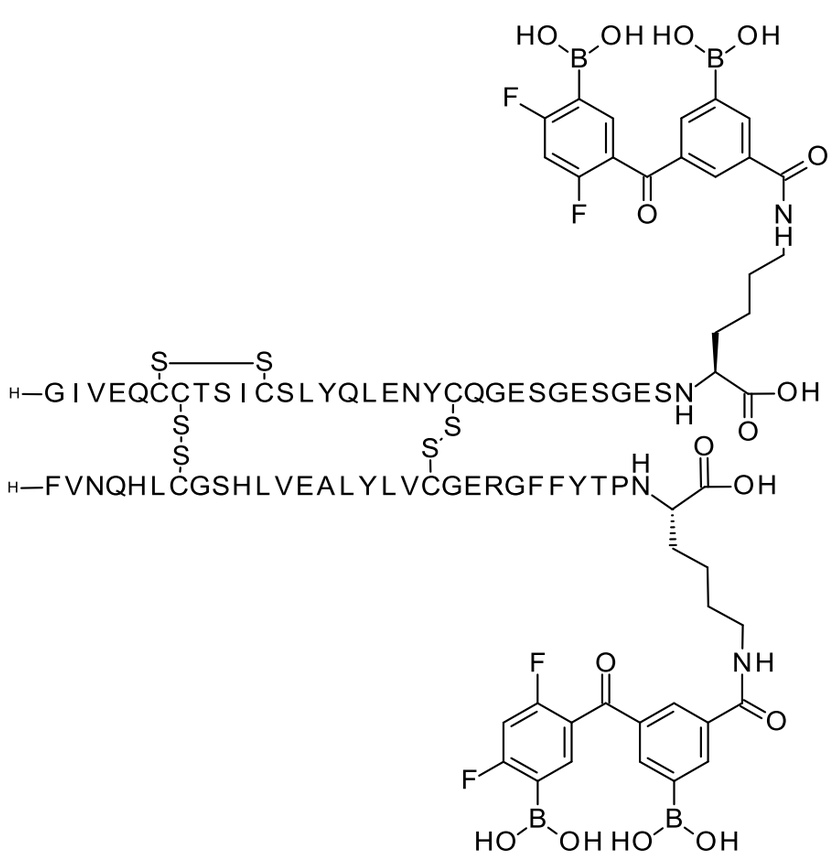
El Ejemplo 165 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 166:



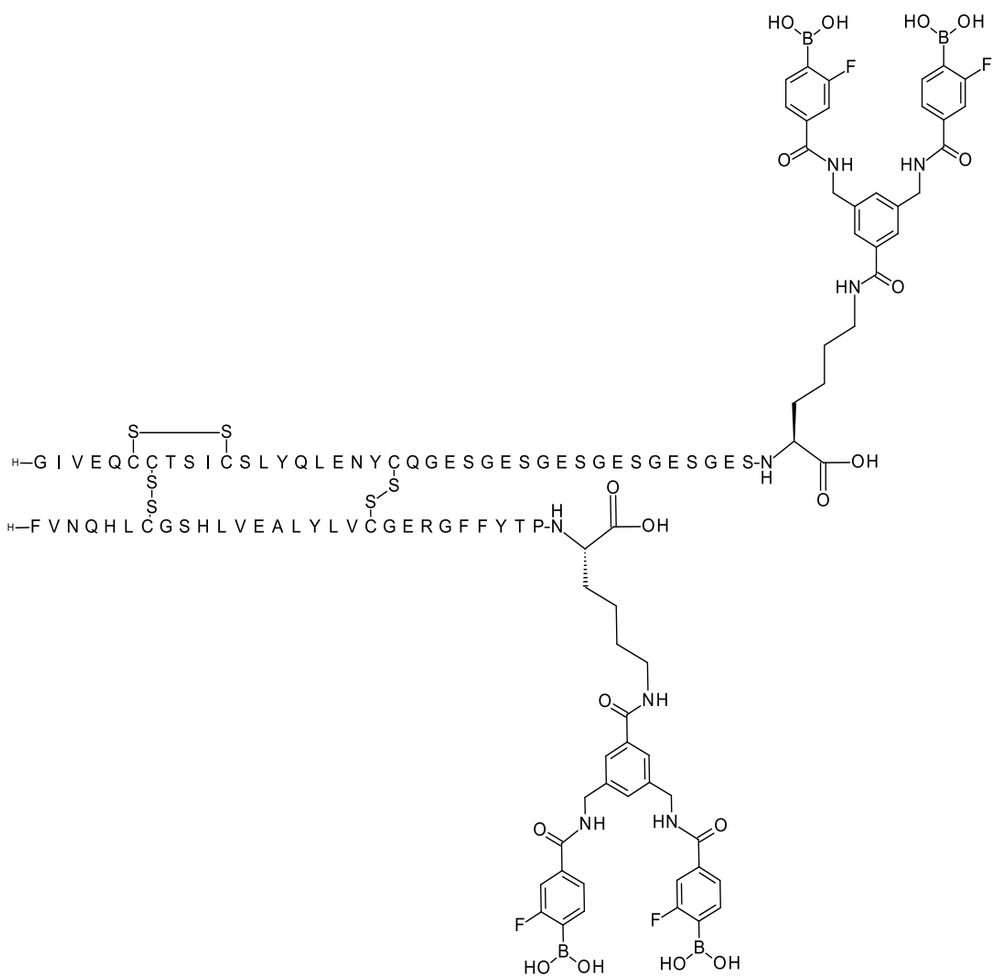
El Ejemplo 166 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 167:



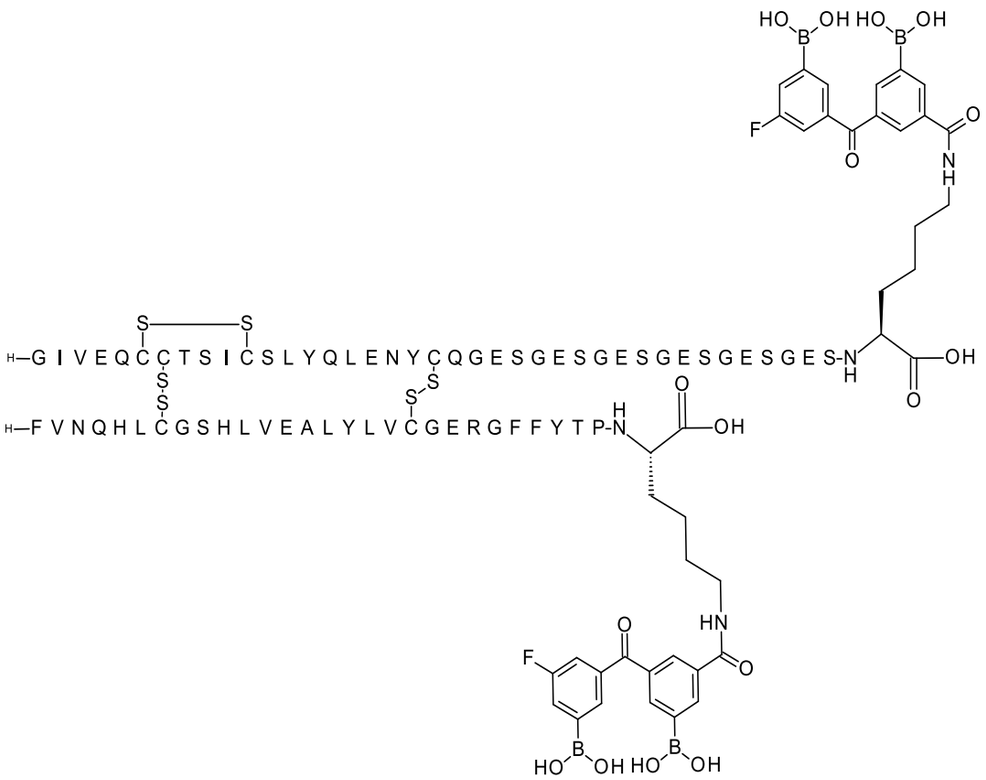
El Ejemplo 167 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 168:



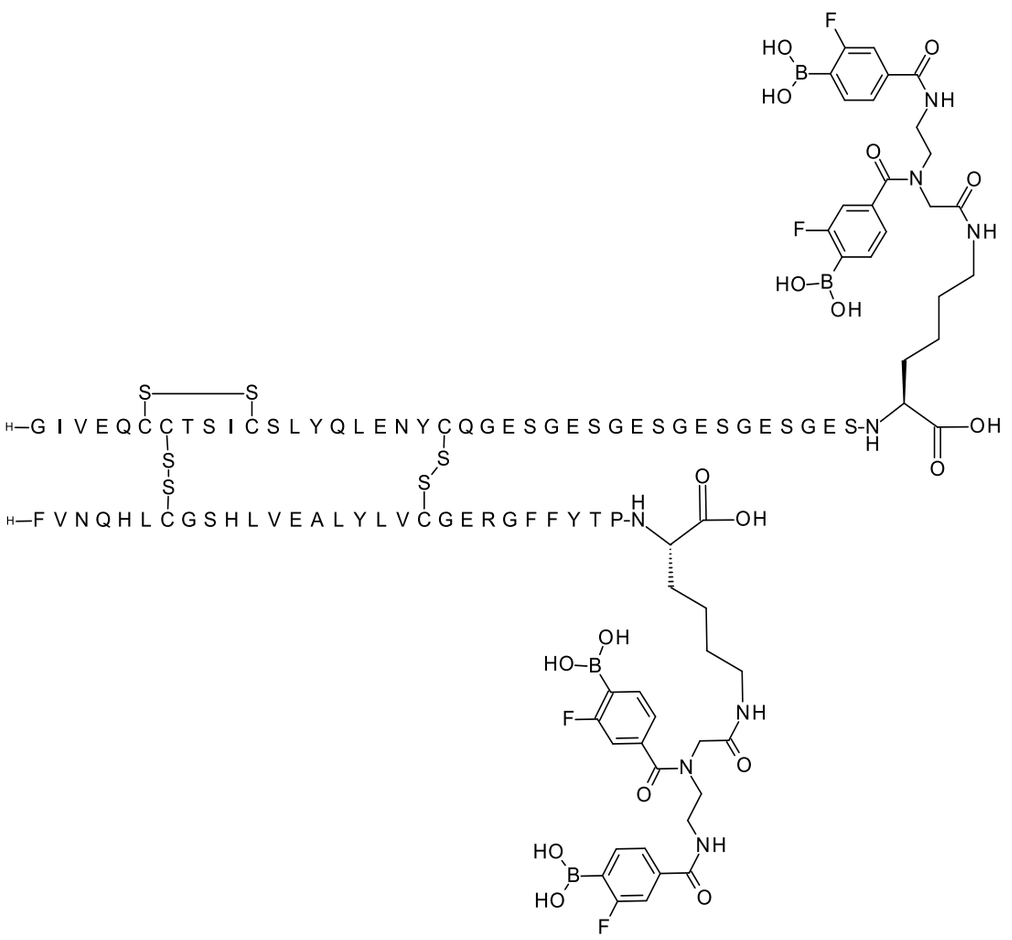
El Ejemplo 168 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)6K desB30 y el componente básico del Ejemplo 2.

Ejemplo 169:



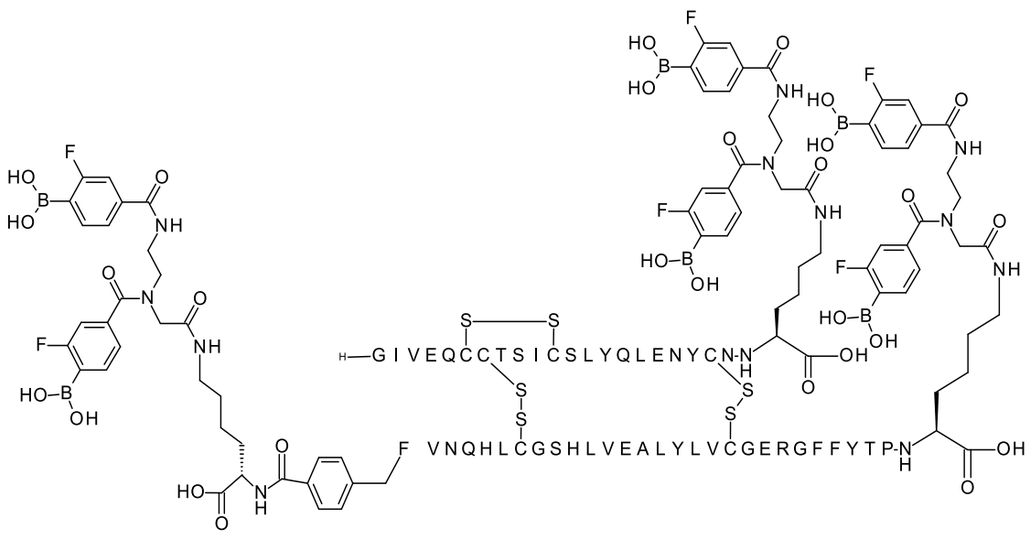
El Ejemplo 169 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)6K desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 170:



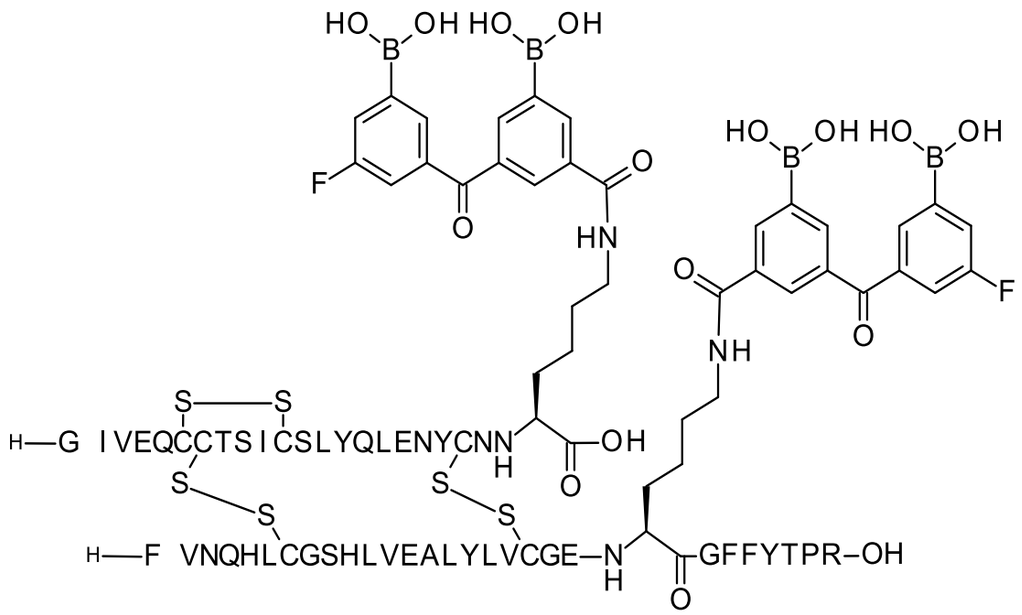
El Ejemplo 170 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)6K desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 171:



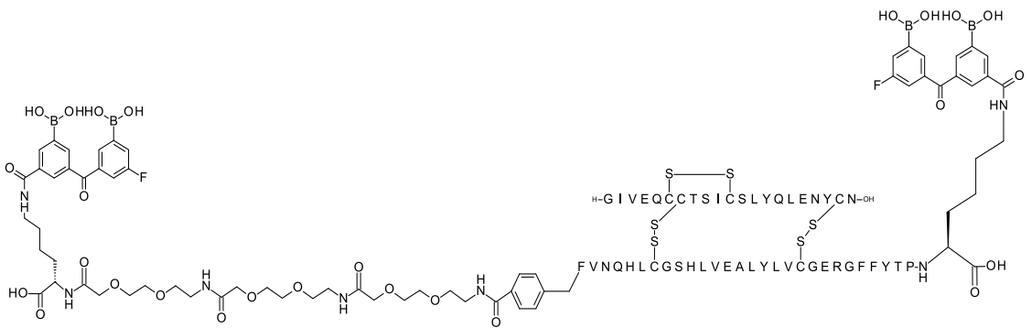
El Ejemplo 171 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 9.

Ejemplo 172:



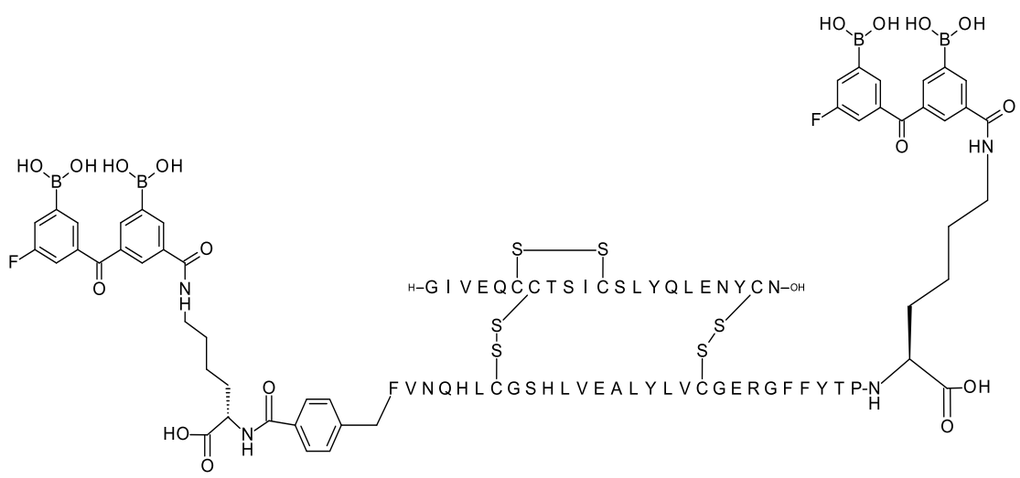
El Ejemplo 172 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K B22K B29R desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 173:



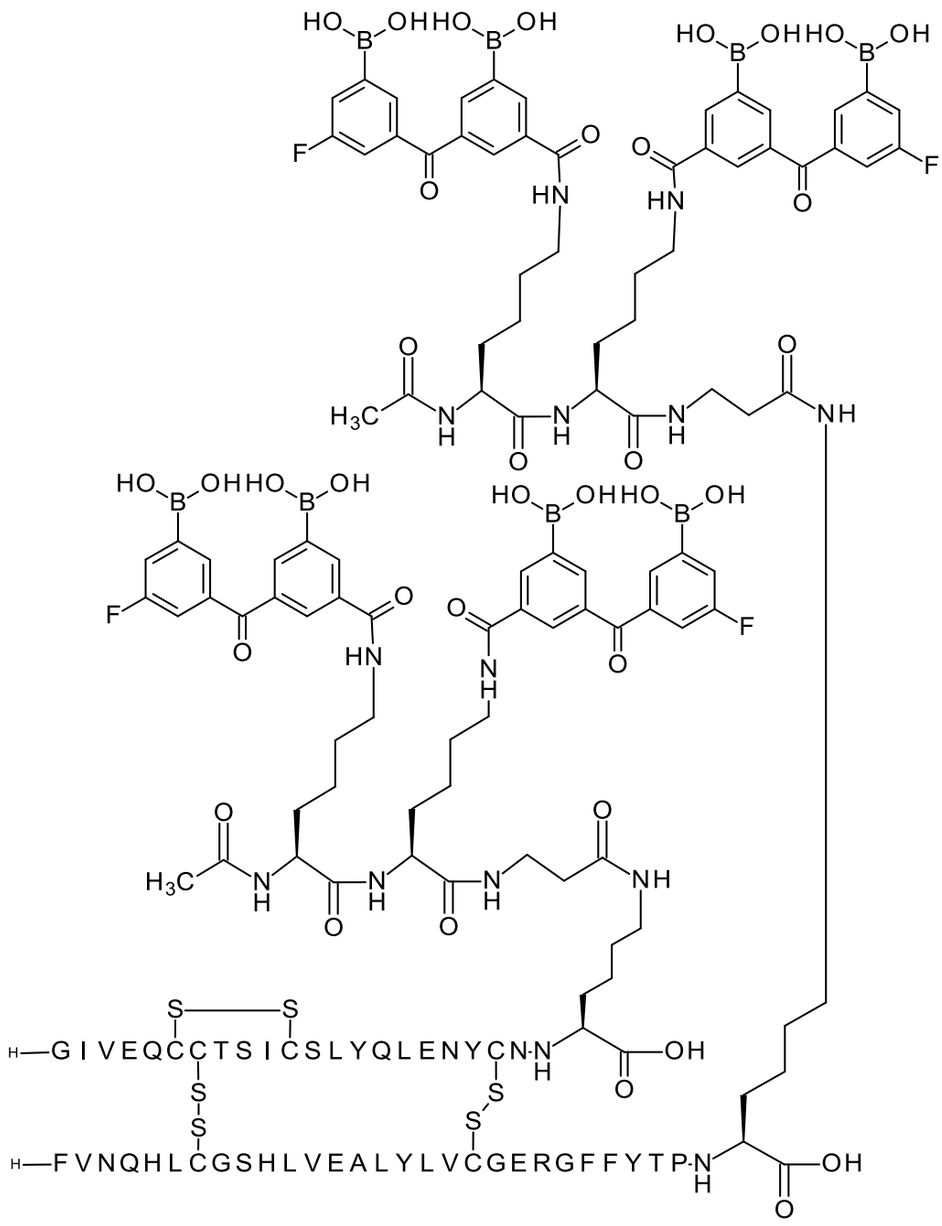
El Ejemplo 173 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 174:



El Ejemplo 174 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

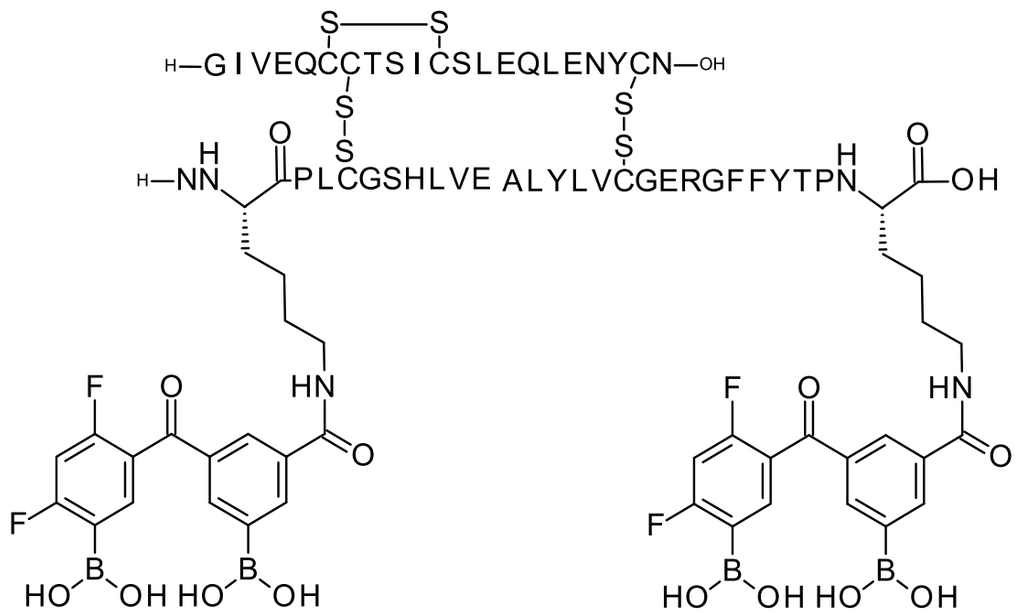
Ejemplo 175:



El Ejemplo 175 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

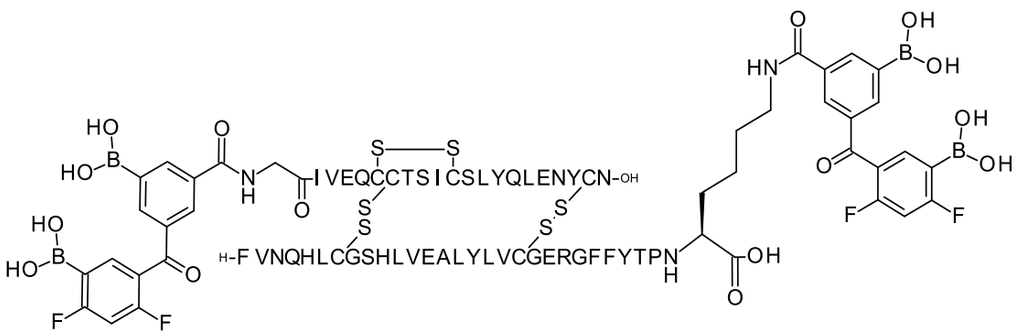
5

Ejemplo 176:



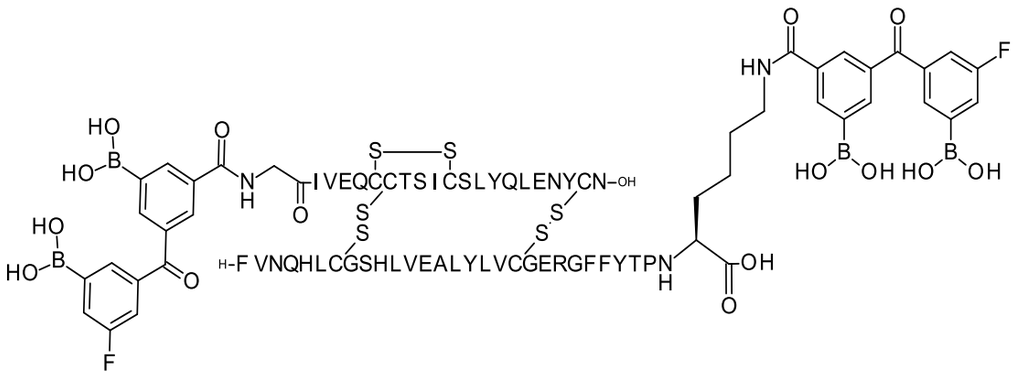
El Ejemplo 176 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 177:



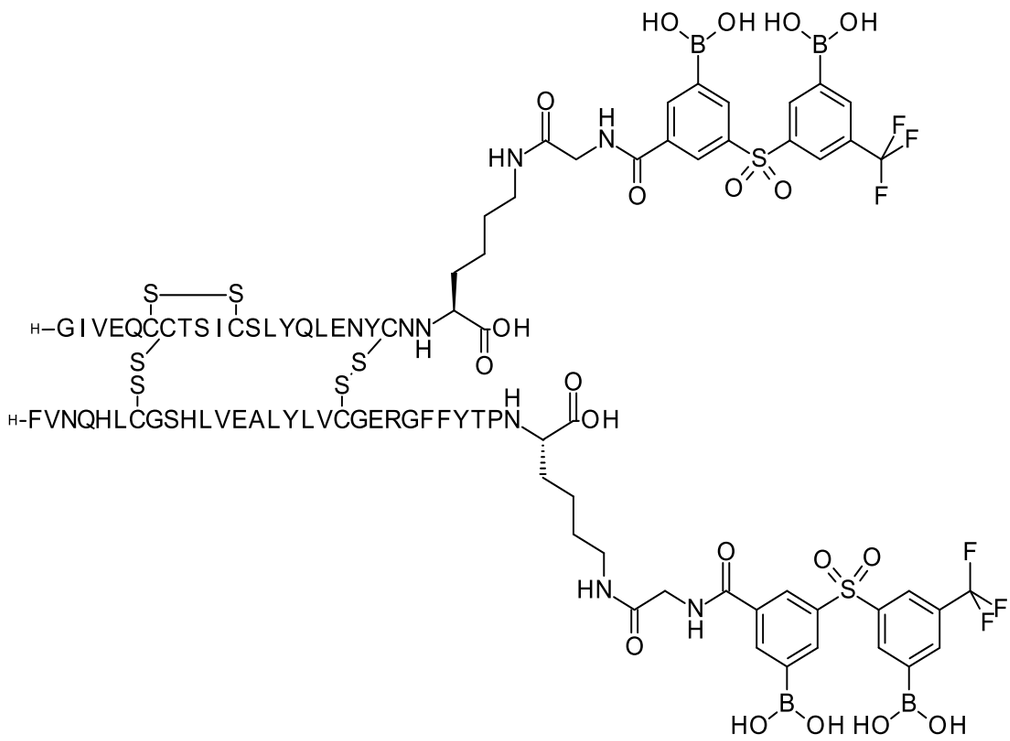
El Ejemplo 177 se preparó de manera similar al Ejemplo 103 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 178:



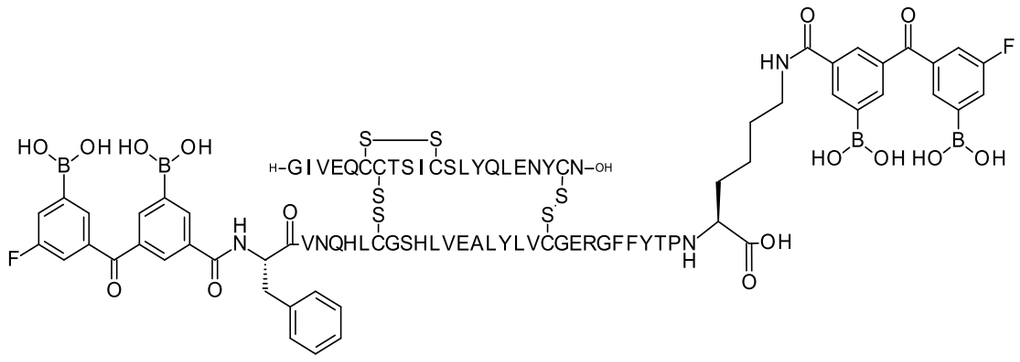
El Ejemplo 178 se preparó de manera similar al Ejemplo 103 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 179:



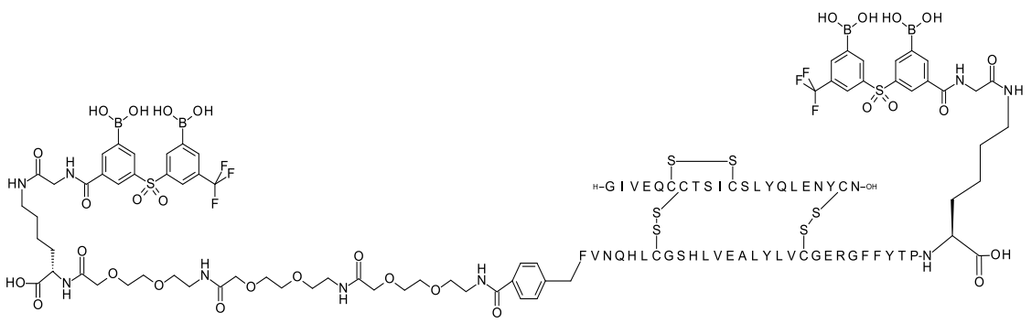
El Ejemplo 179 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 180:



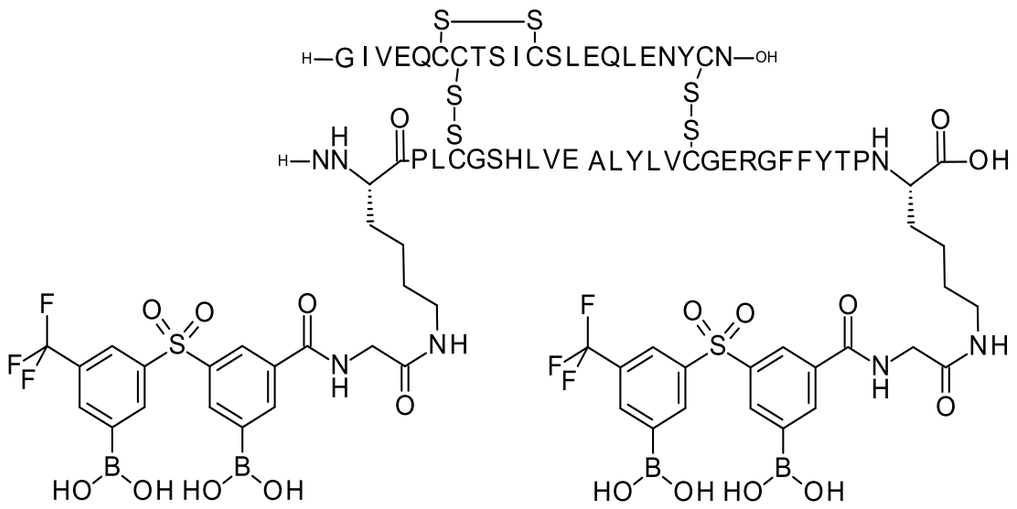
El Ejemplo 180 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 181:



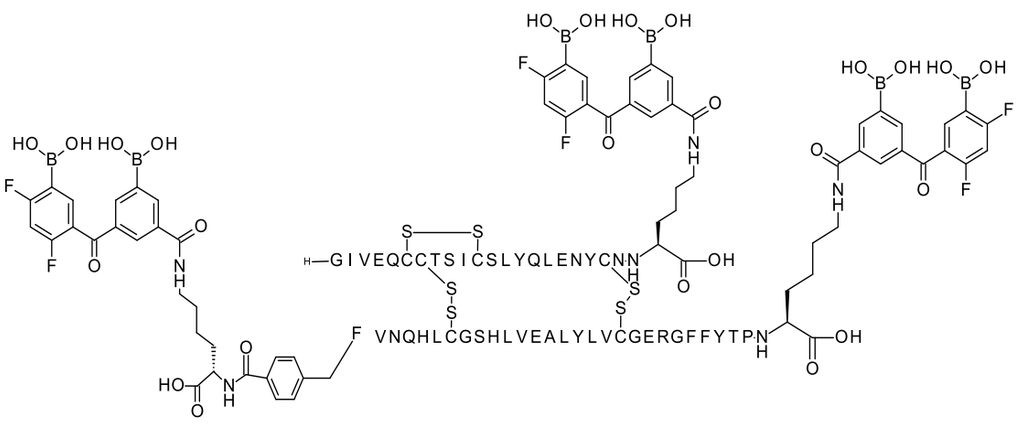
El Ejemplo 181 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 182:



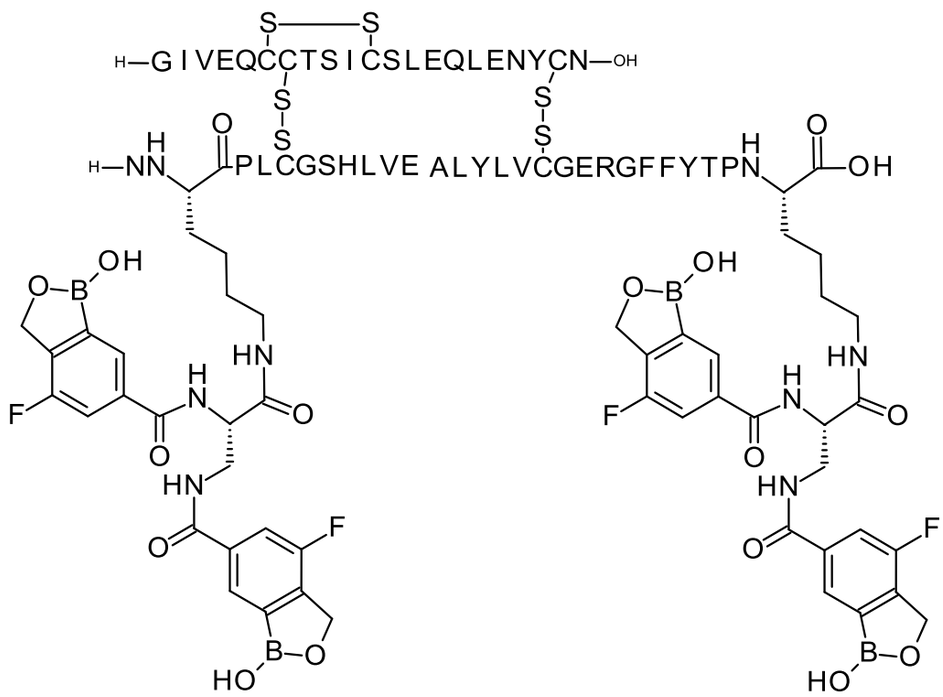
El Ejemplo 182 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 183:



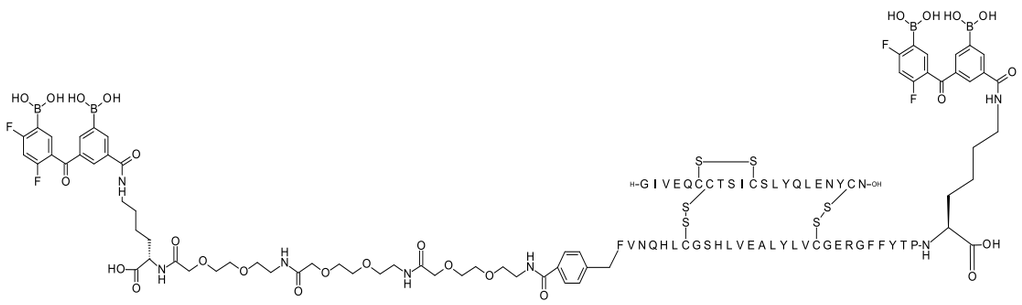
El Ejemplo 183 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 184:



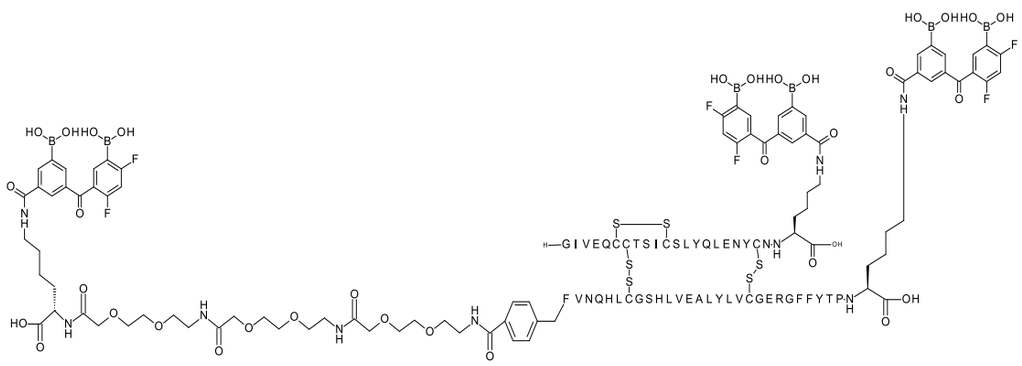
El Ejemplo 184 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 19.

Ejemplo 185:



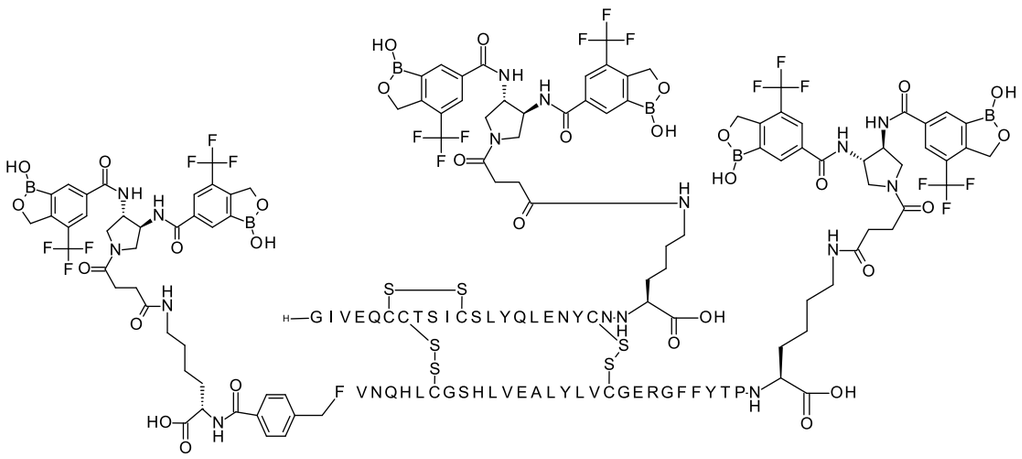
El Ejemplo 185 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 186:



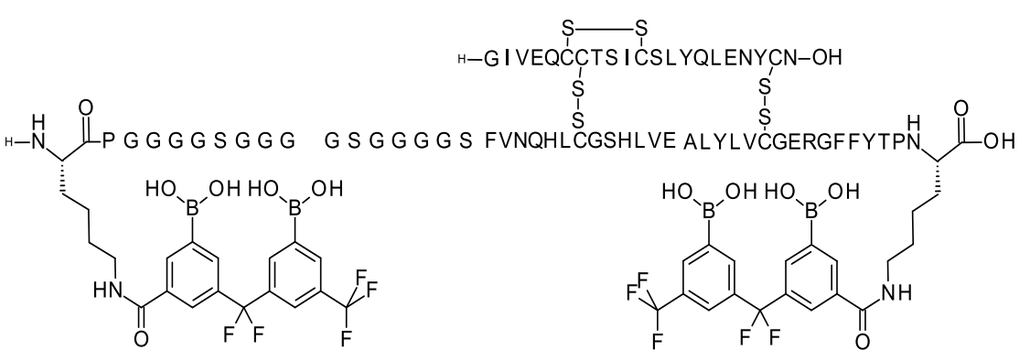
El Ejemplo 186 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 187:



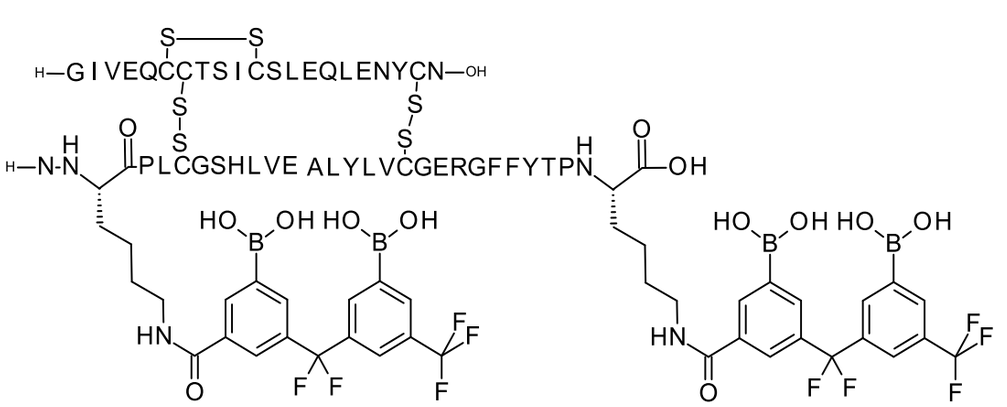
El Ejemplo 187 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 24

Ejemplo 188:



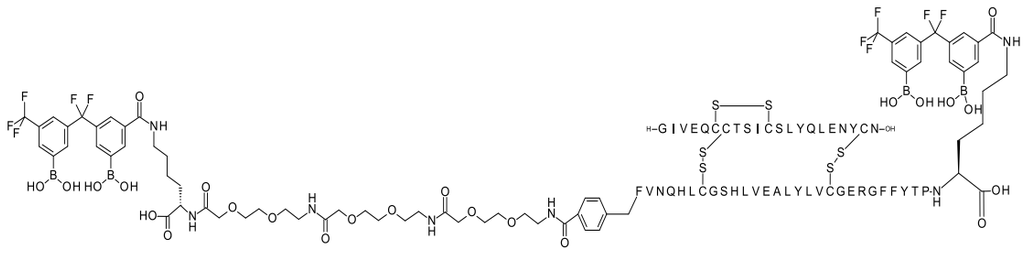
El Ejemplo 188 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 189:



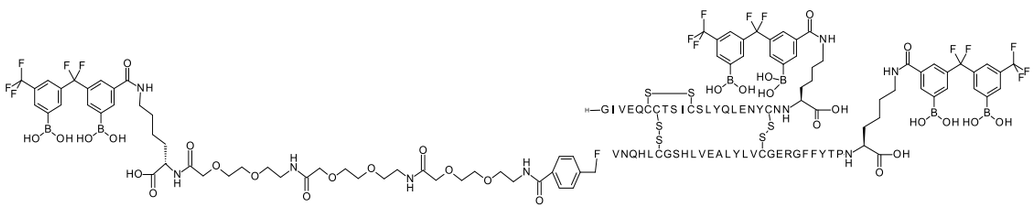
El Ejemplo 189 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 190:



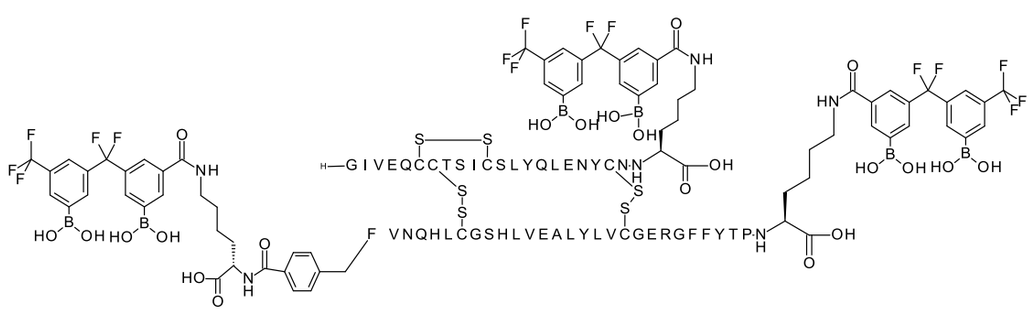
El Ejemplo 190 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 191:



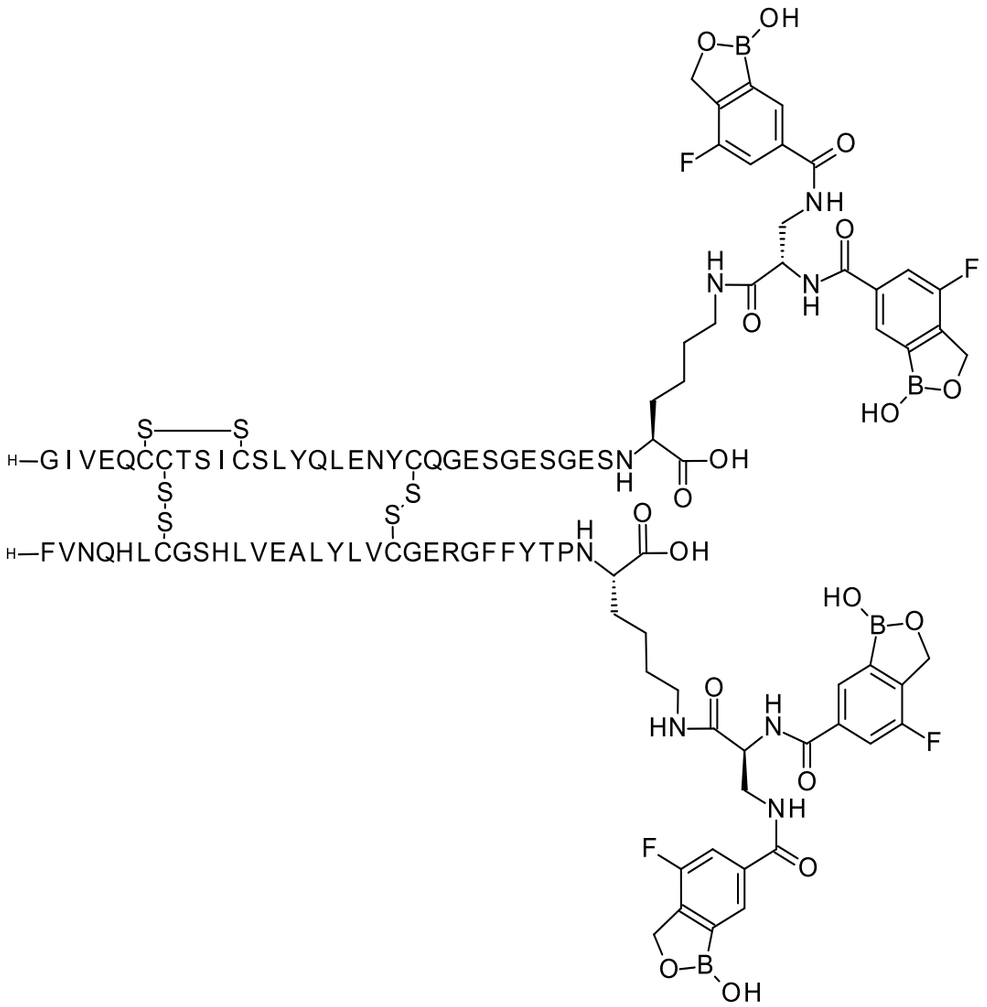
El Ejemplo 191 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 192:



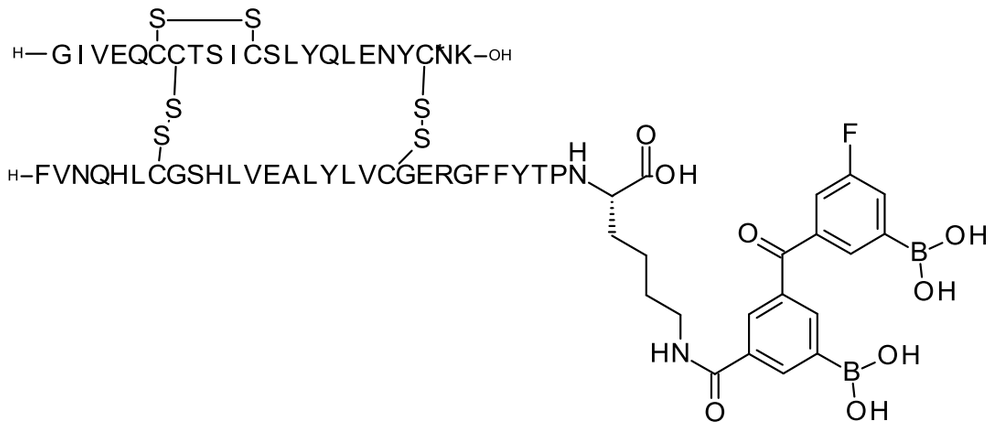
El Ejemplo 192 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 193:



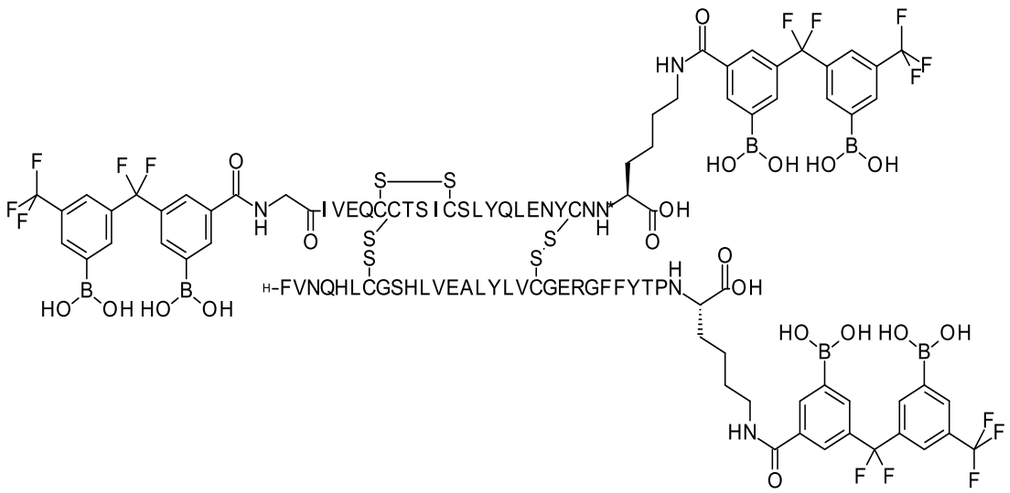
El Ejemplo 193 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 19.

Ejemplo 194:



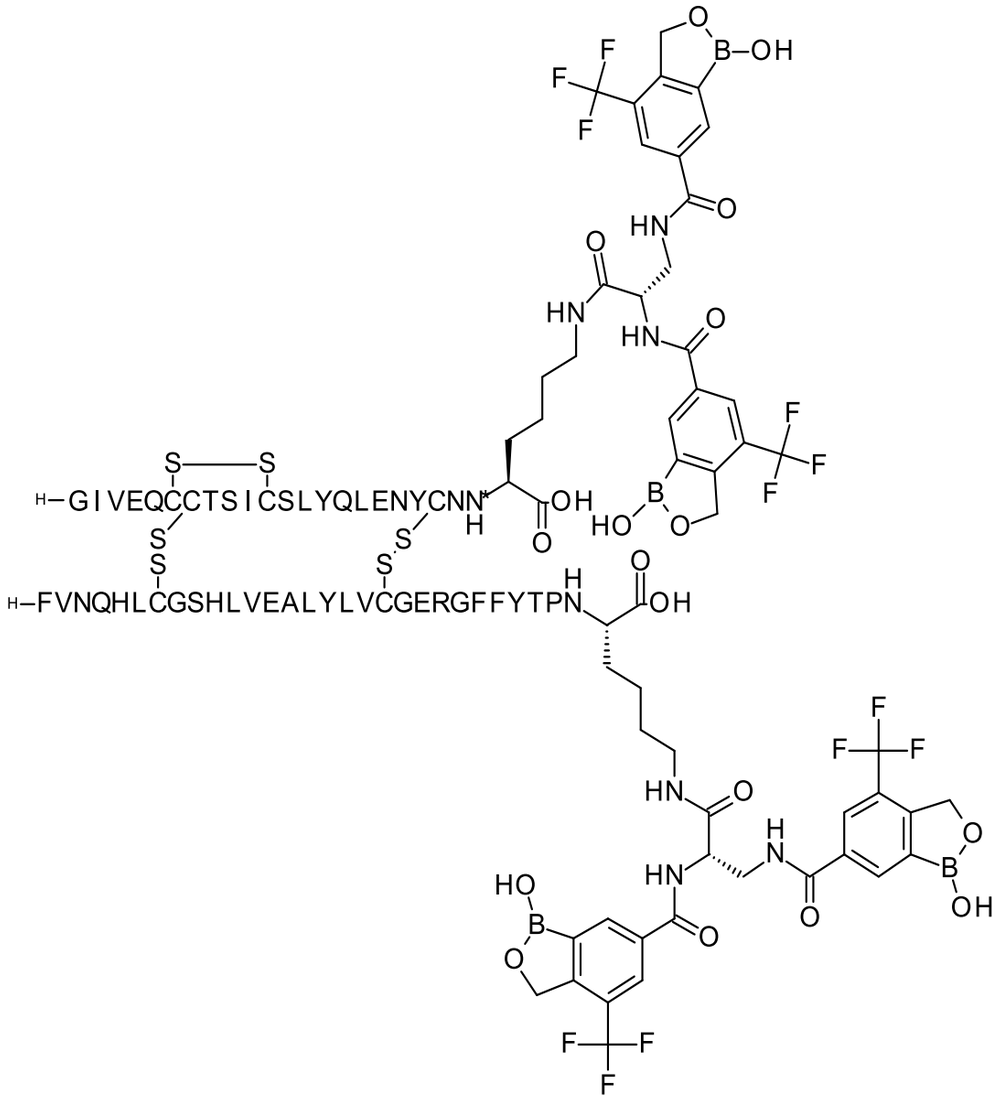
El Ejemplo 194 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 195:



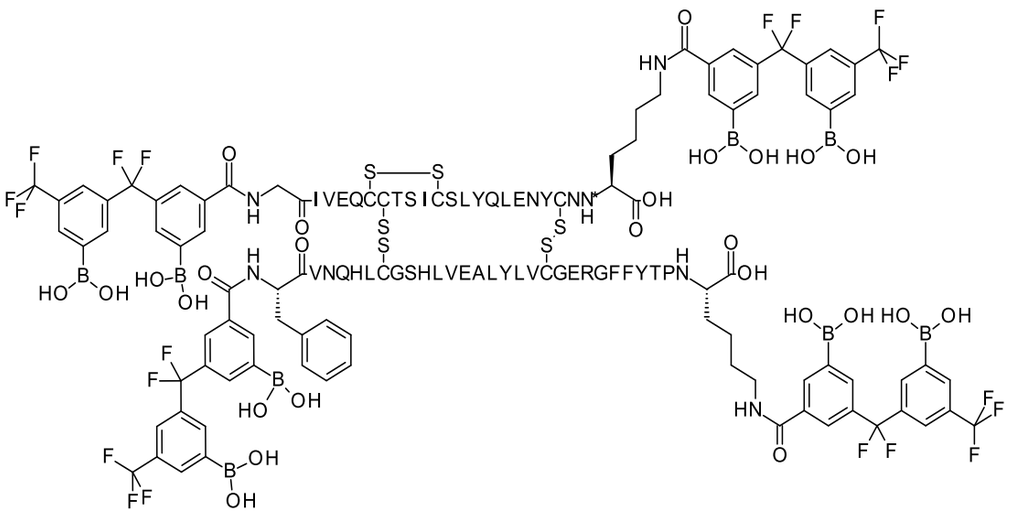
El Ejemplo 195 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 196:



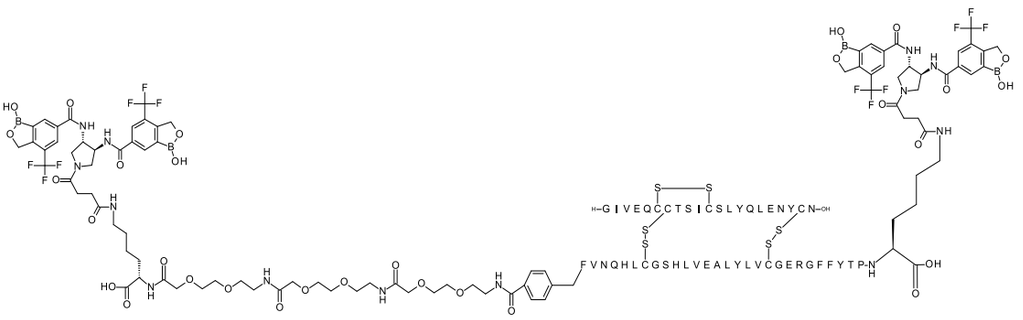
El Ejemplo 196 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 26.

Ejemplo 197:



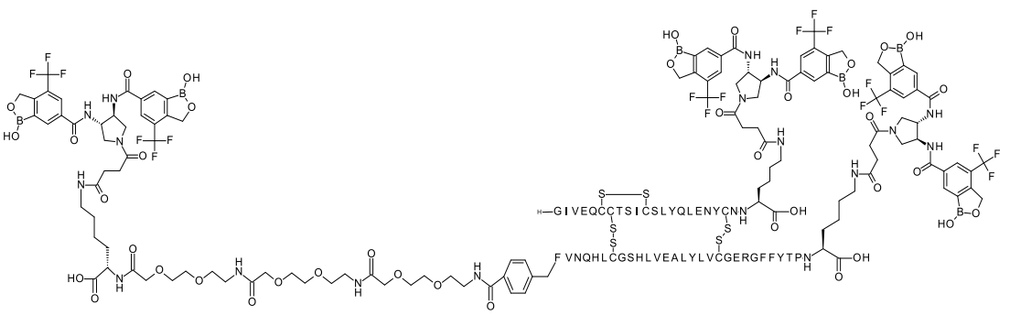
El Ejemplo 197 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 198:



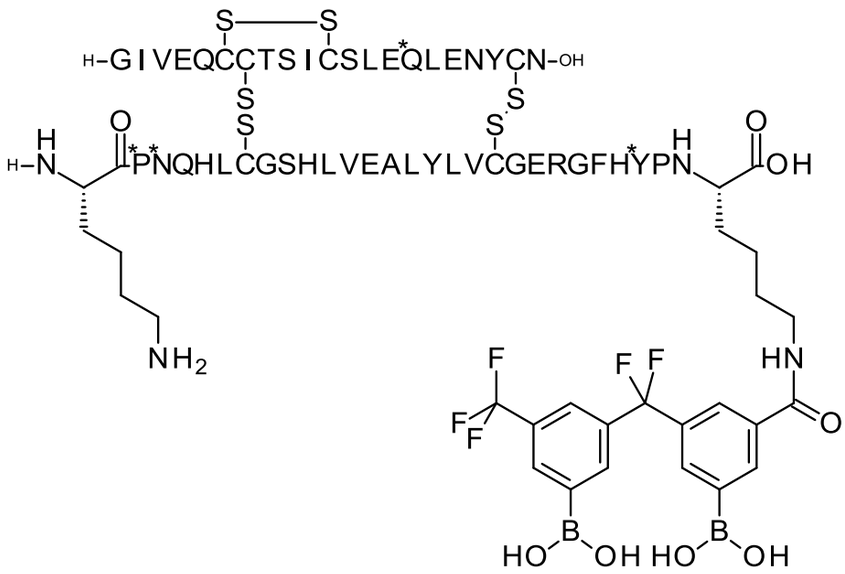
El Ejemplo 198 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 24.

Ejemplo 199:



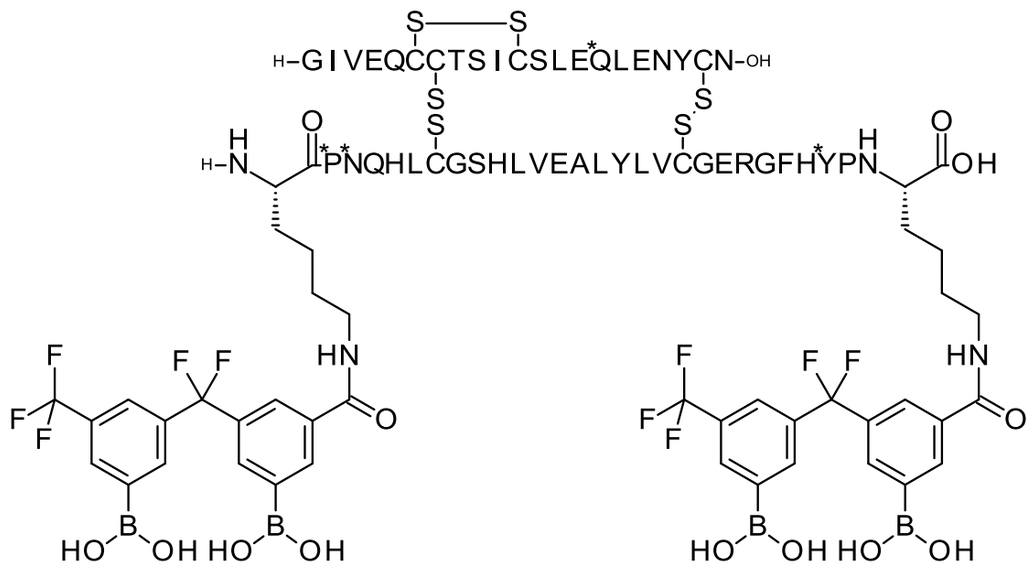
El Ejemplo 199 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 24.

Ejemplo 200:



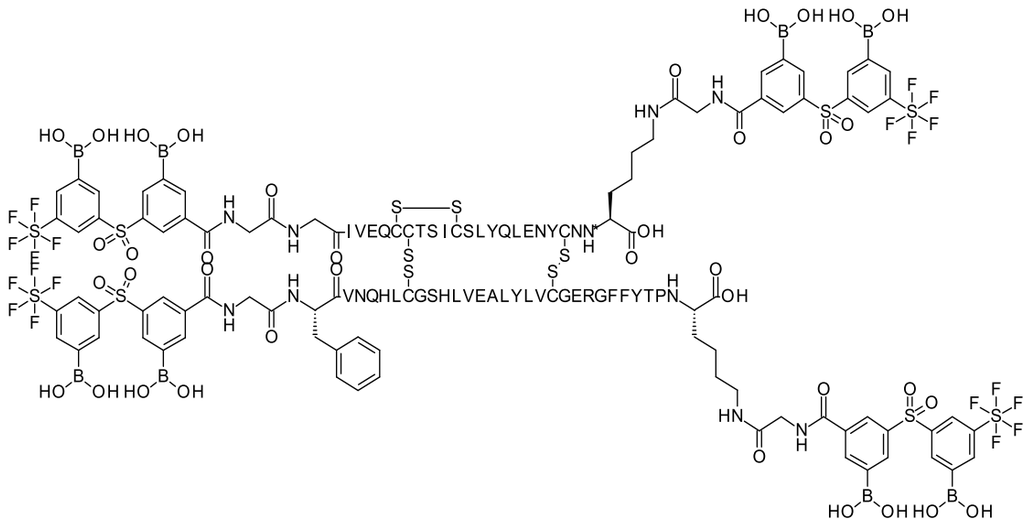
El Ejemplo 200 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 201:



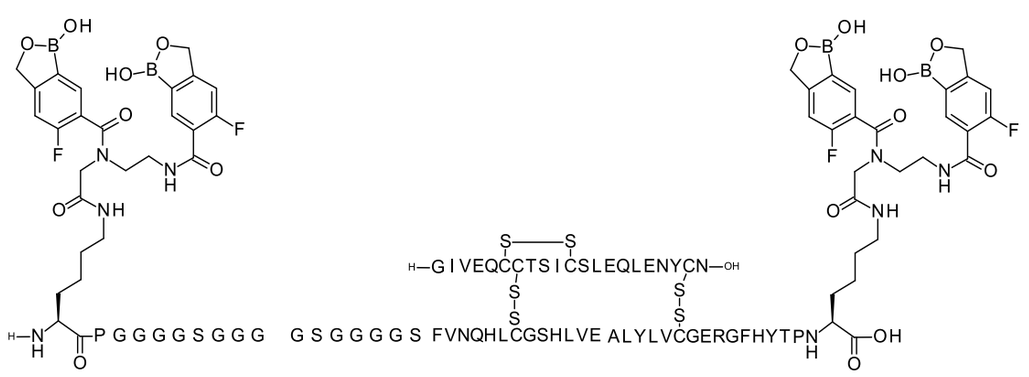
El Ejemplo 201 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 25.

Ejemplo 202:



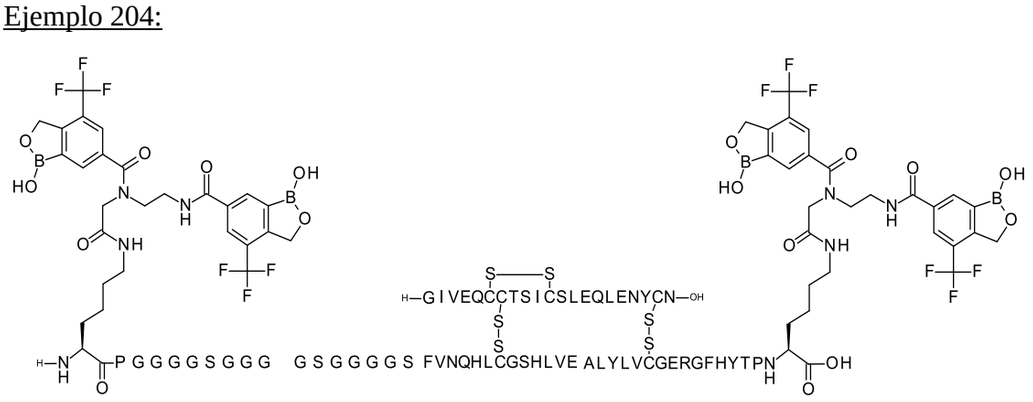
El Ejemplo 202 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 27.

Ejemplo 203:



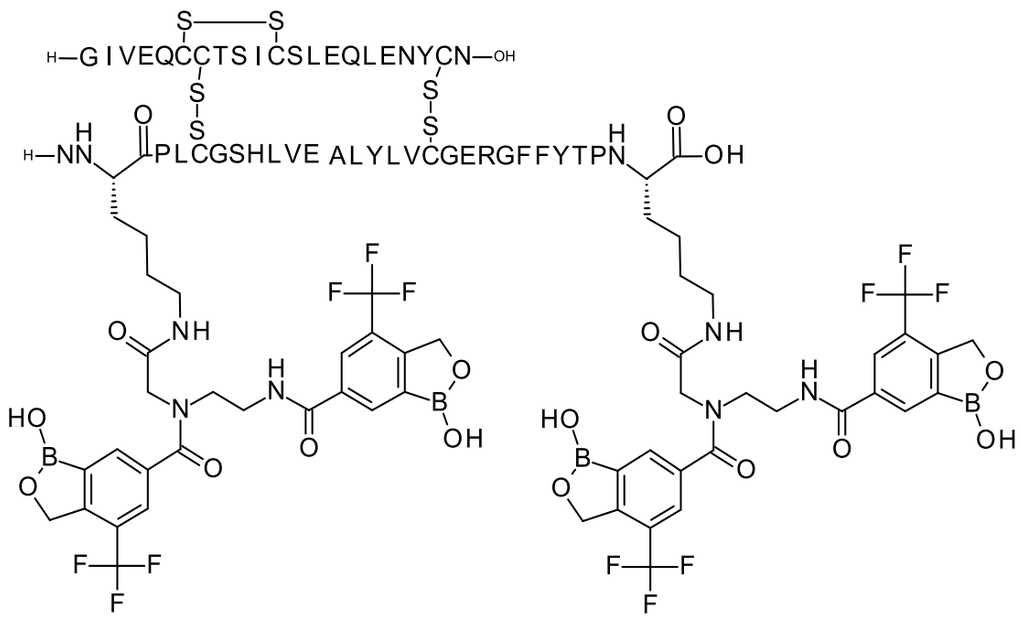
El Ejemplo 203 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 23.

Ejemplo 204:



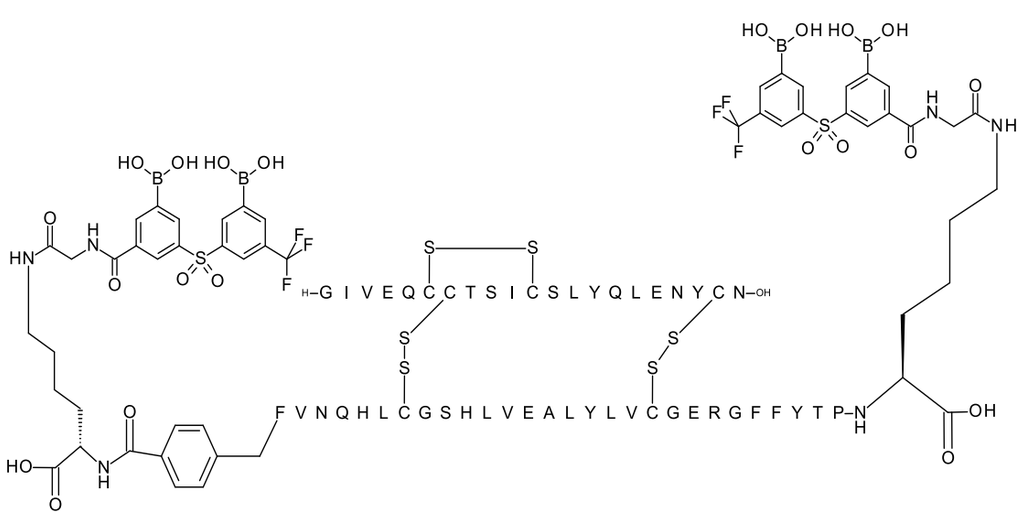
El Ejemplo 204 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 205:



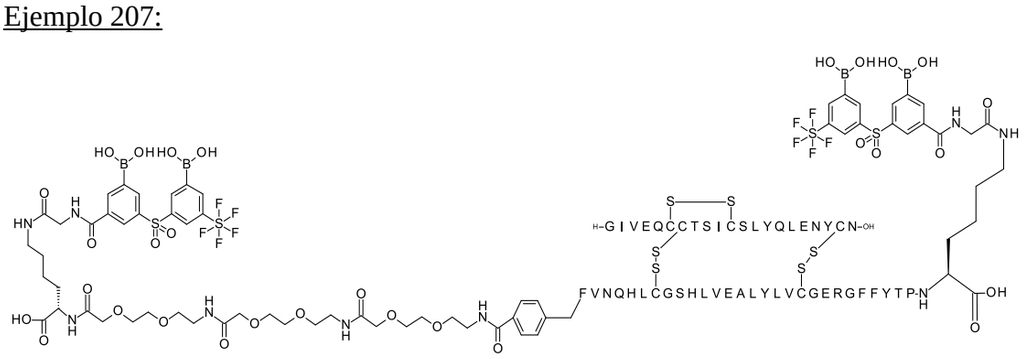
El Ejemplo 205 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 206:



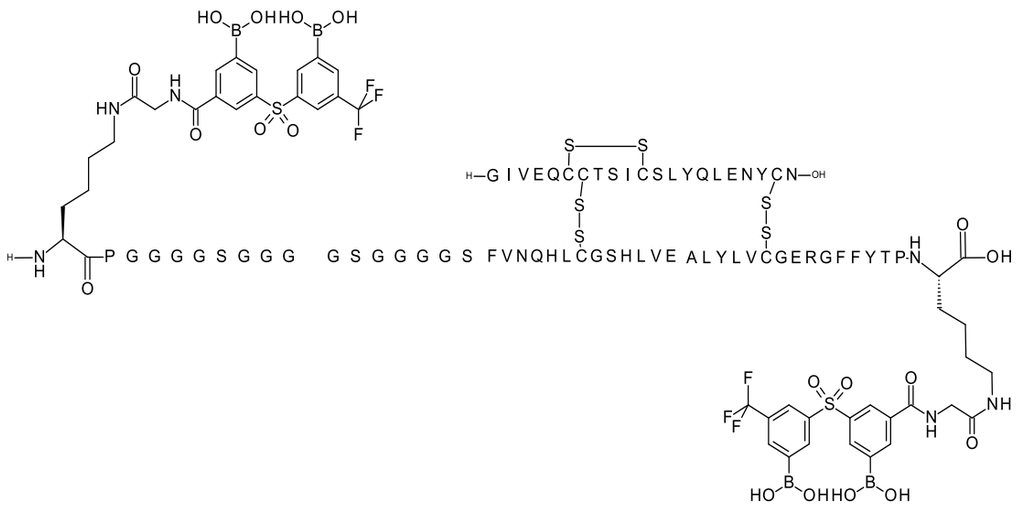
El Ejemplo 206 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 207:



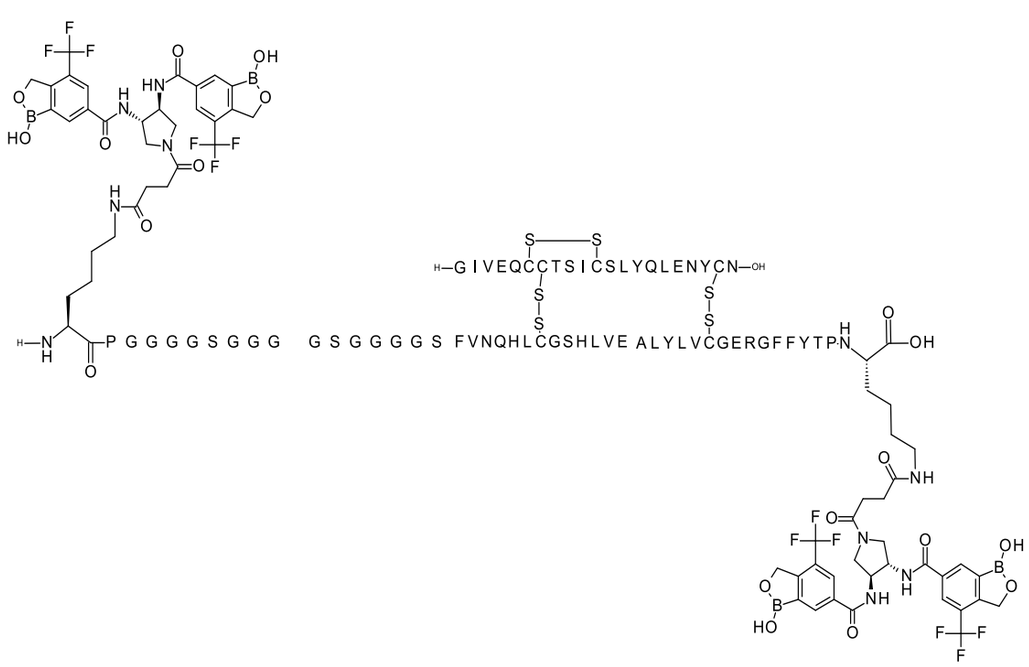
El Ejemplo 207 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 27.

Ejemplo 208:



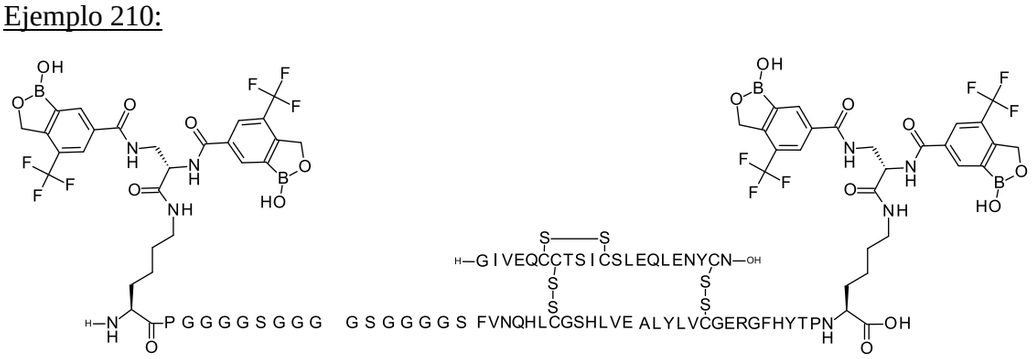
El Ejemplo 208 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 209:



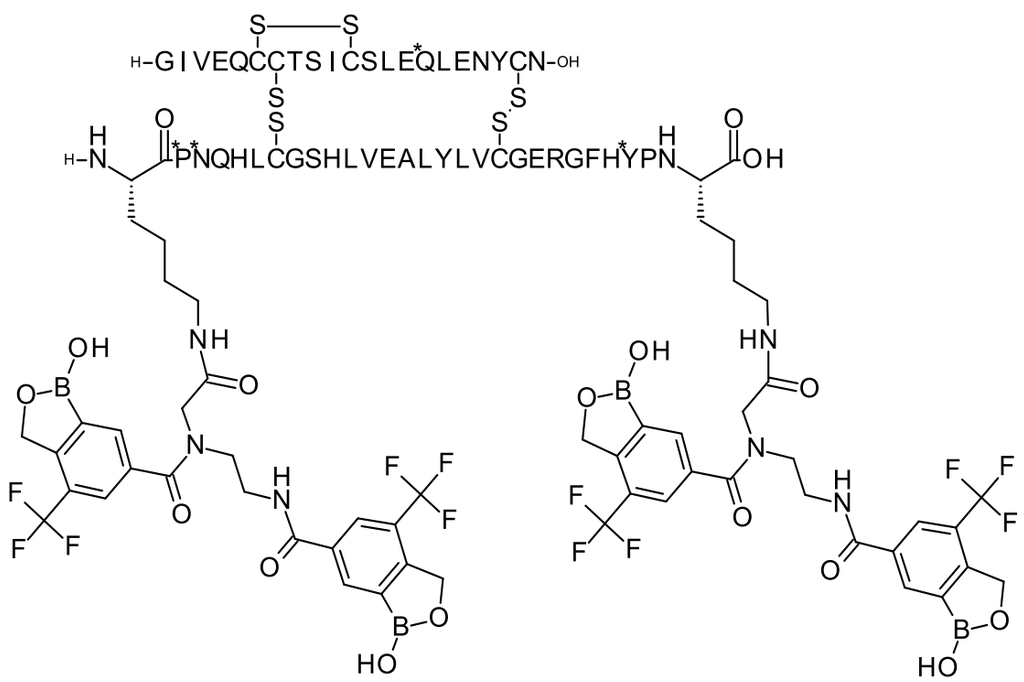
El Ejemplo 209 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 24.

Ejemplo 210:



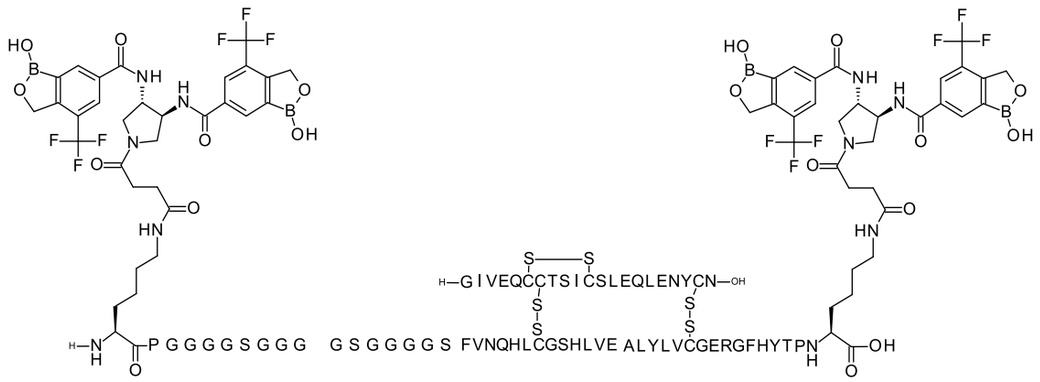
El Ejemplo 210 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 26.

Ejemplo 211:



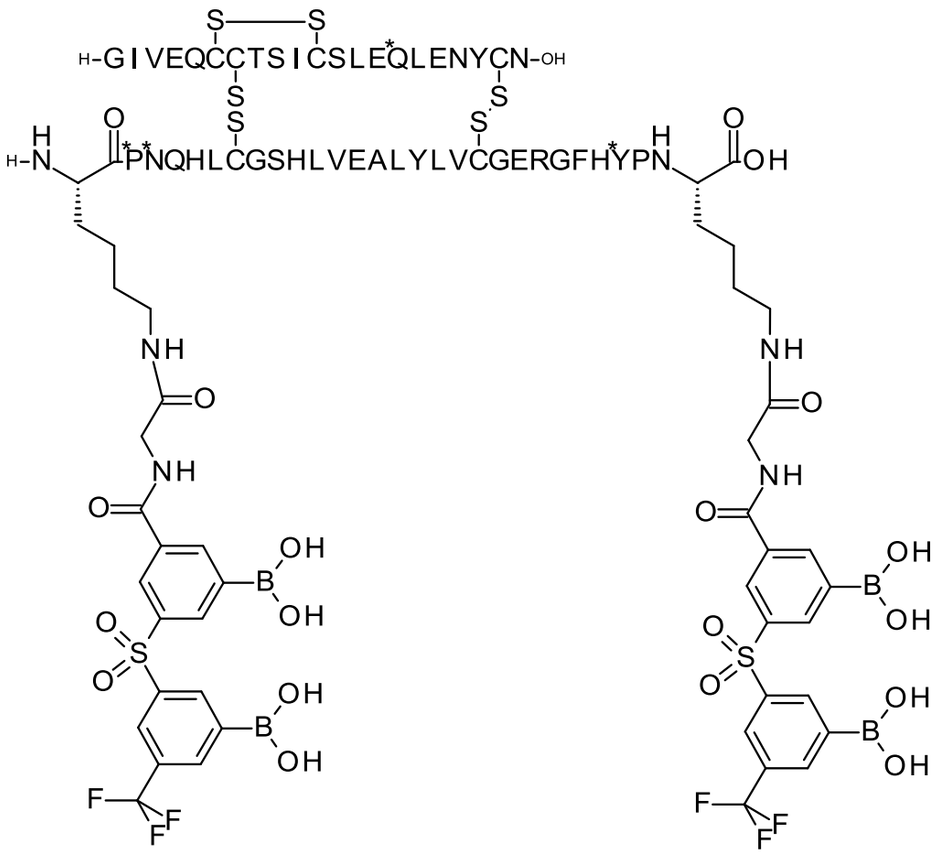
El Ejemplo 211 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 212:



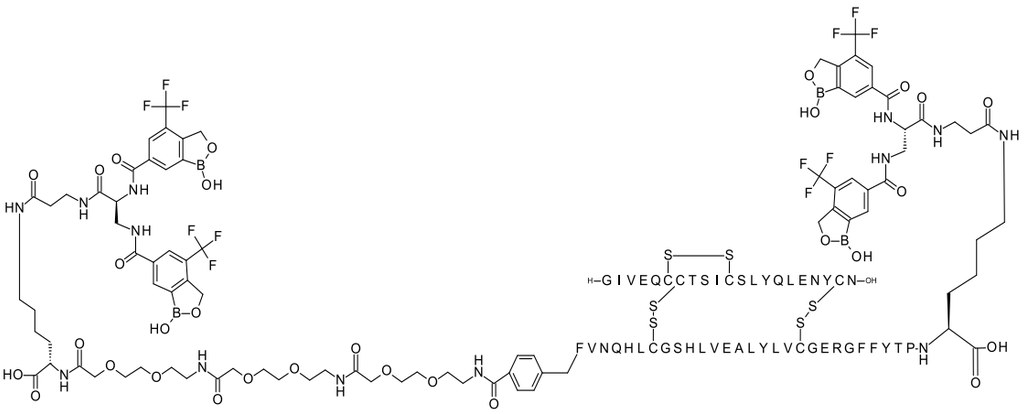
El Ejemplo 212 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 24.

Ejemplo 213:



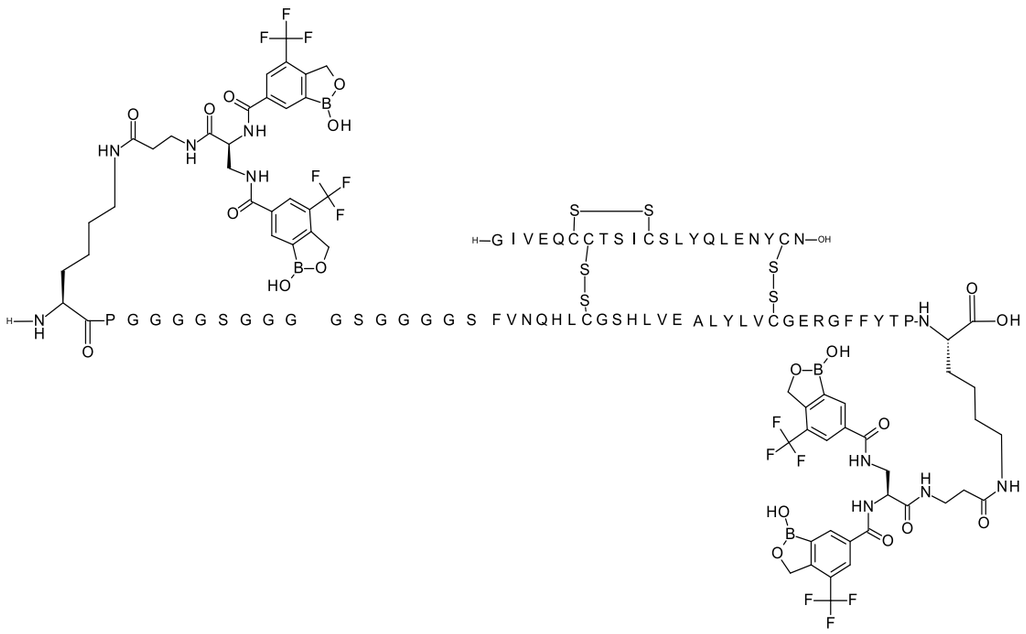
El Ejemplo 213 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 214:



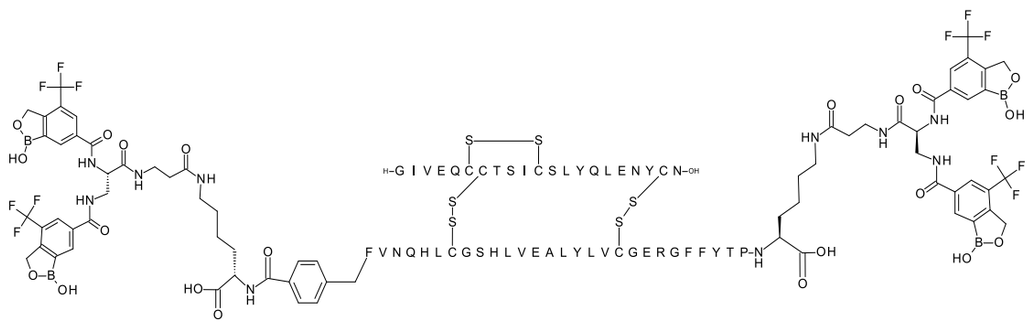
El Ejemplo 214 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 215:



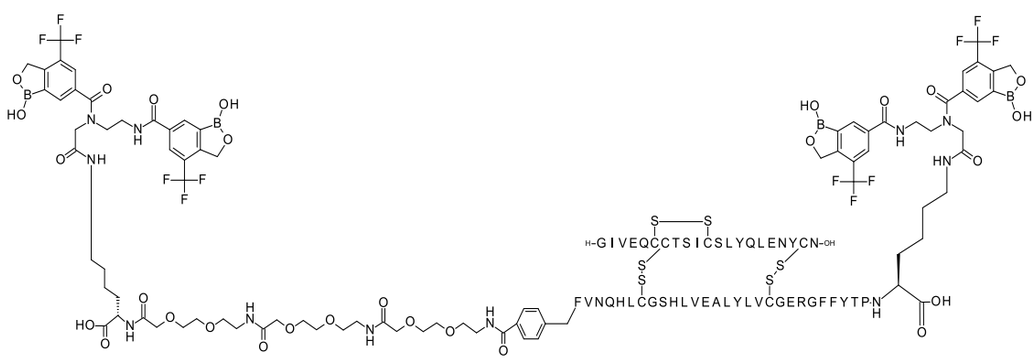
El Ejemplo 215 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 216:



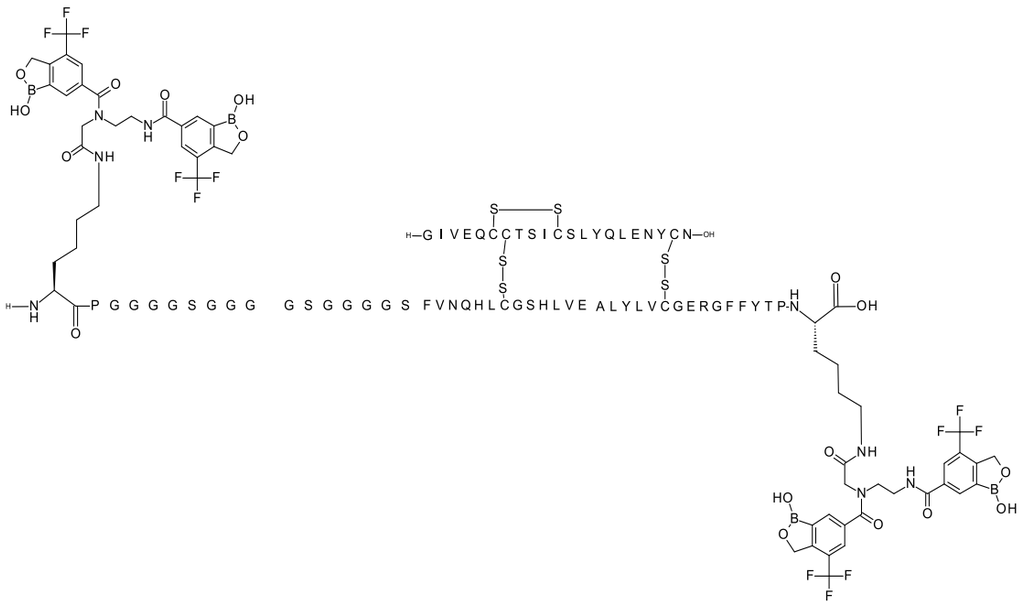
El Ejemplo 216 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 217:



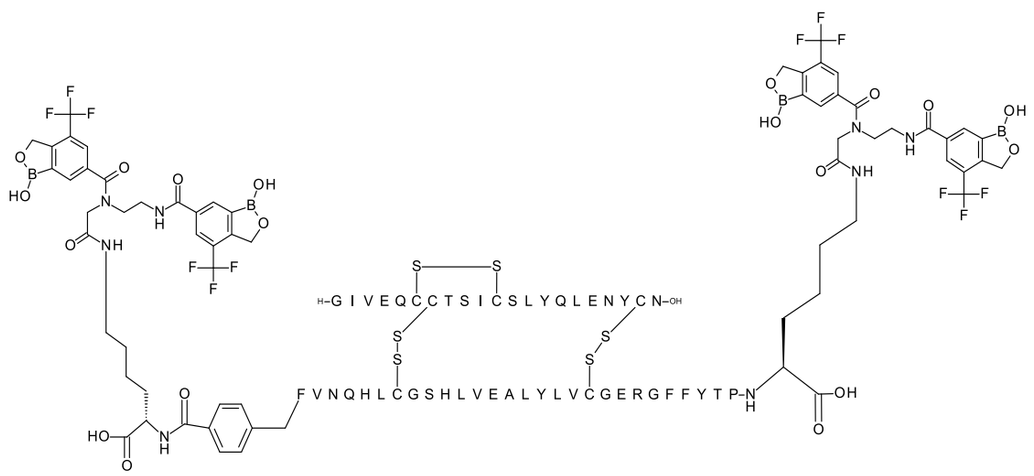
El Ejemplo 217 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 218:



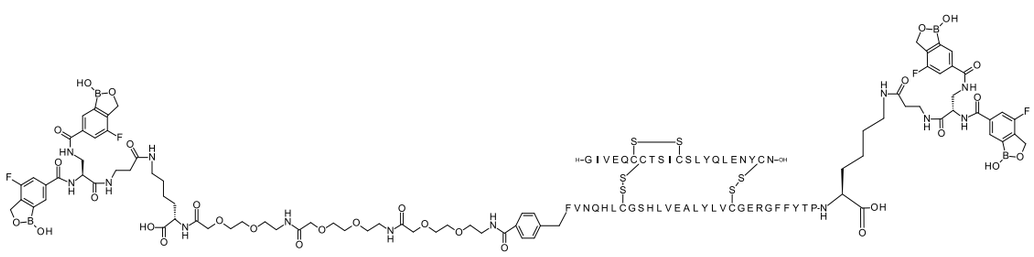
El Ejemplo 218 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 219:



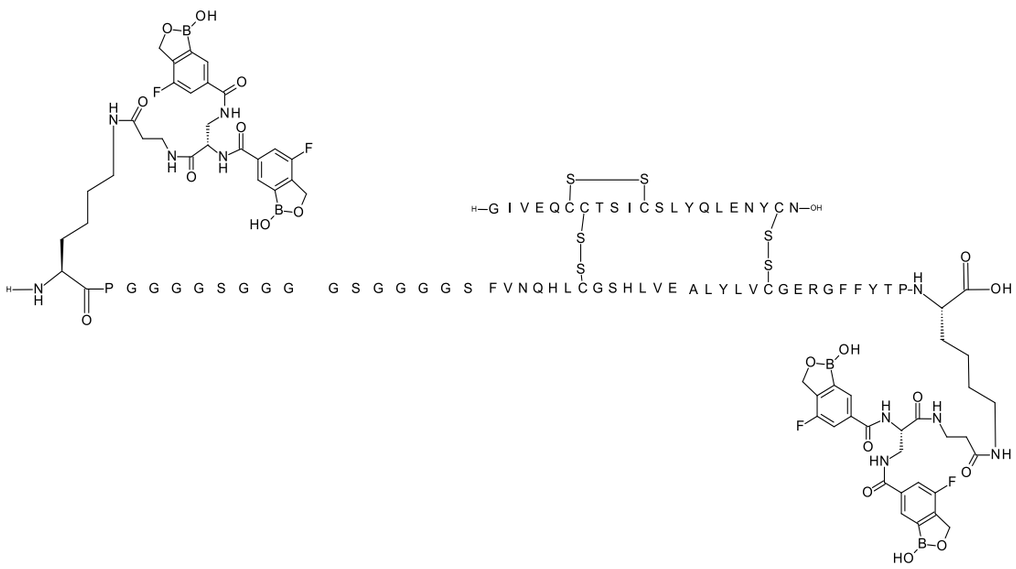
El Ejemplo 219 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 220:



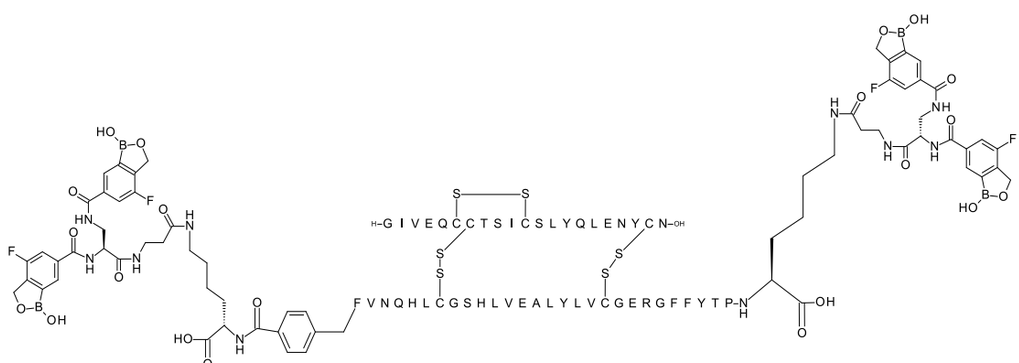
El Ejemplo 220 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 221:



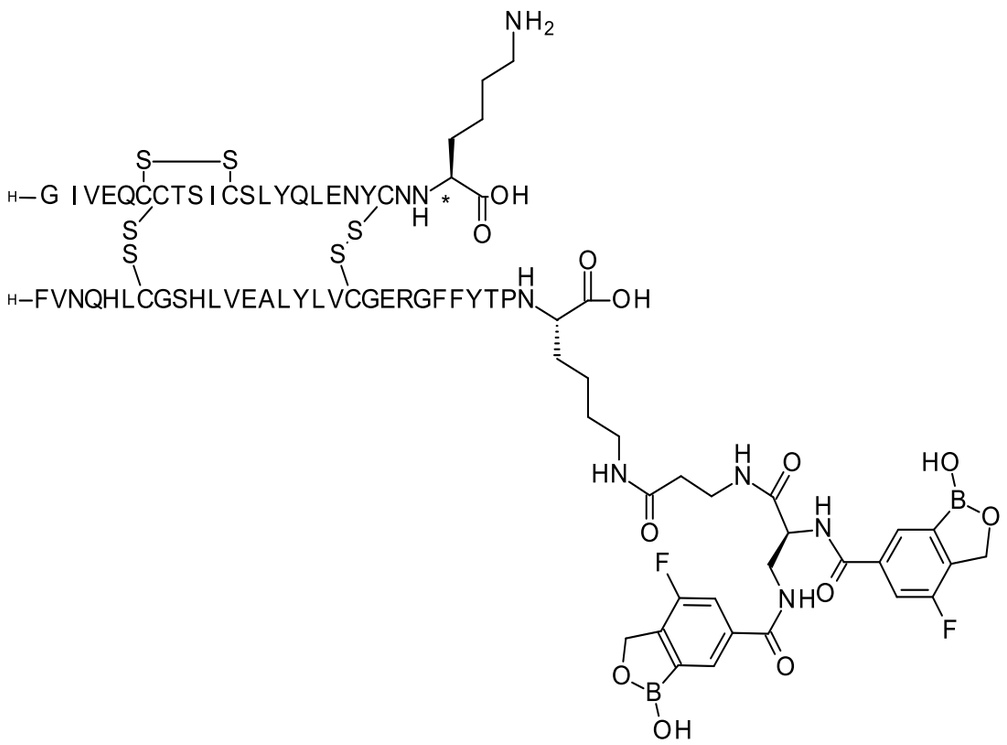
El Ejemplo 221 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 222:



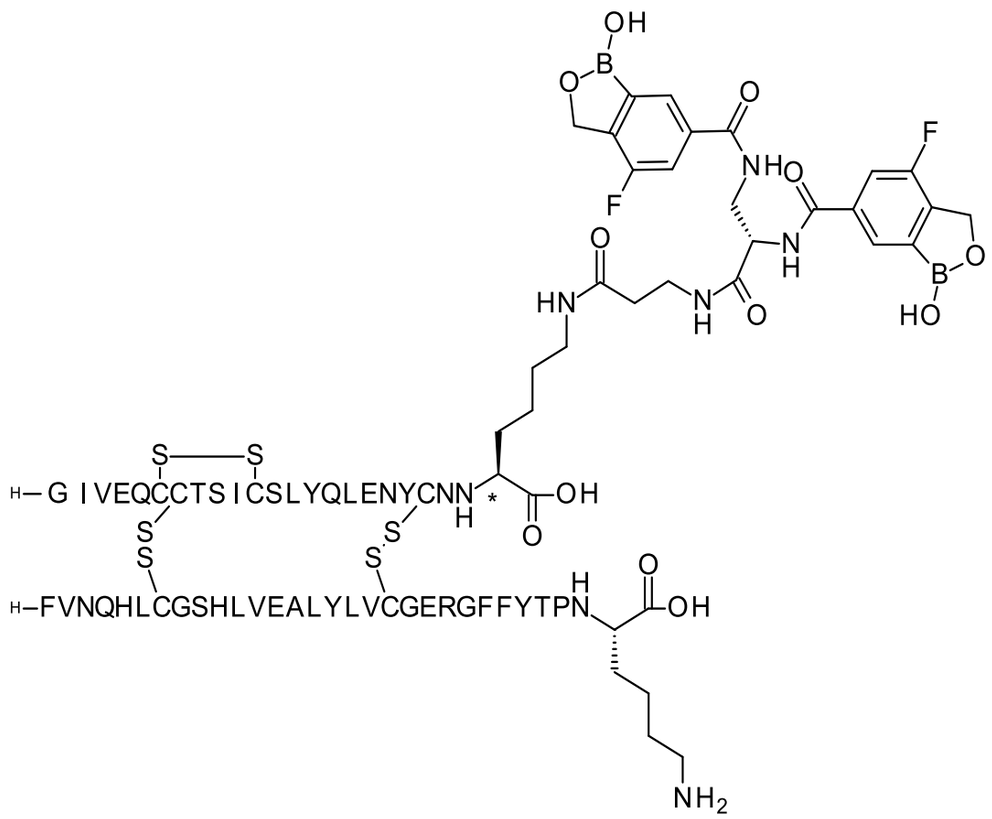
El Ejemplo 222 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 223:



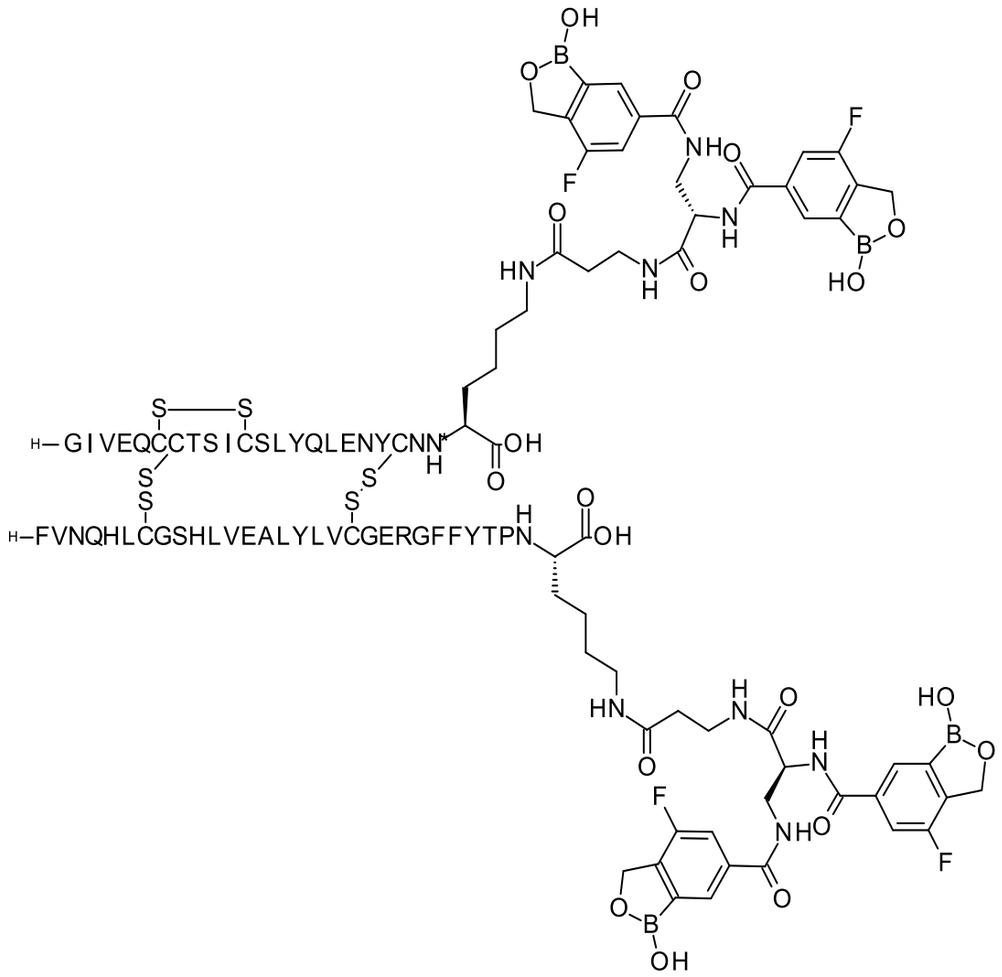
El Ejemplo 223 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 224:



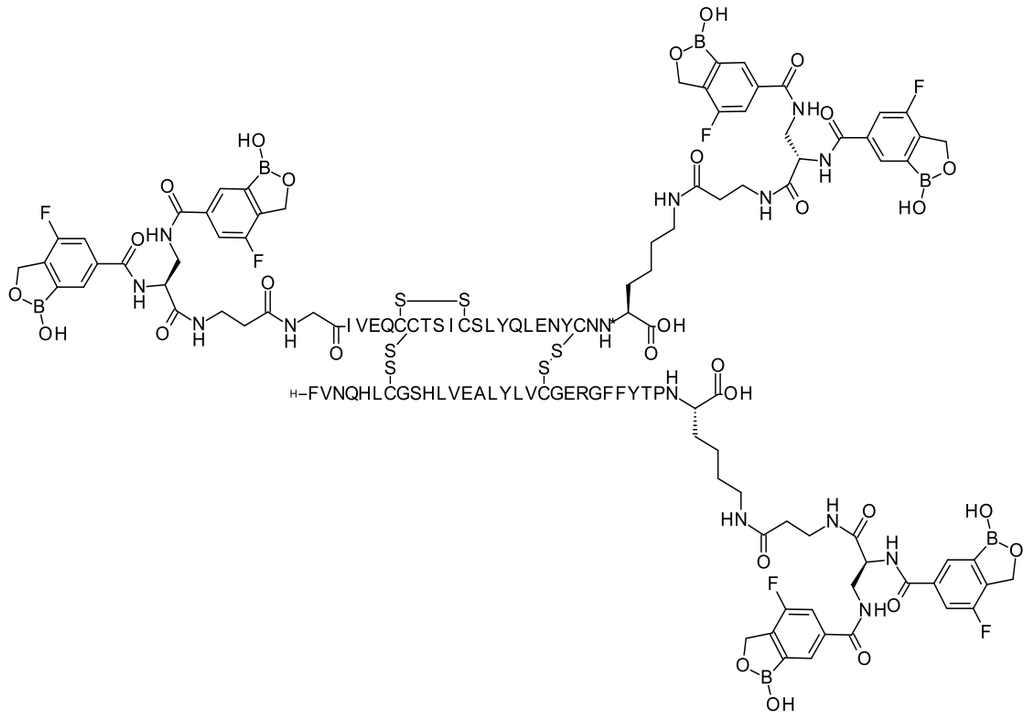
El Ejemplo 224 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 225:



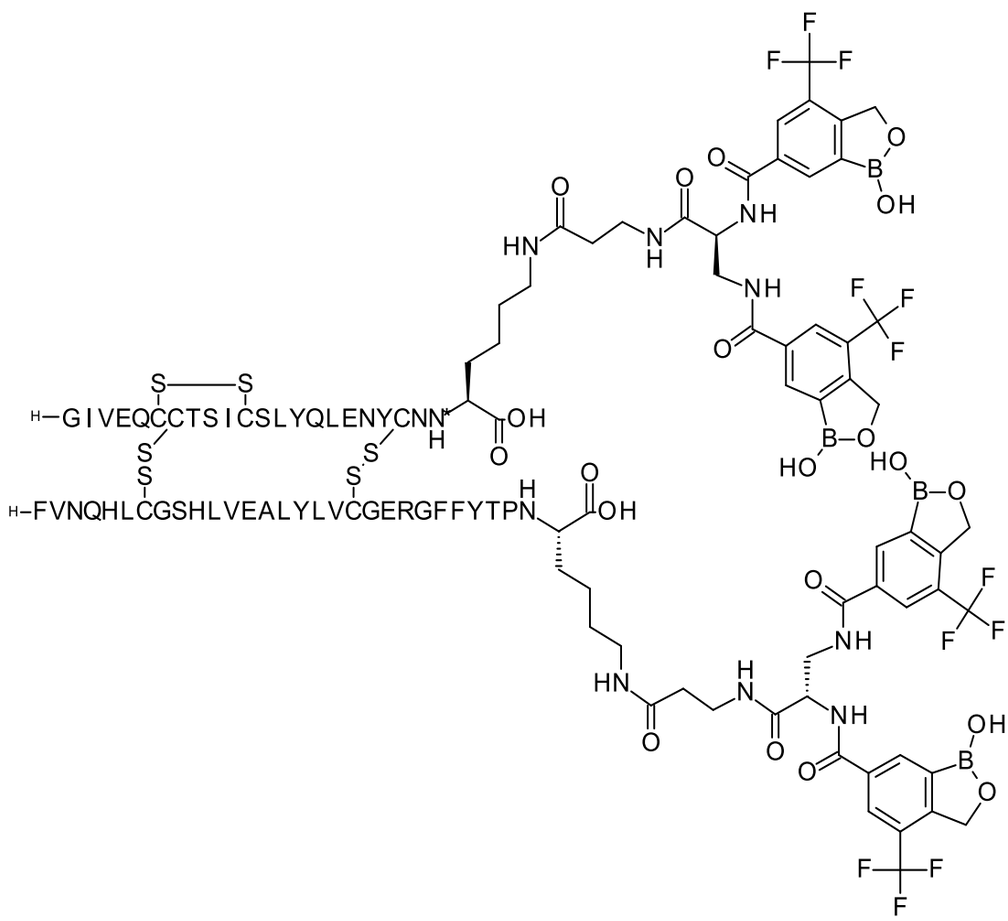
El Ejemplo 225 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 226:



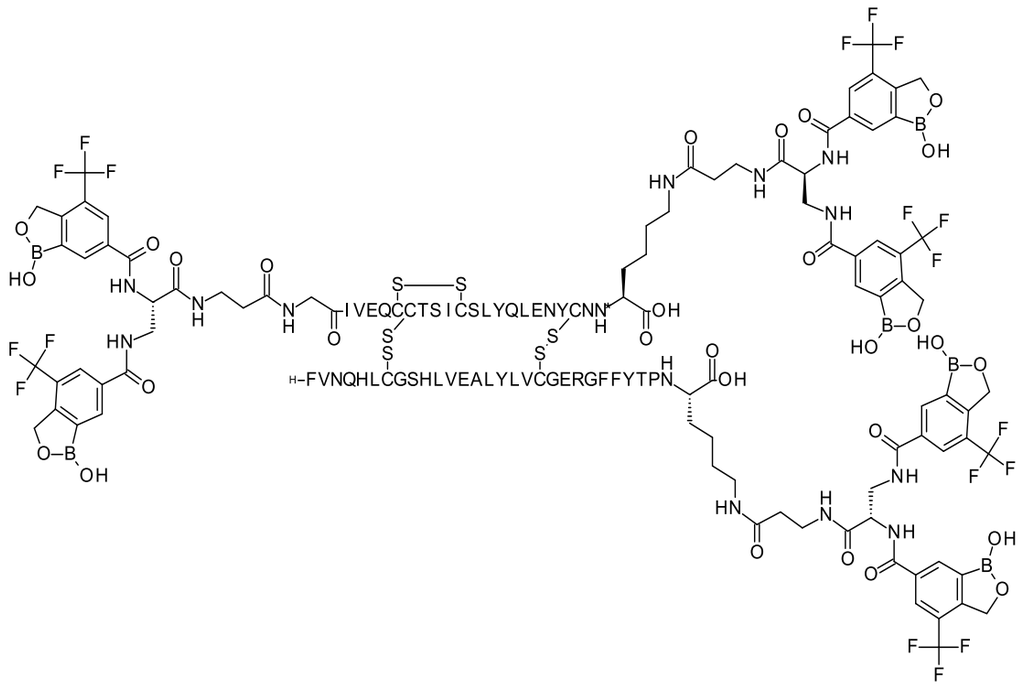
El Ejemplo 226 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 227:



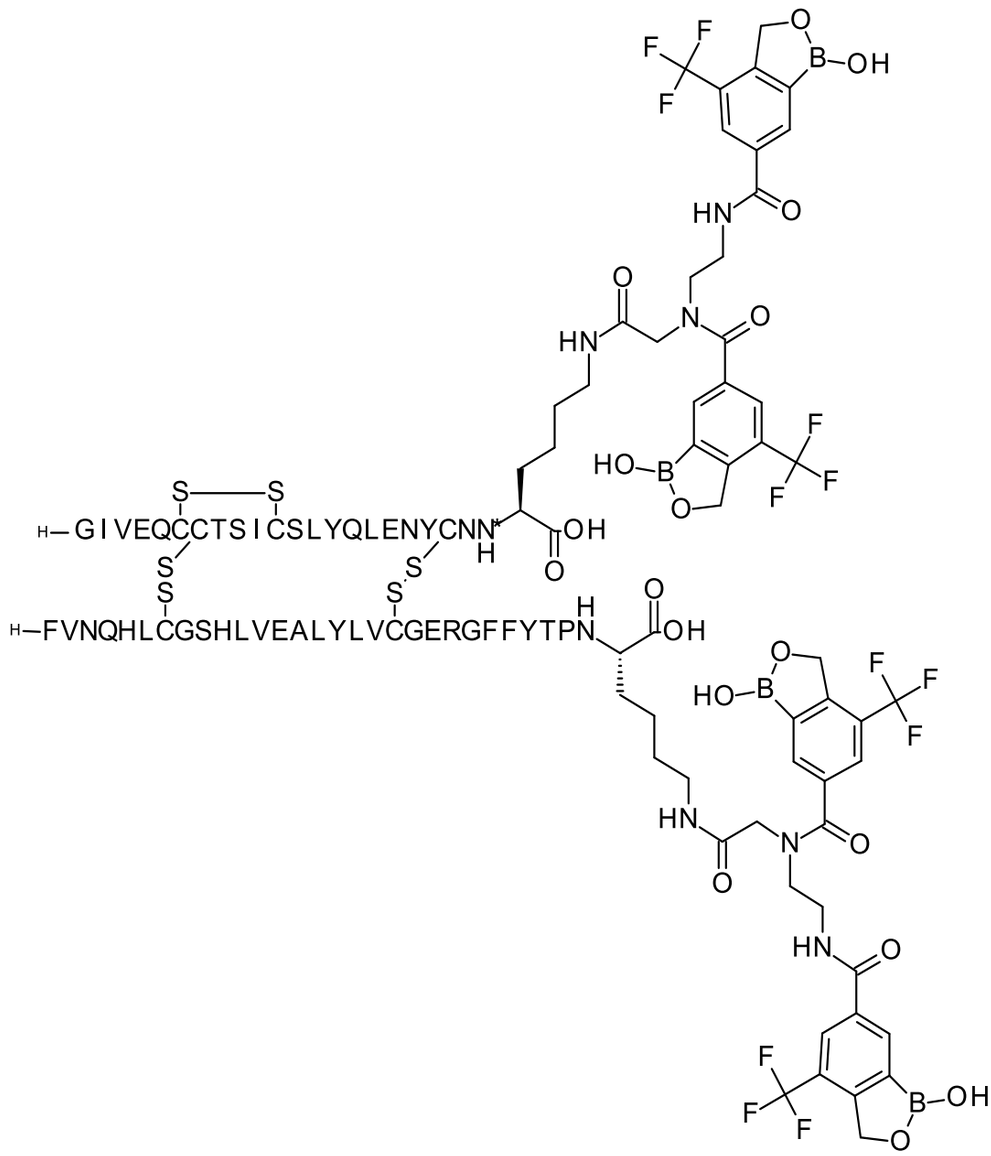
El Ejemplo 227 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 228:



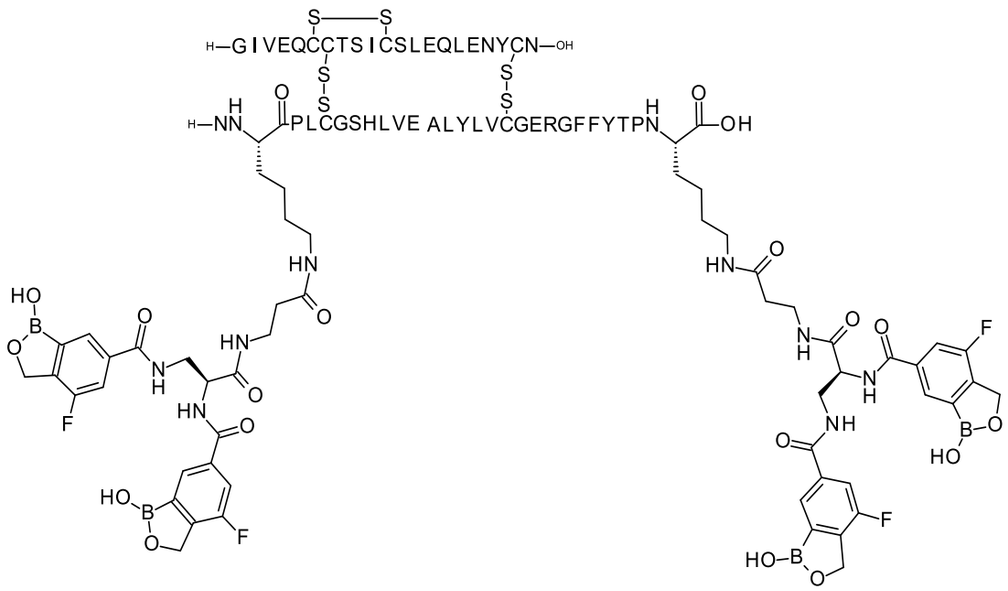
El Ejemplo 228 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 229:



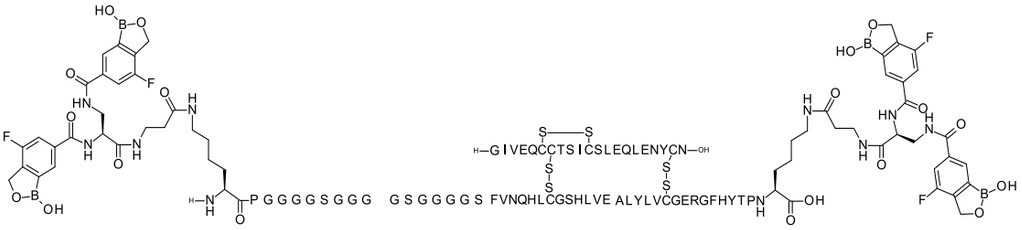
El Ejemplo 229 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 230:



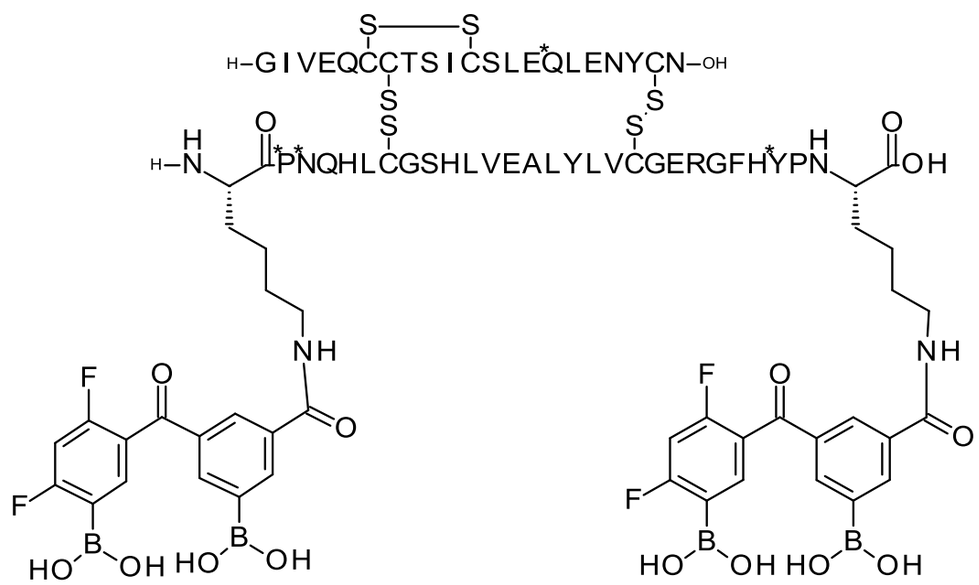
El Ejemplo 230 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 231:



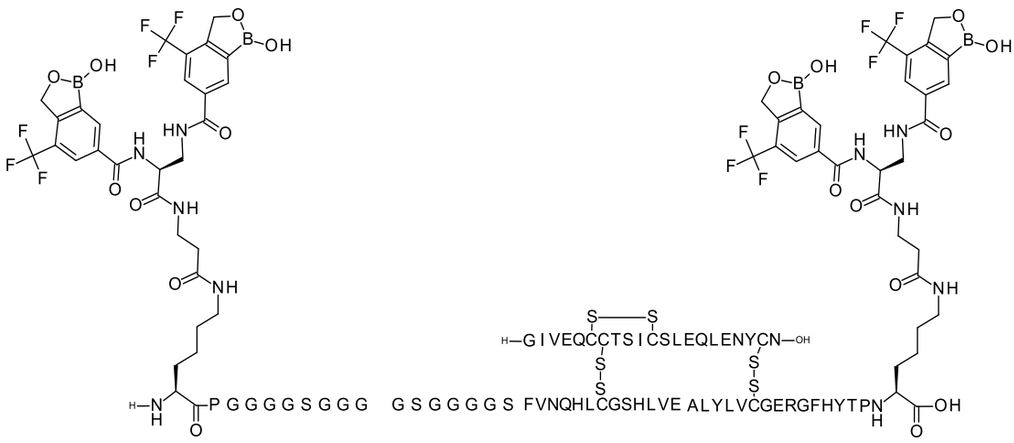
El Ejemplo 231 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 232:



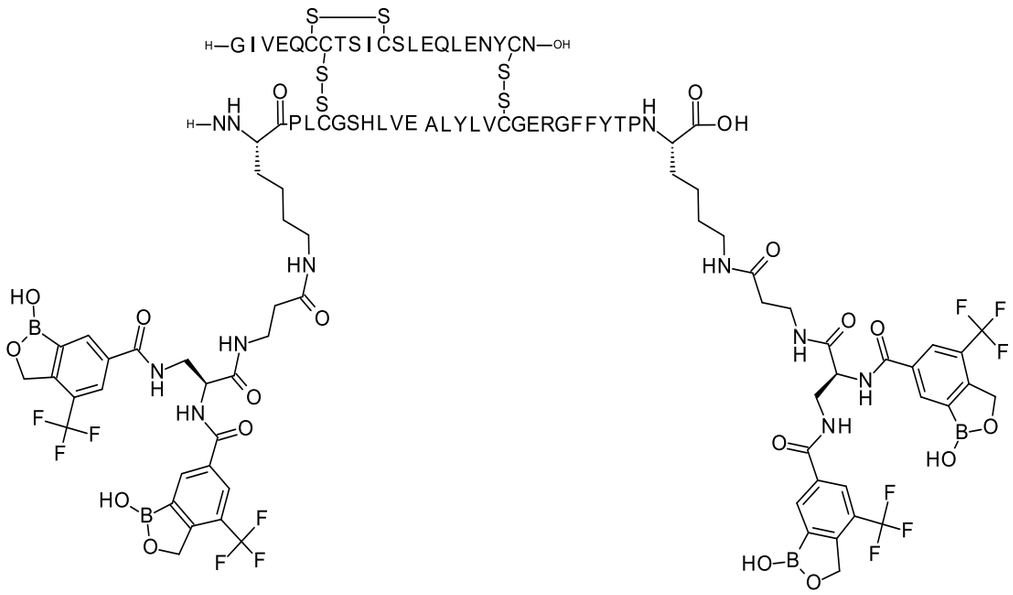
El Ejemplo 232 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 20.

Ejemplo 233:



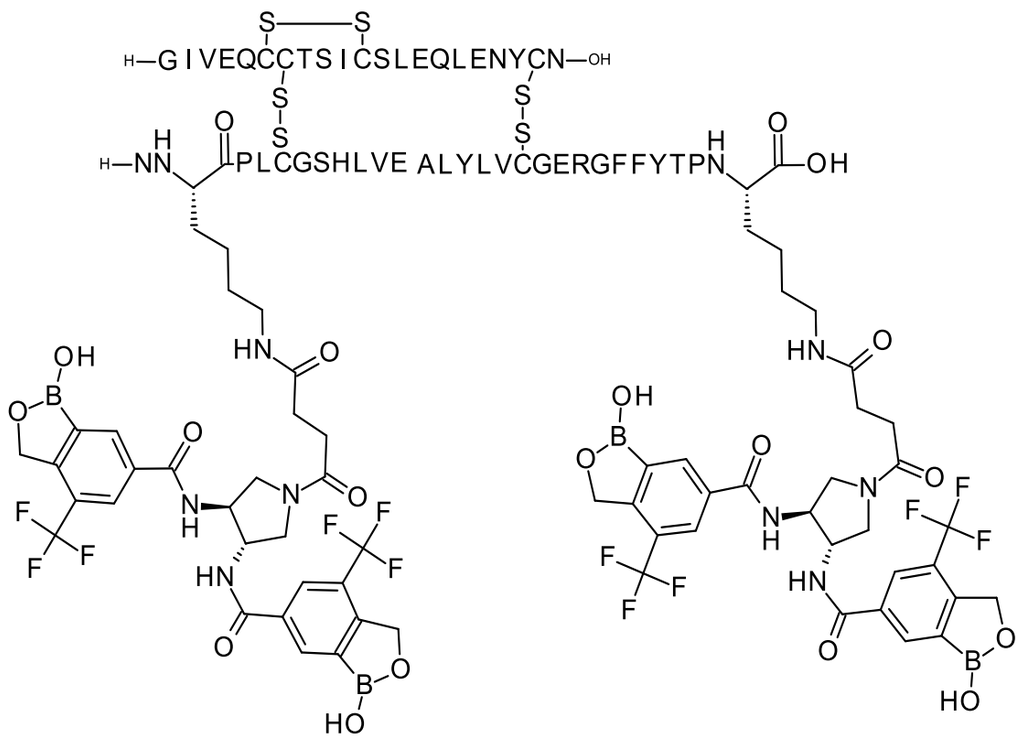
El Ejemplo 233 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 234:



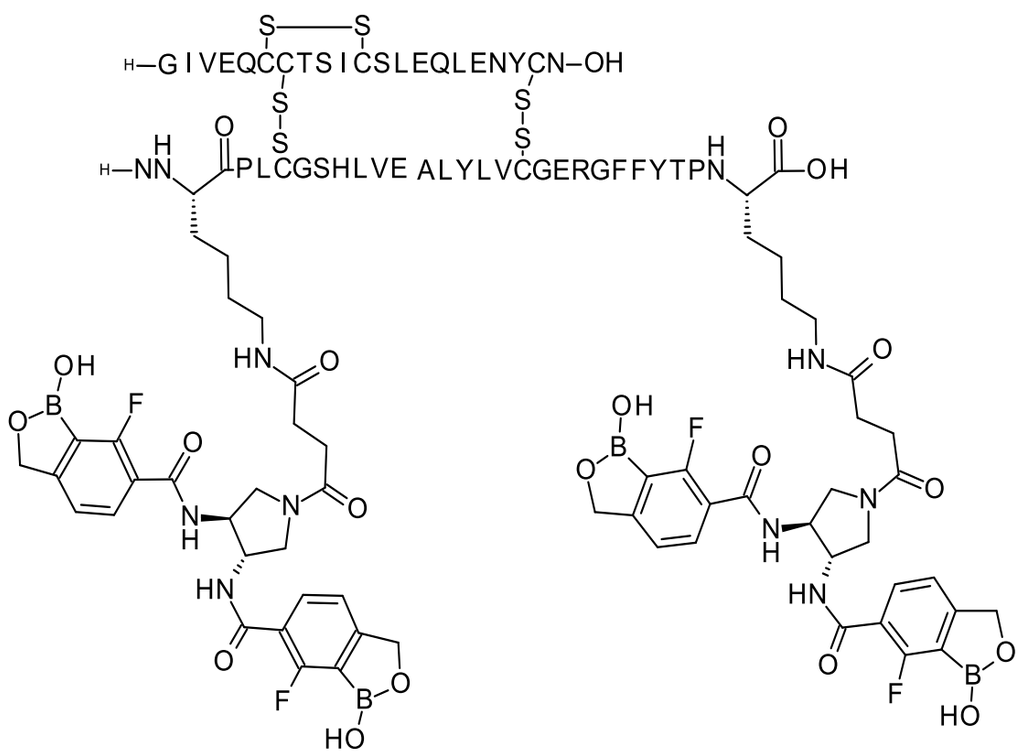
El Ejemplo 234 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 235:



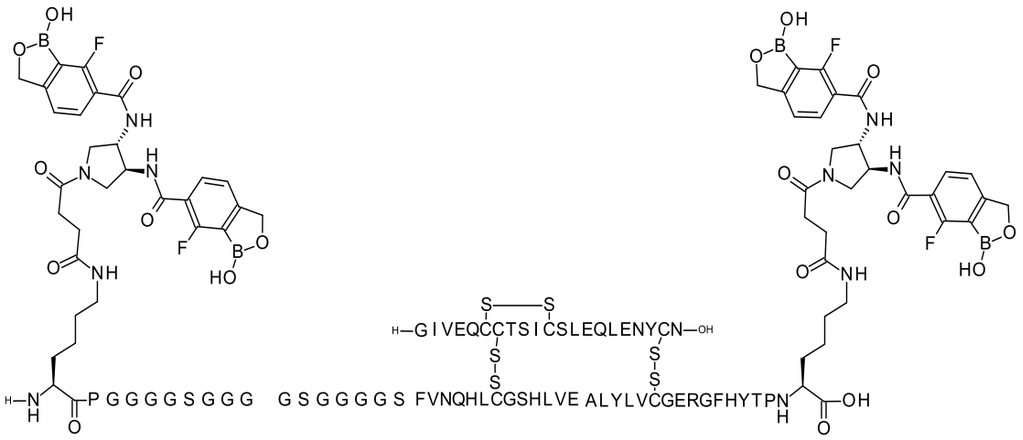
El Ejemplo 235 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 24.

Ejemplo 236:



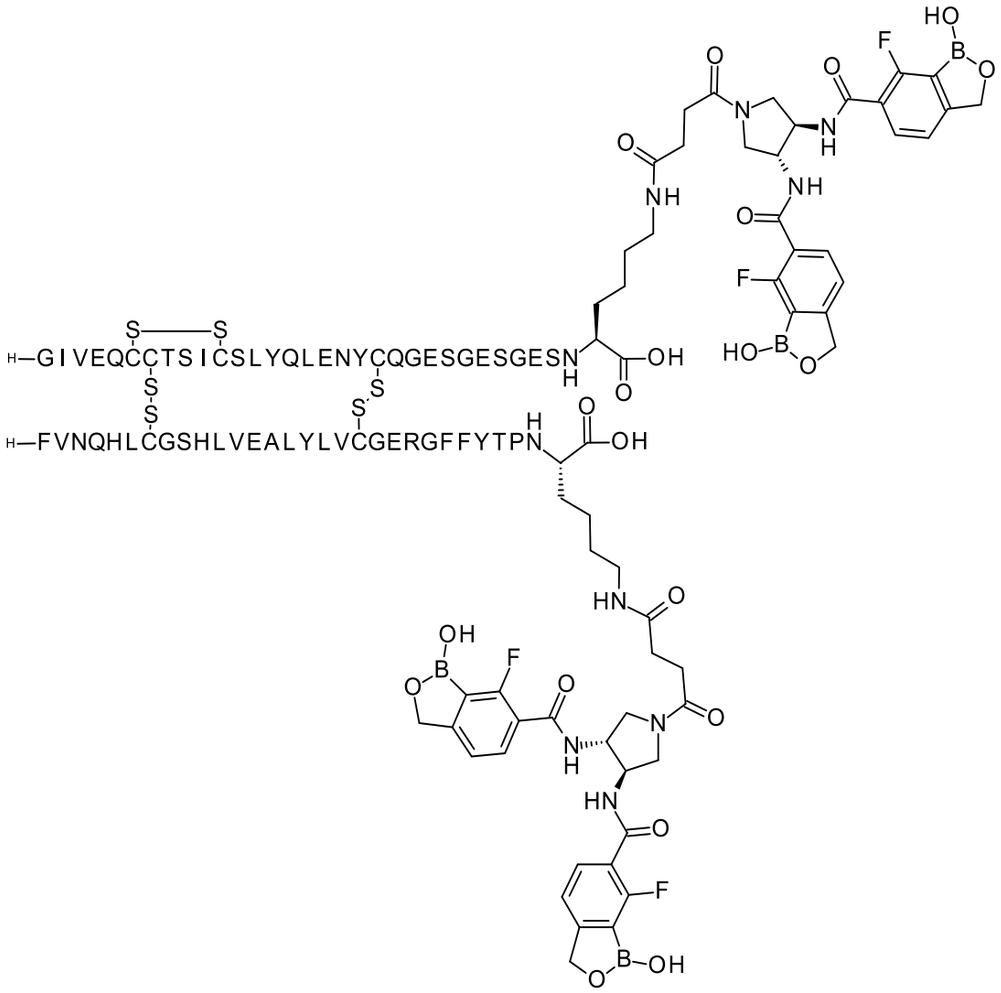
El Ejemplo 236 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 31.

Ejemplo 237:



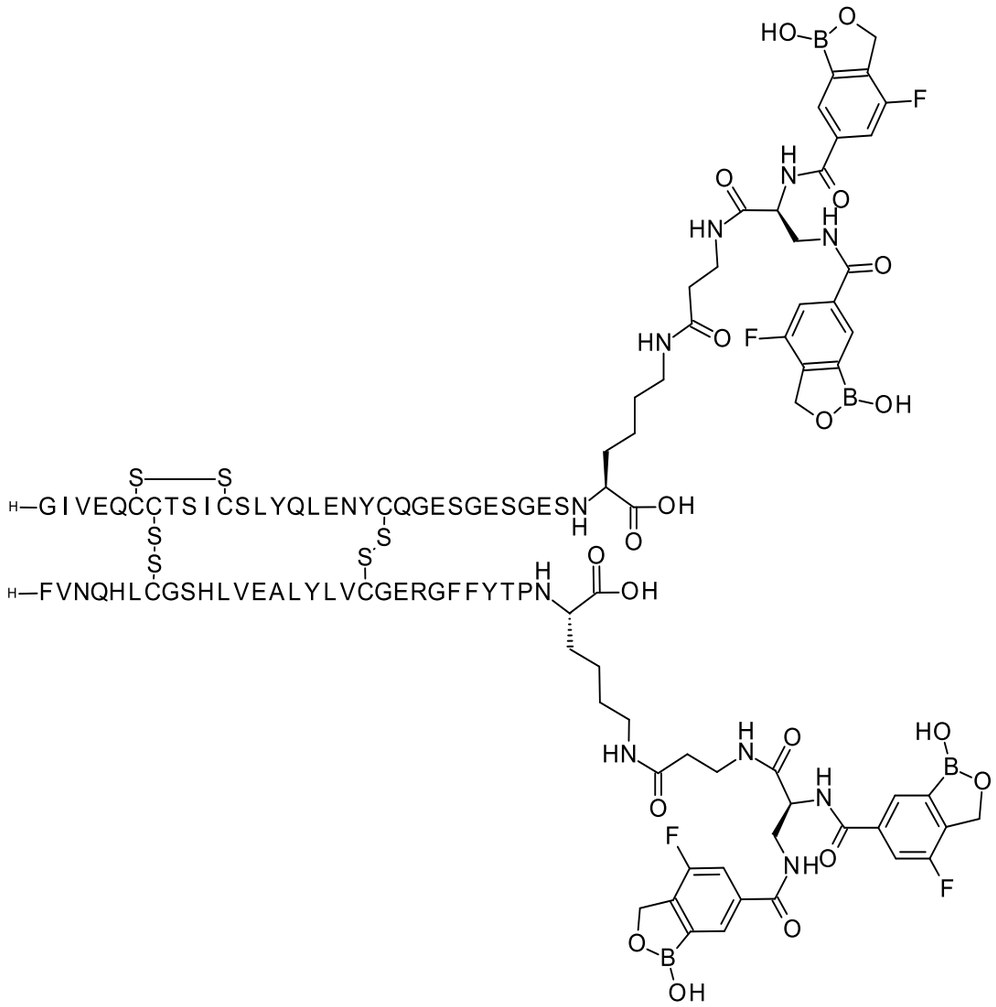
El Ejemplo 237 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 31.

Ejemplo 238:



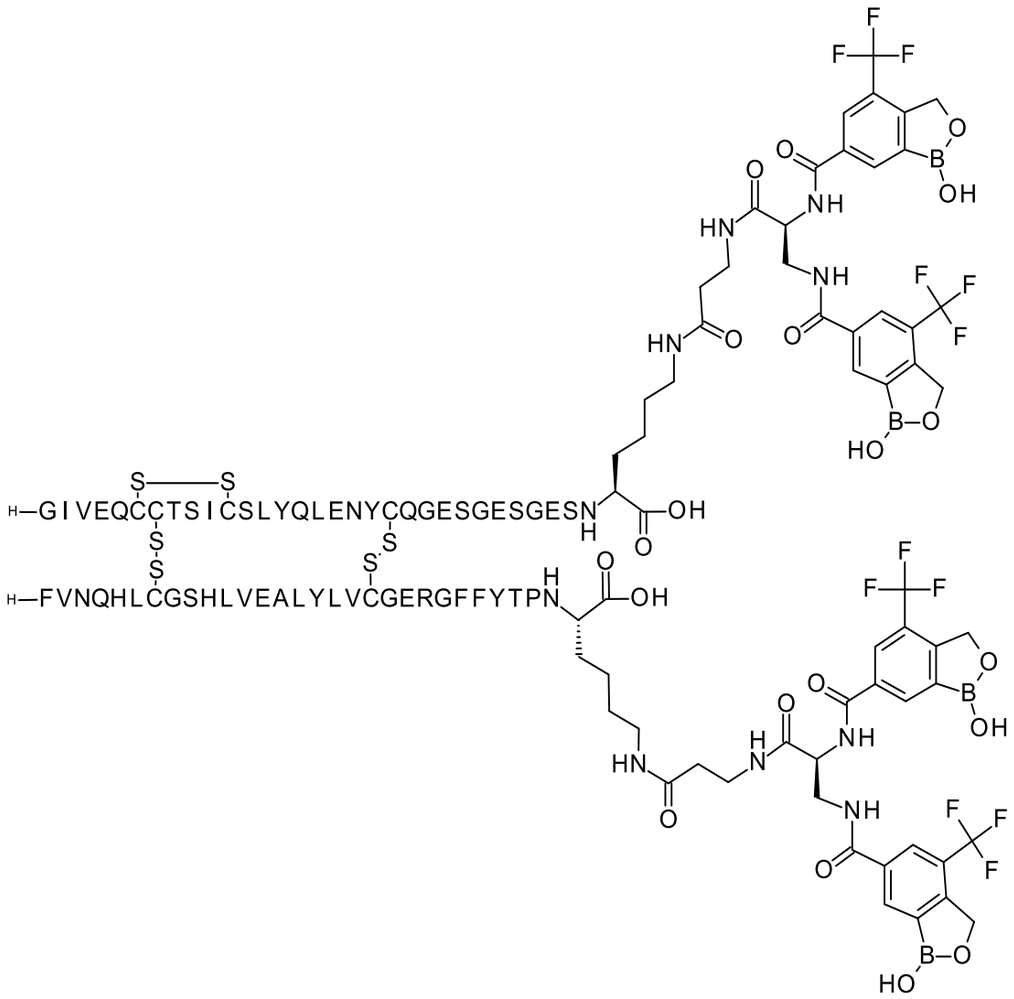
El Ejemplo 238 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 31.

Ejemplo 239:



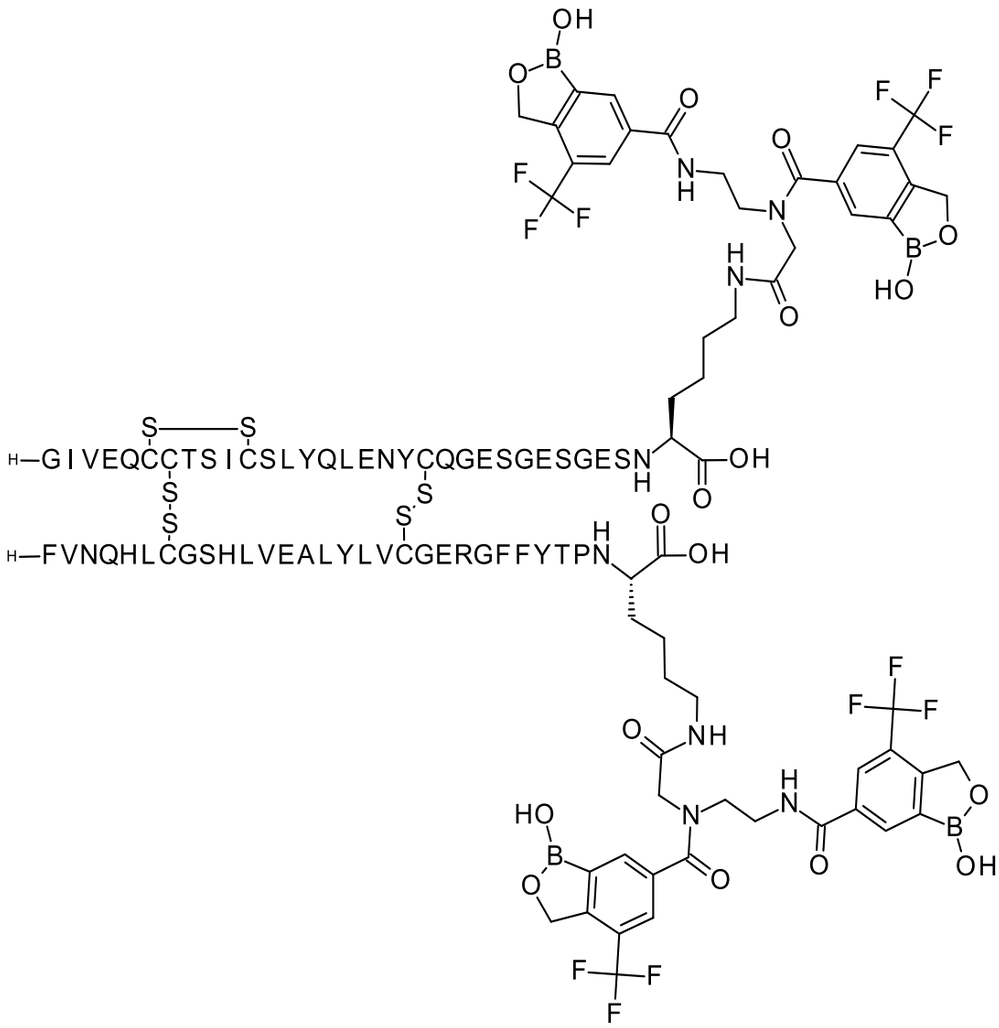
El Ejemplo 239 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 240:



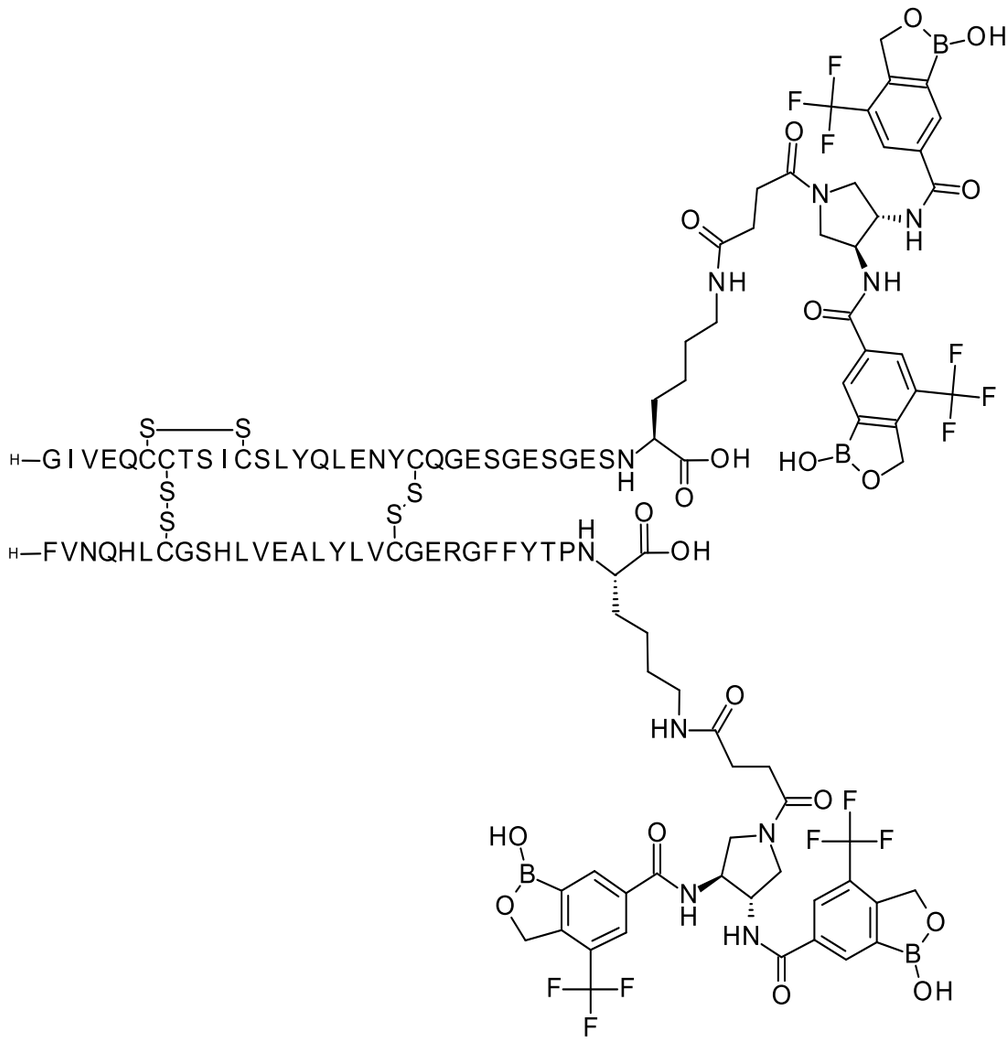
El Ejemplo 240 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 241:



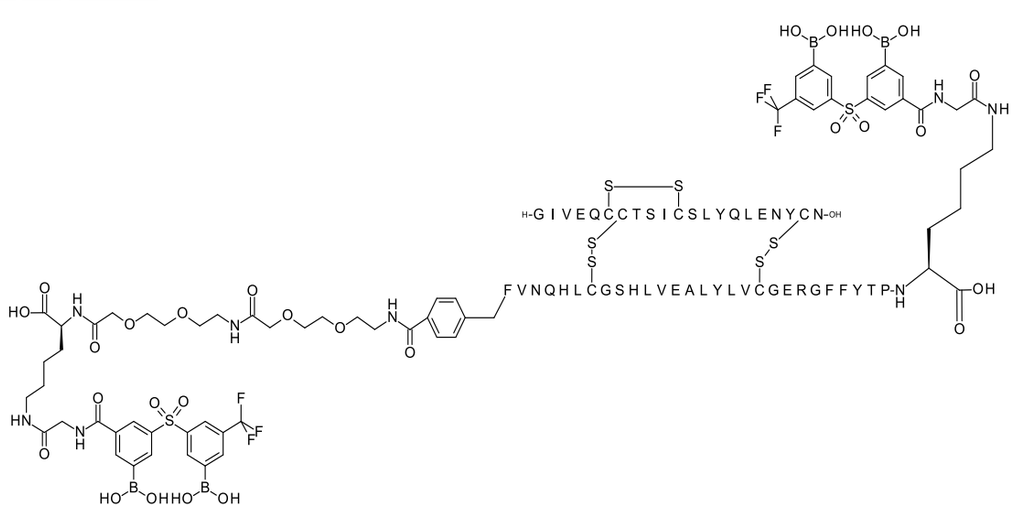
El Ejemplo 241 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 242:



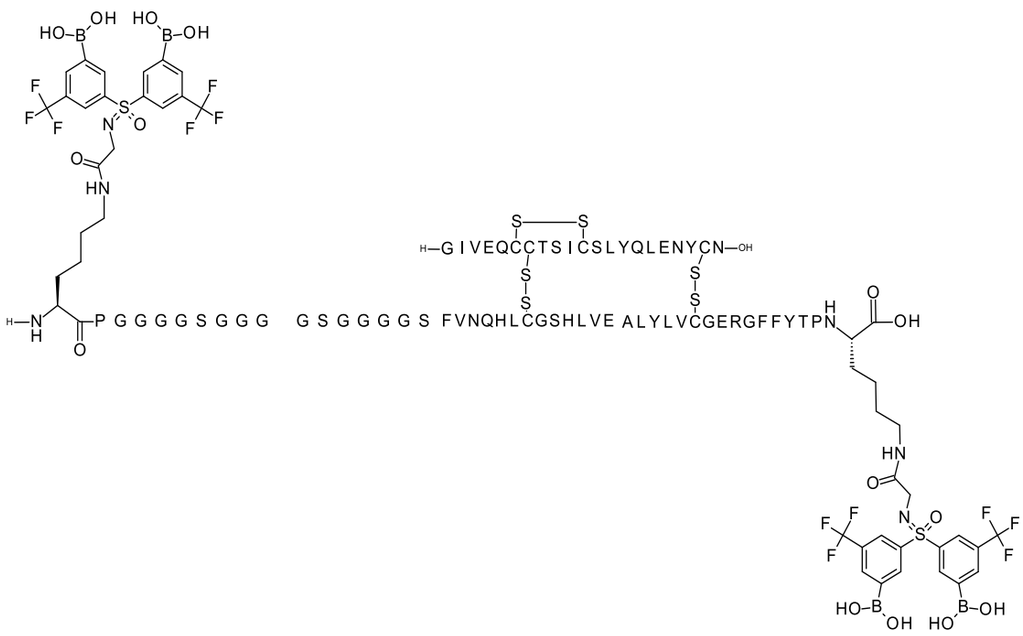
El Ejemplo 242 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 24.

Ejemplo 243:



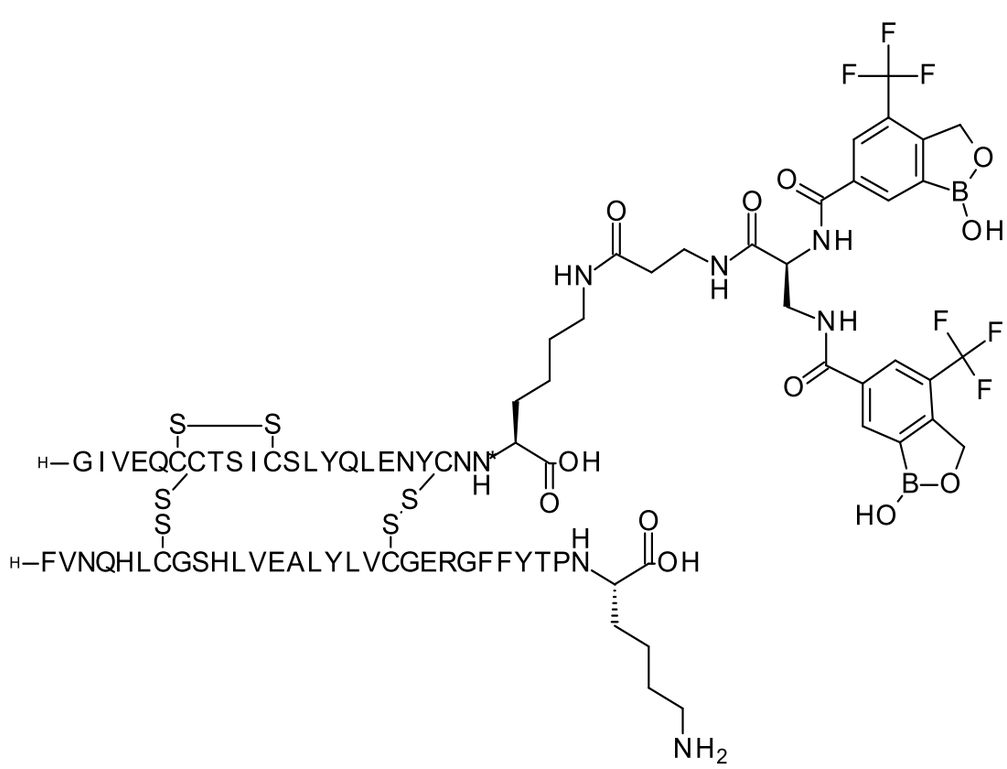
El Ejemplo 243 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 244:



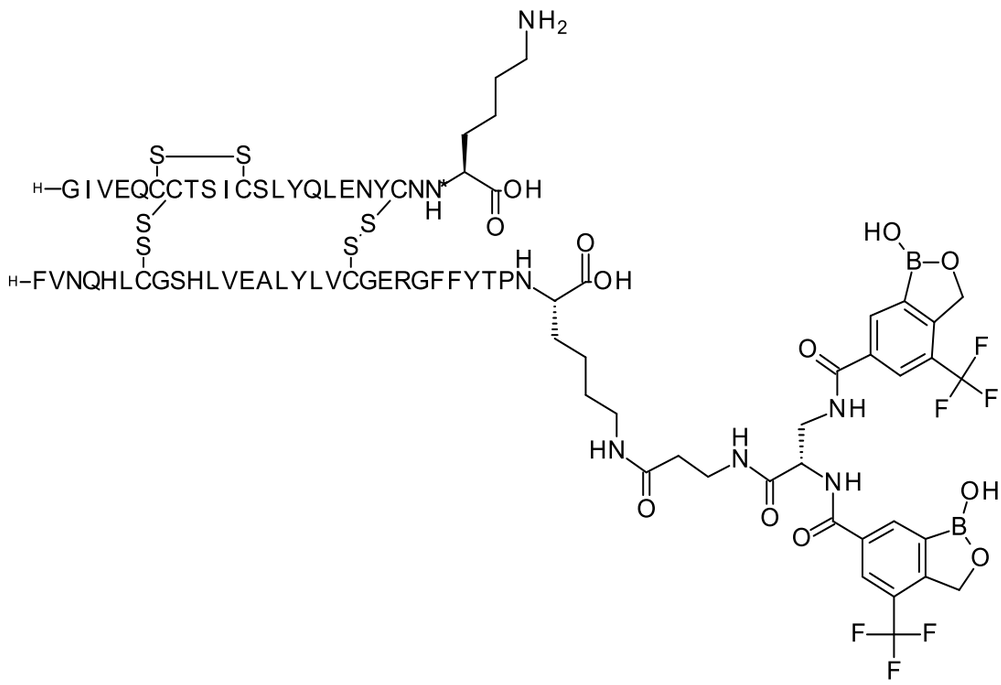
El Ejemplo 244 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 245:



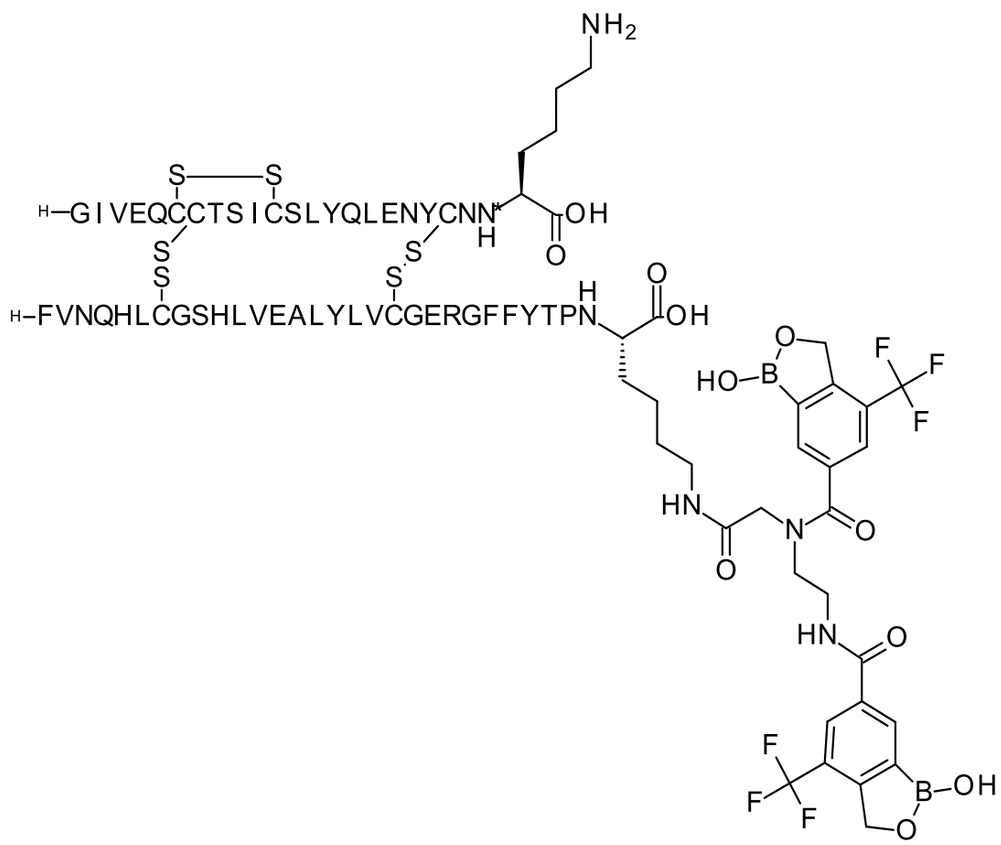
El Ejemplo 245 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 246:



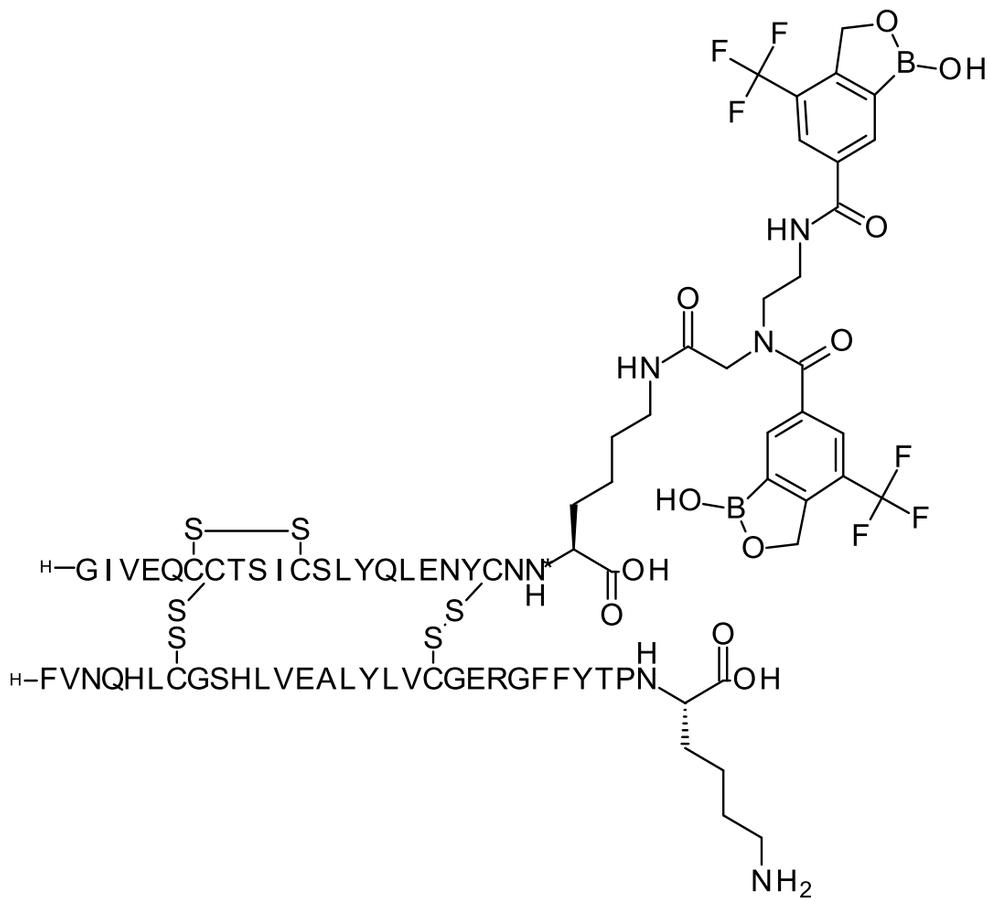
El Ejemplo 246 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 247:



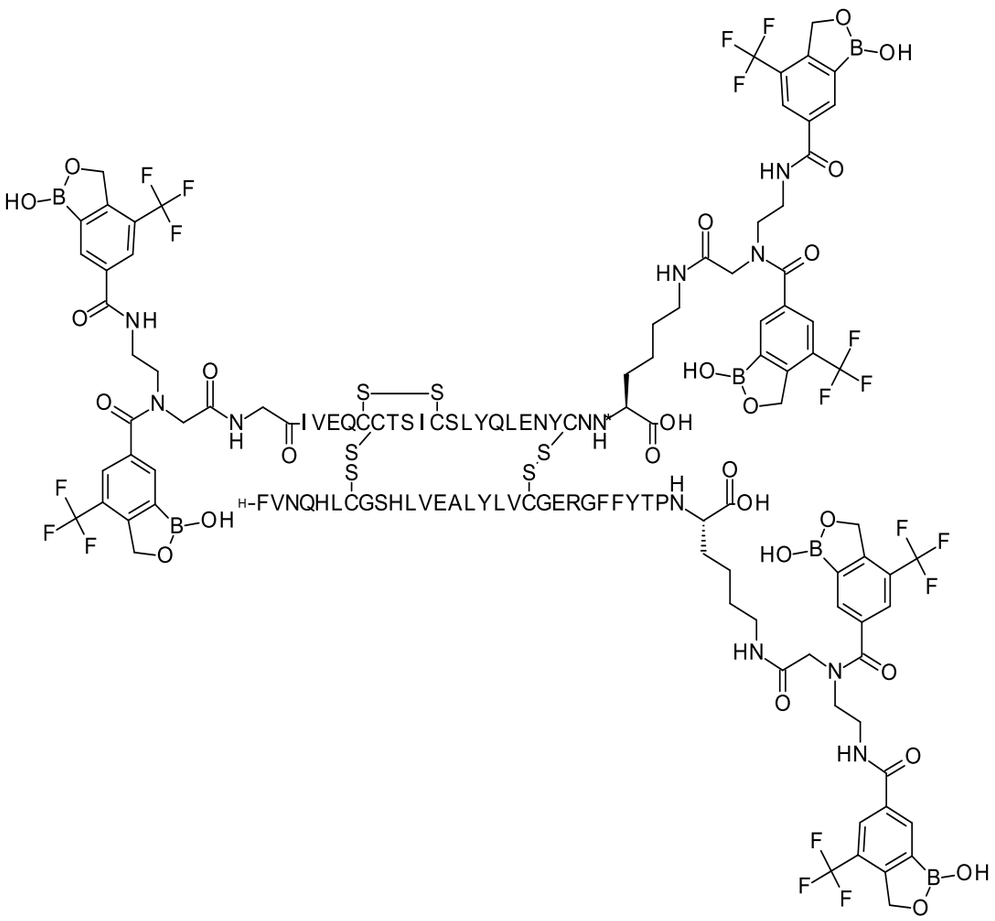
El Ejemplo 247 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 248:



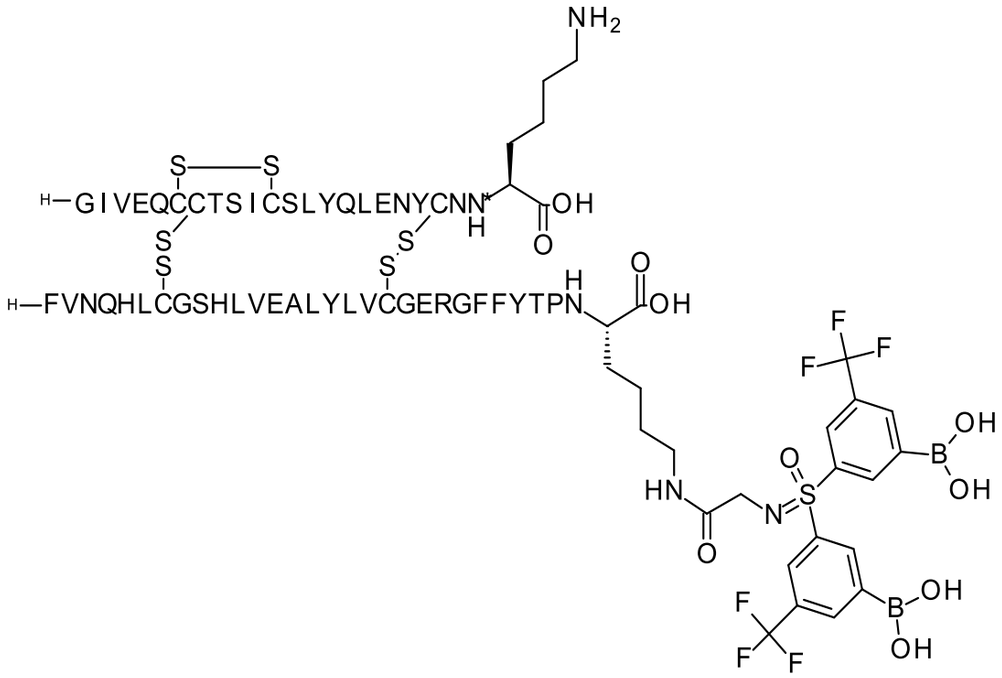
El Ejemplo 248 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 249:



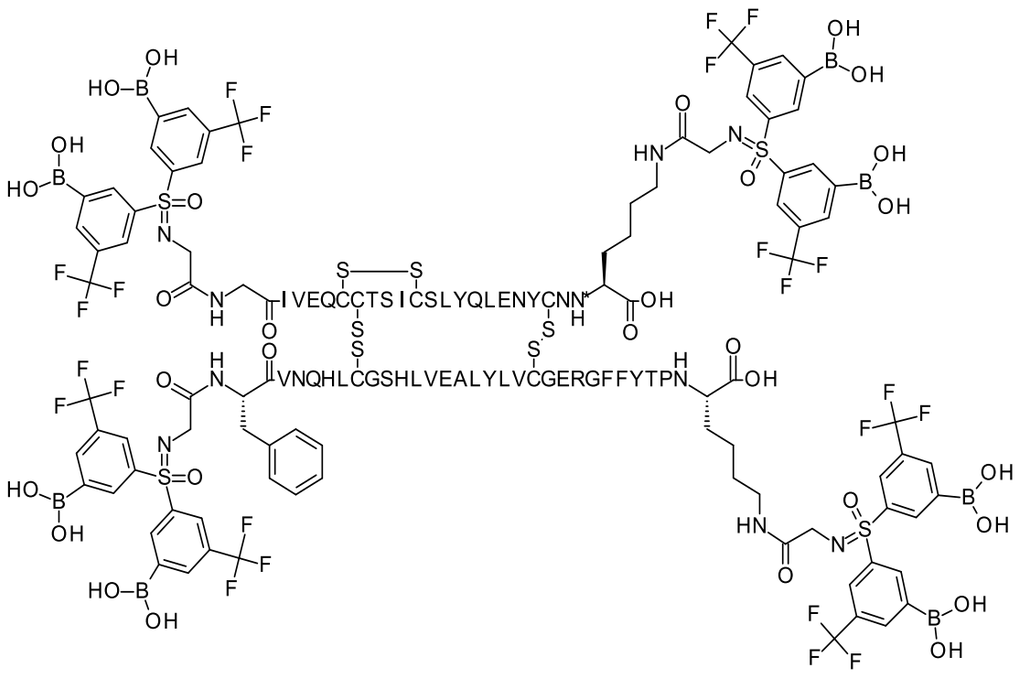
El Ejemplo 249 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 250:



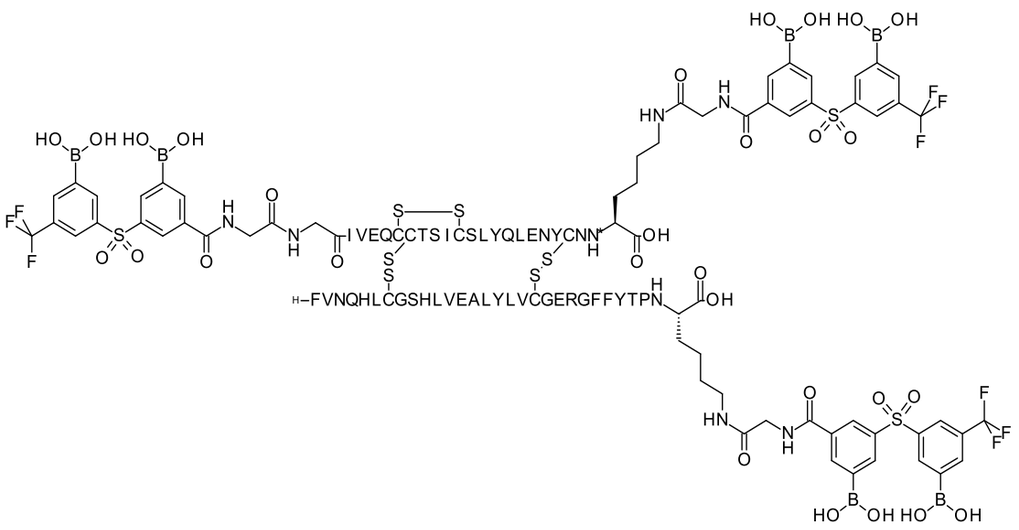
El Ejemplo 250 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 251:



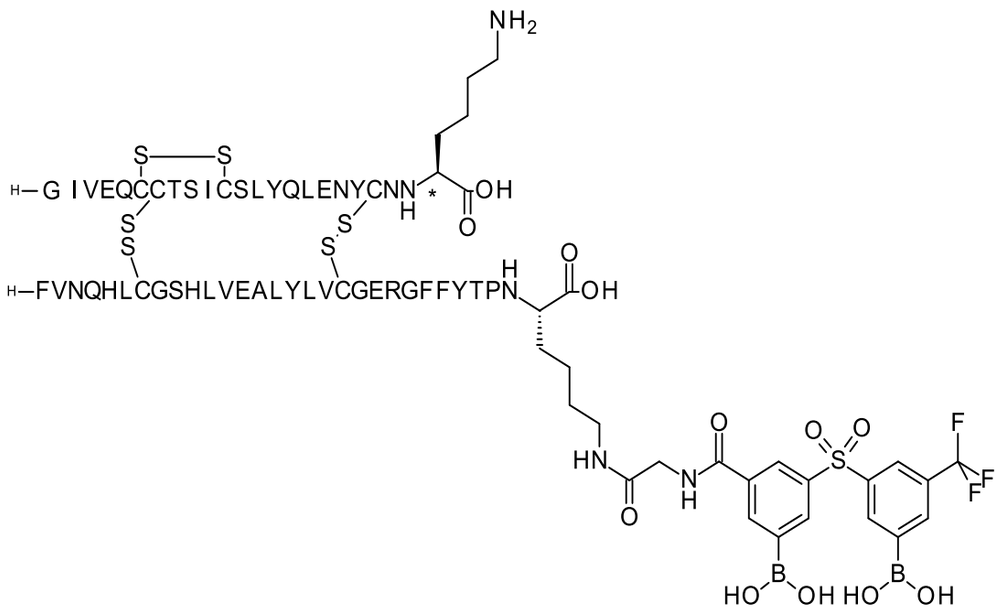
El Ejemplo 251 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 252:



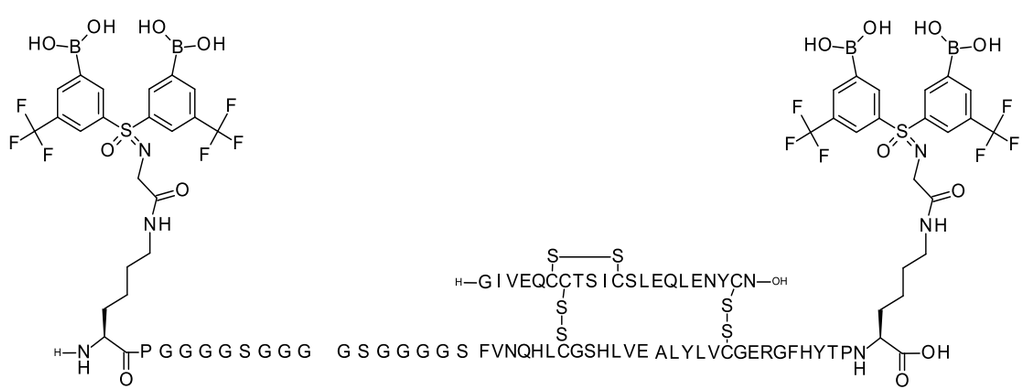
El Ejemplo 252 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 253:



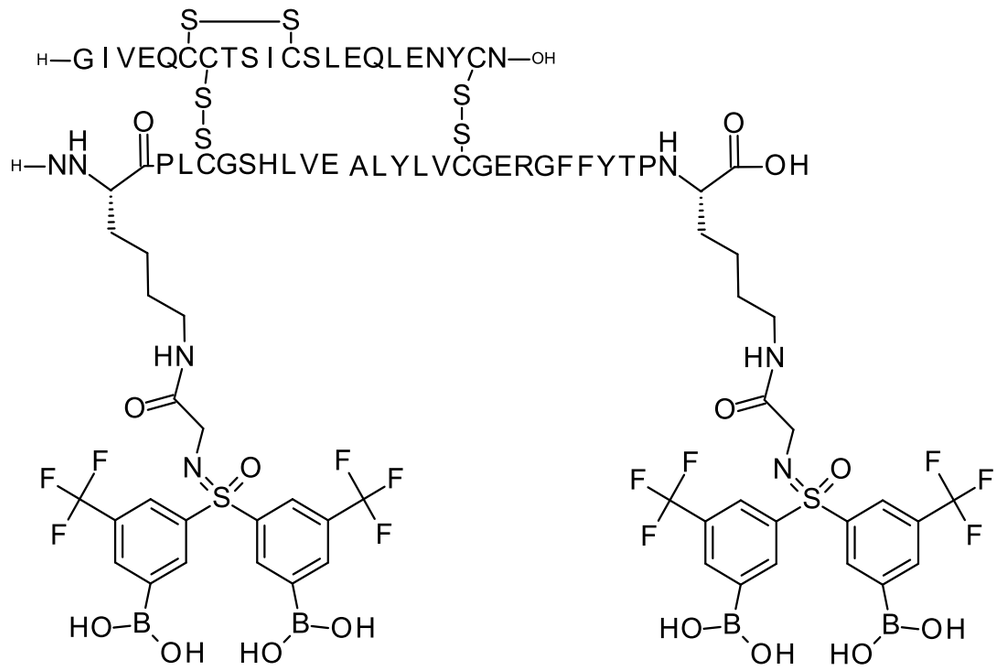
El Ejemplo 253 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 254:



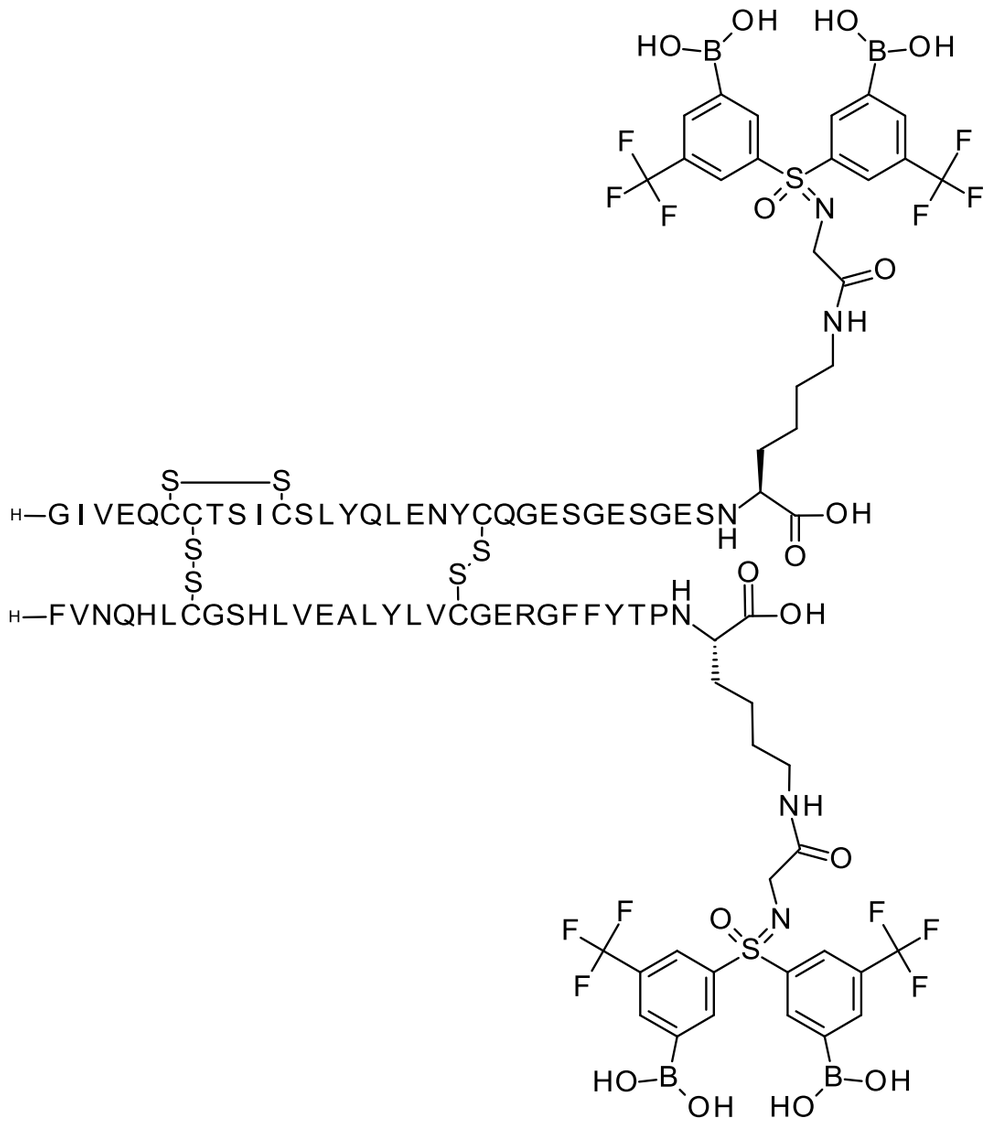
El Ejemplo 254 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 255:



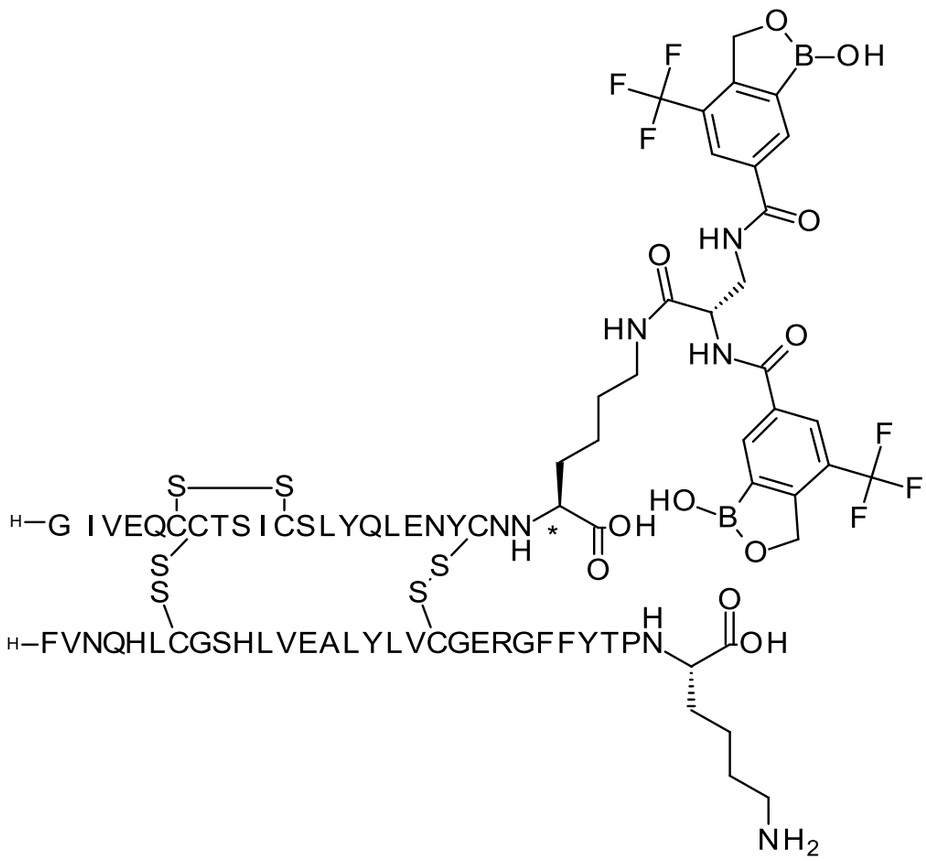
El Ejemplo 255 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 256:



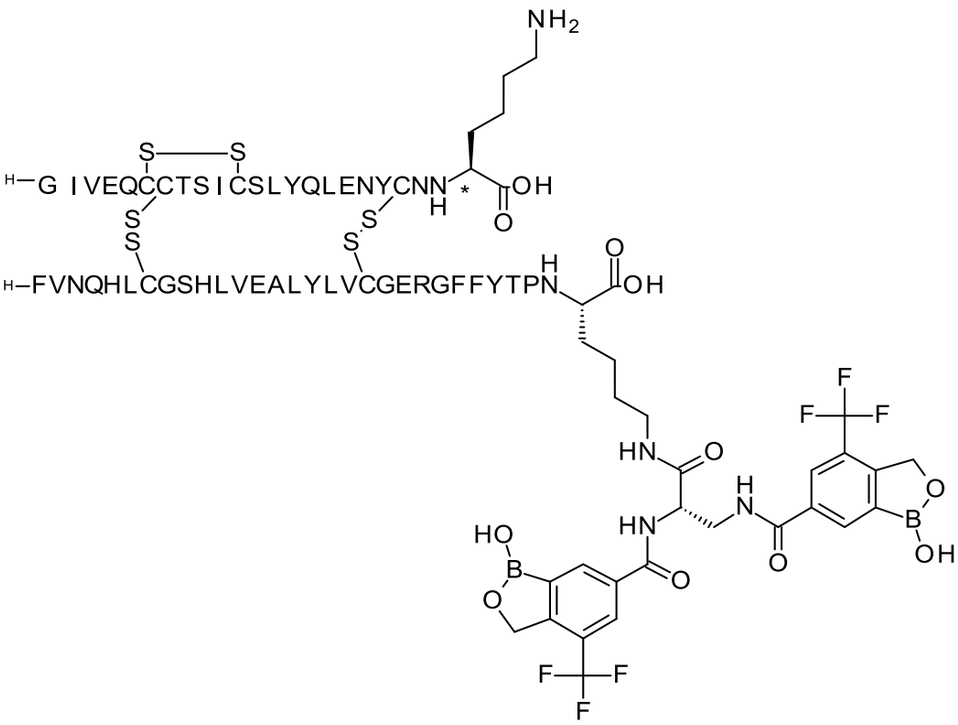
El Ejemplo 256 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 257:



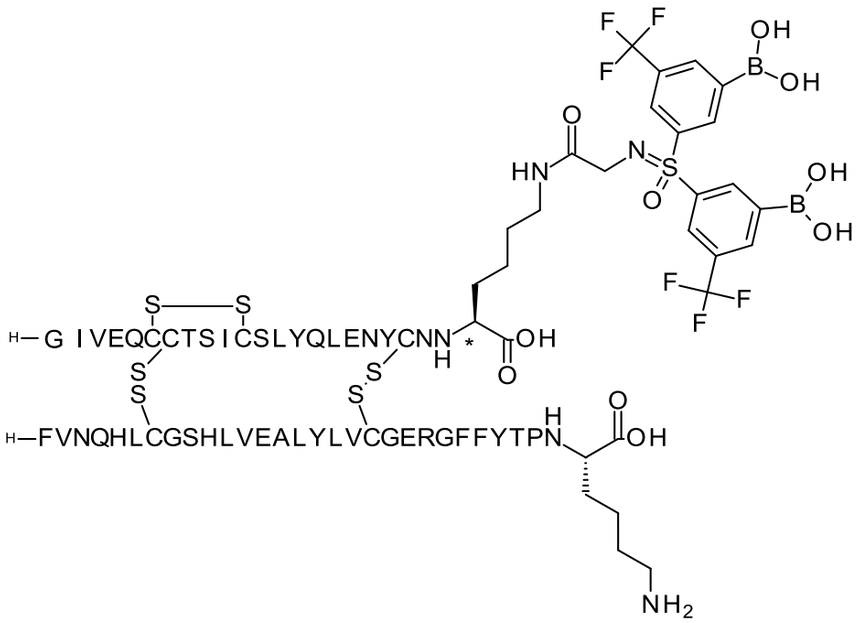
El Ejemplo 257 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 26.

Ejemplo 258:



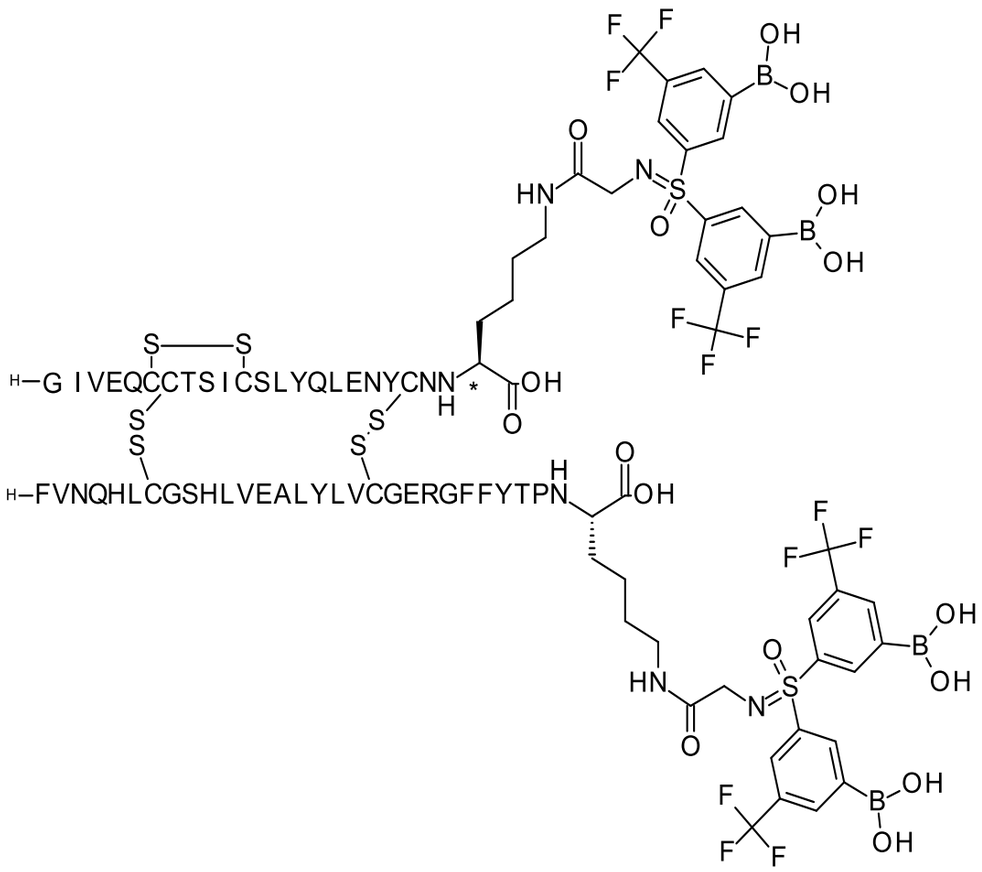
El Ejemplo 258 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 26.

Ejemplo 259:



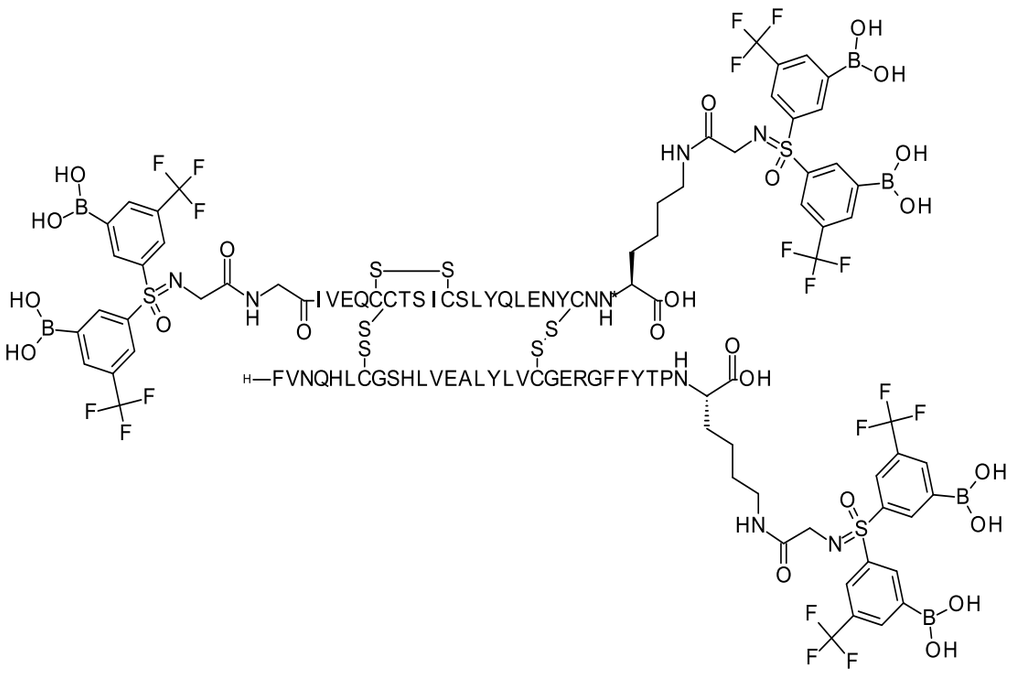
El Ejemplo 259 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 260:



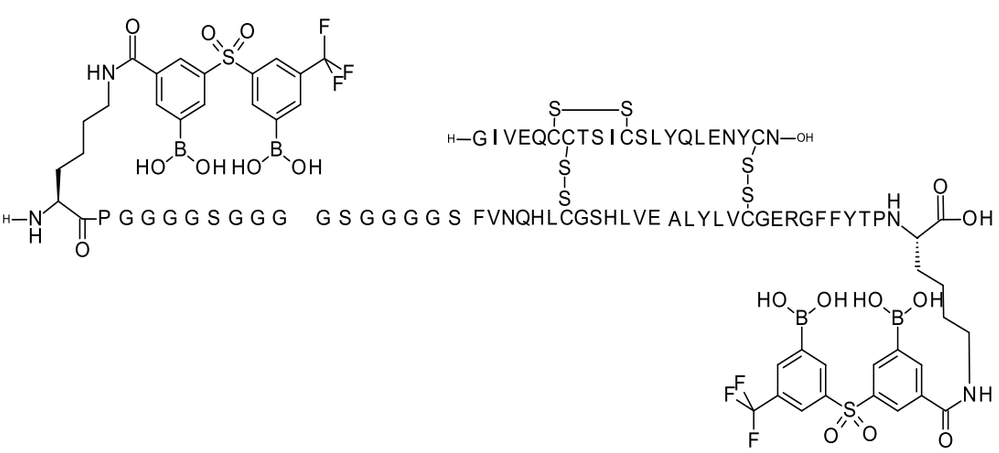
El Ejemplo 260 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 261:



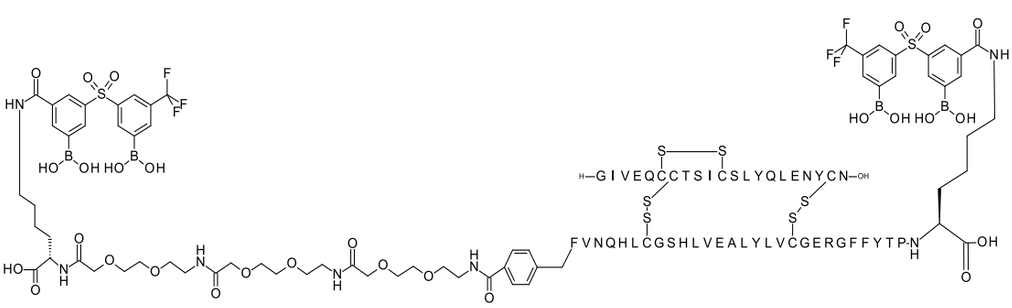
El Ejemplo 261 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 262:



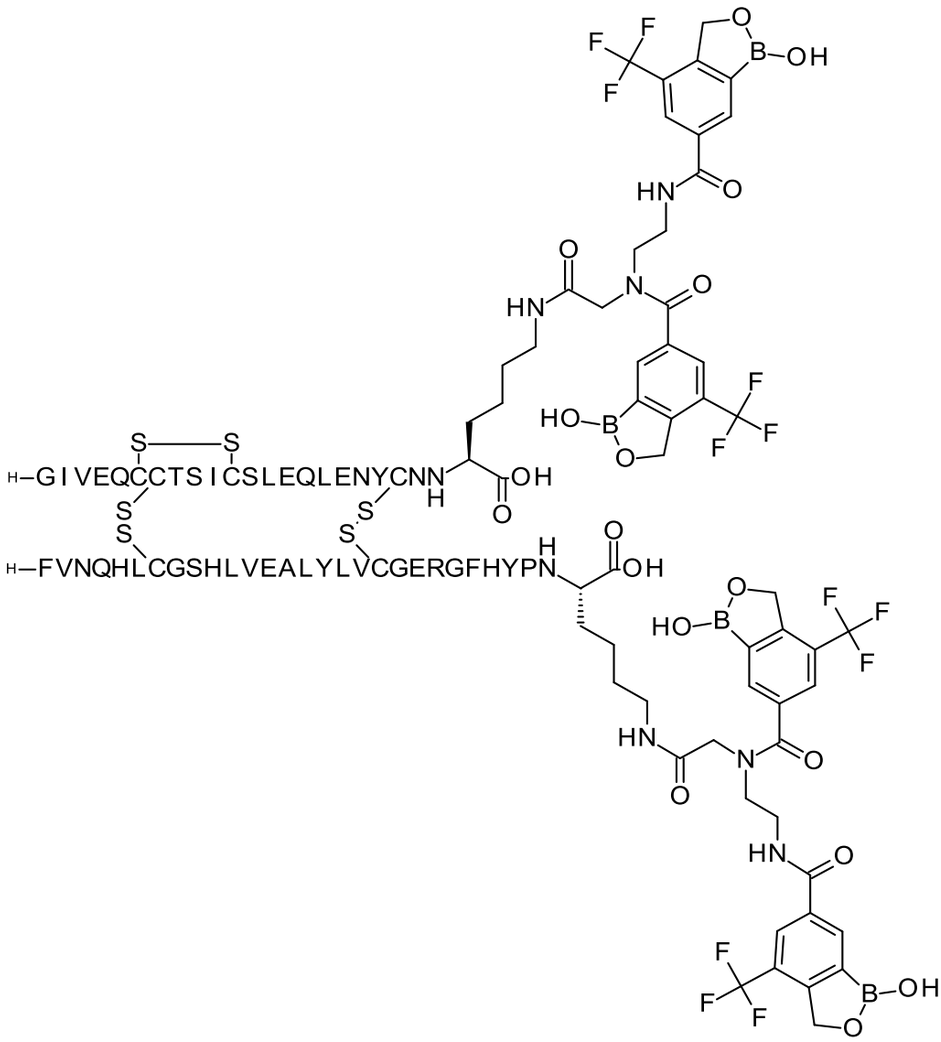
El Ejemplo 262 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 263:



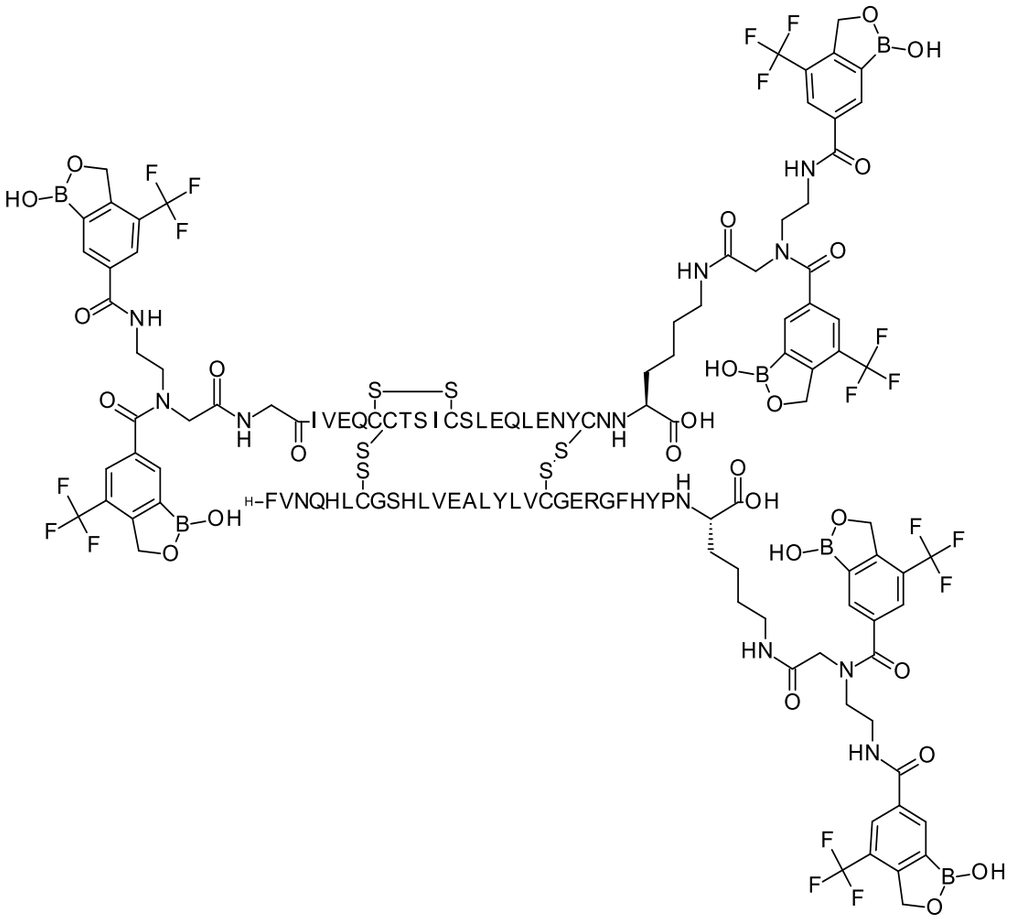
El Ejemplo 263 se preparó de manera similar al Ejemplo 105 a partir de la insulina humana desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 264:



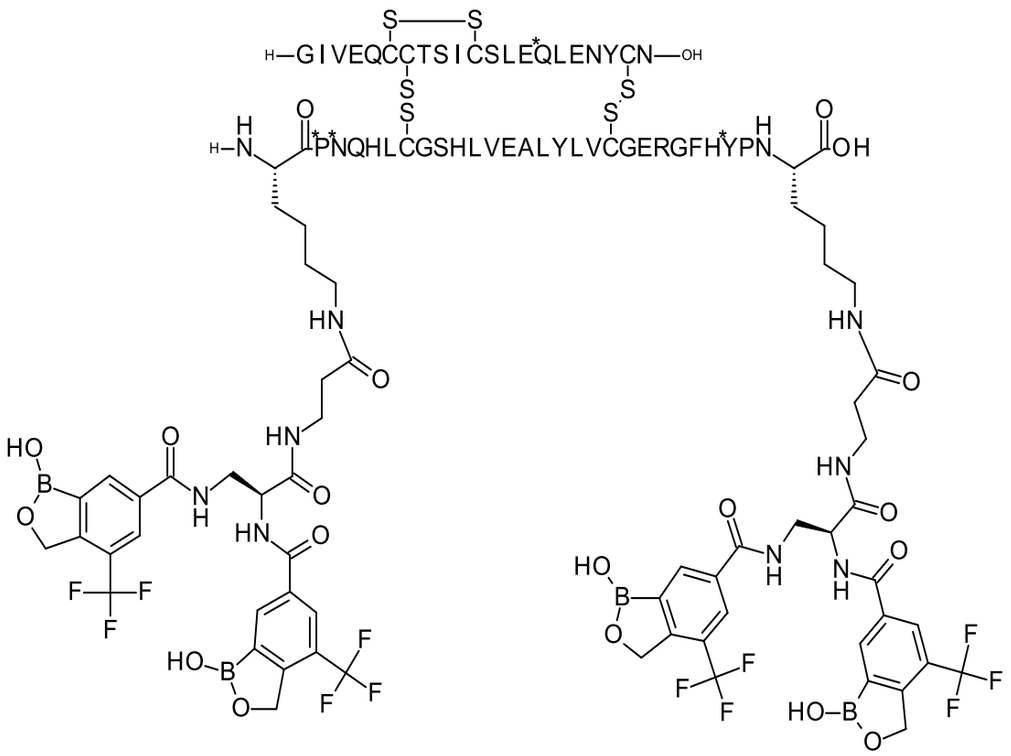
El Ejemplo 264 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 265:



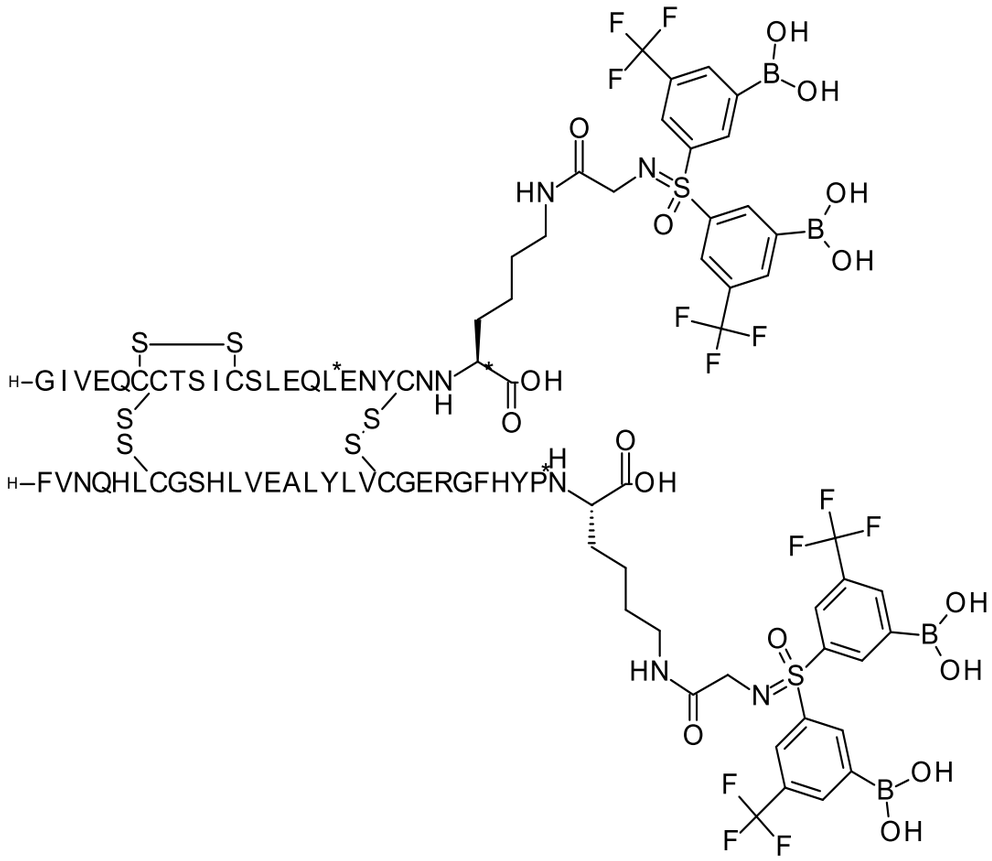
El Ejemplo 265 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 266:



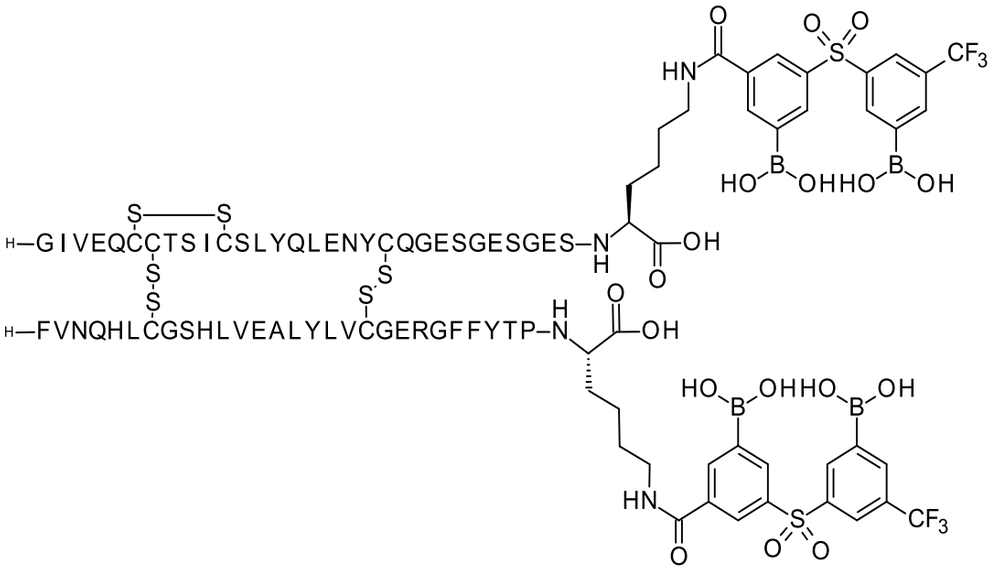
El Ejemplo 266 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 267:



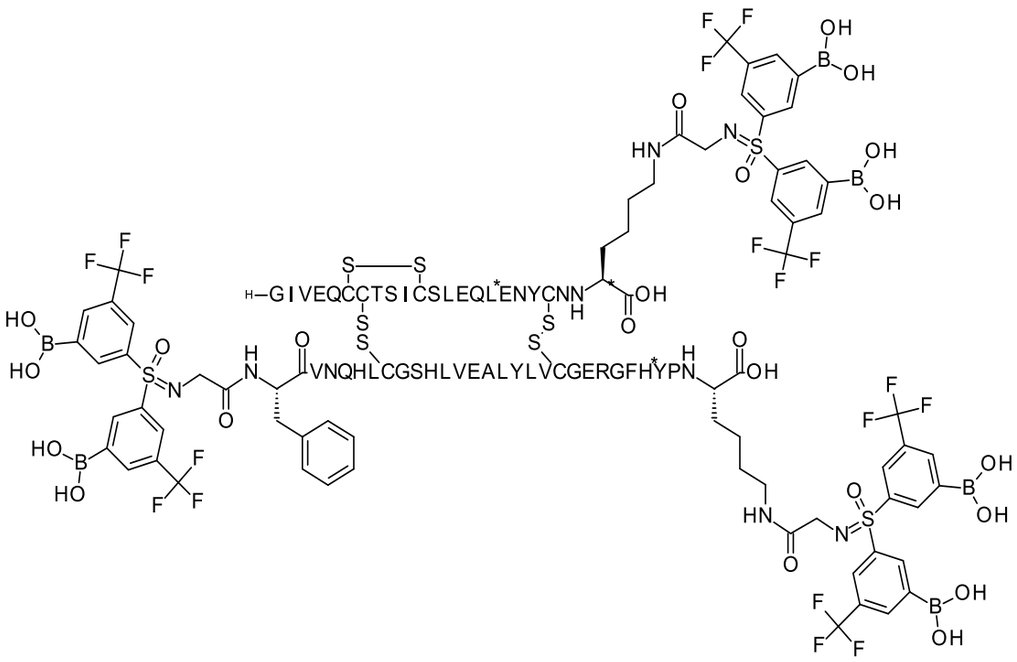
El Ejemplo 267 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 268:



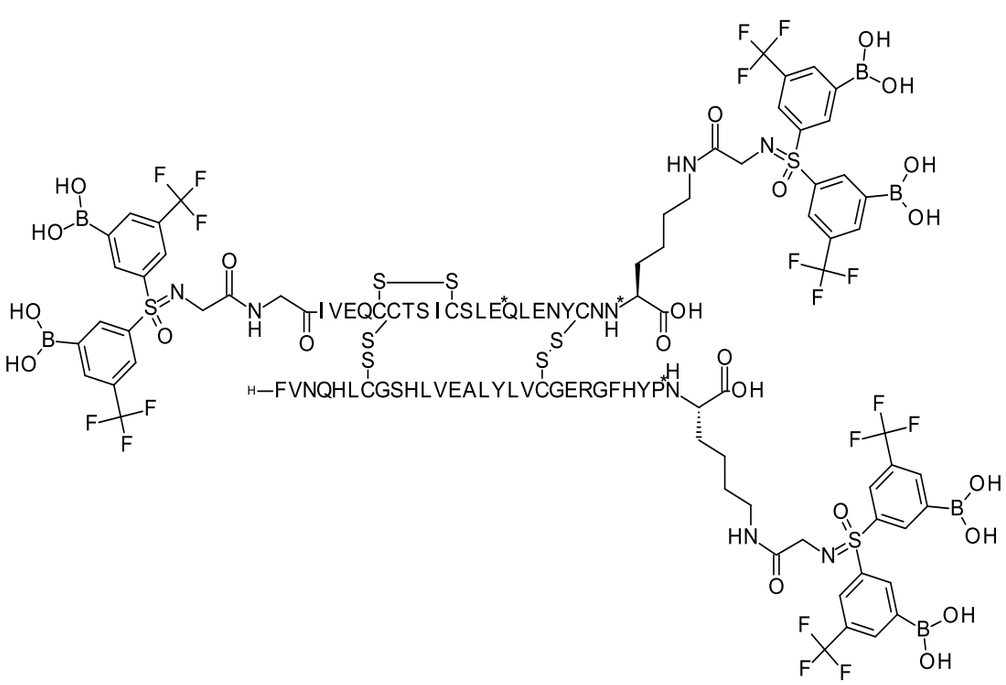
El Ejemplo 268 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 269:



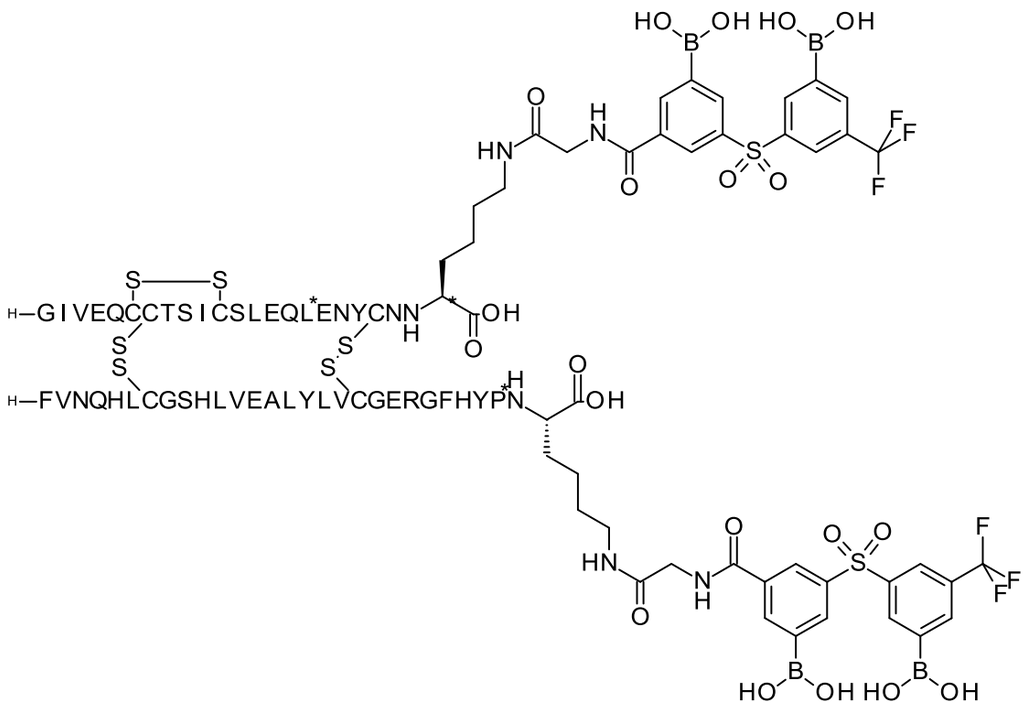
El Ejemplo 269 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 270:



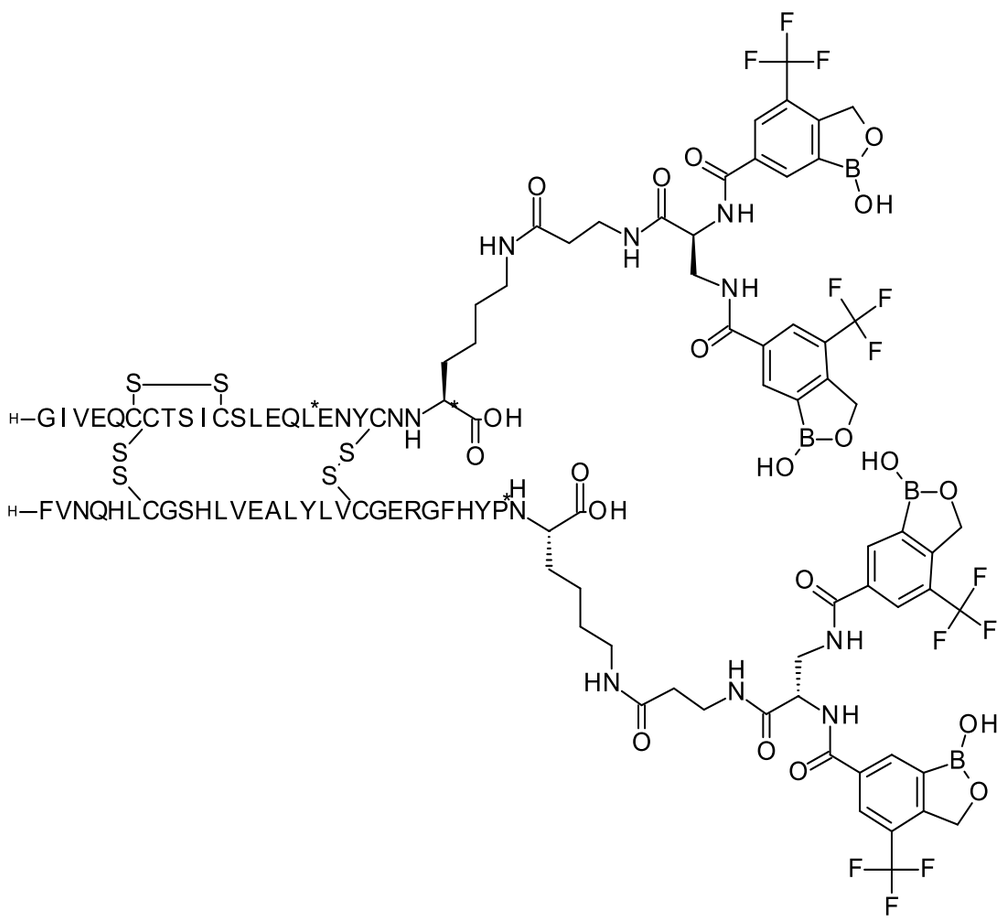
El Ejemplo 270 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 271:



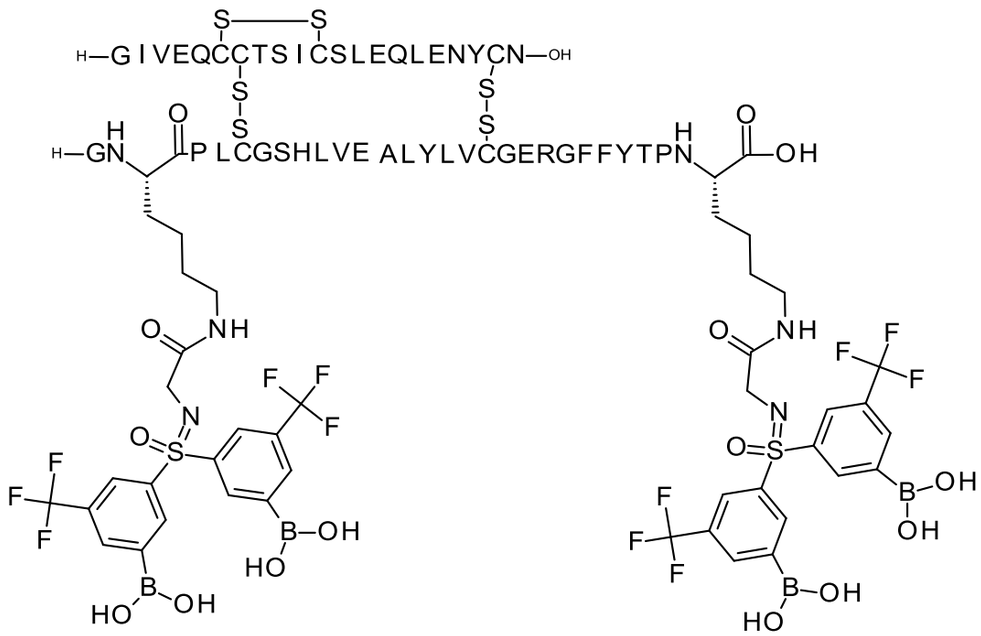
El Ejemplo 271 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 272:



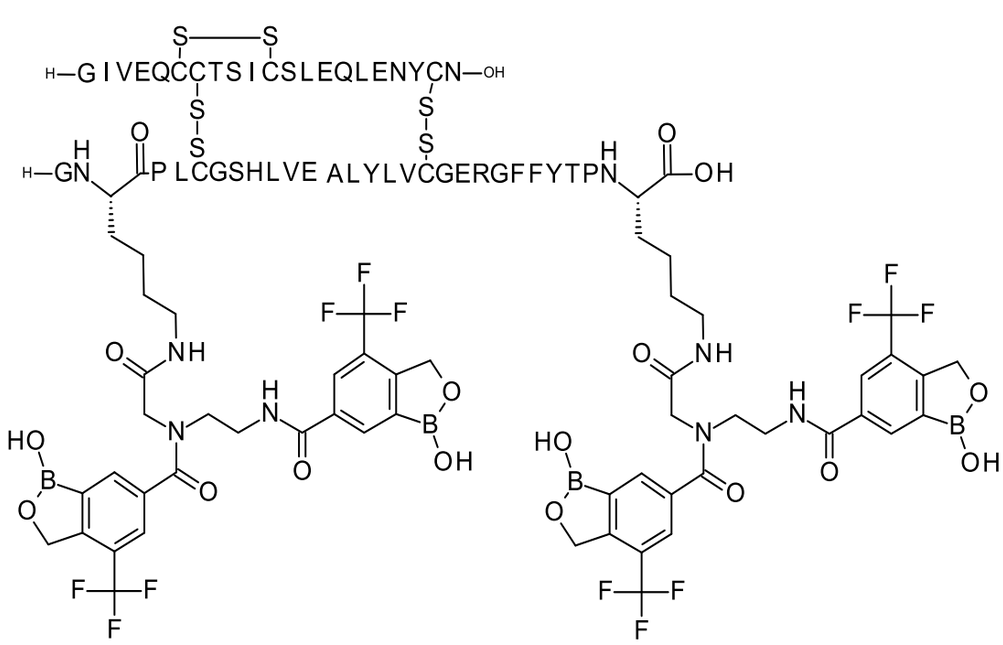
El Ejemplo 272 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 273:



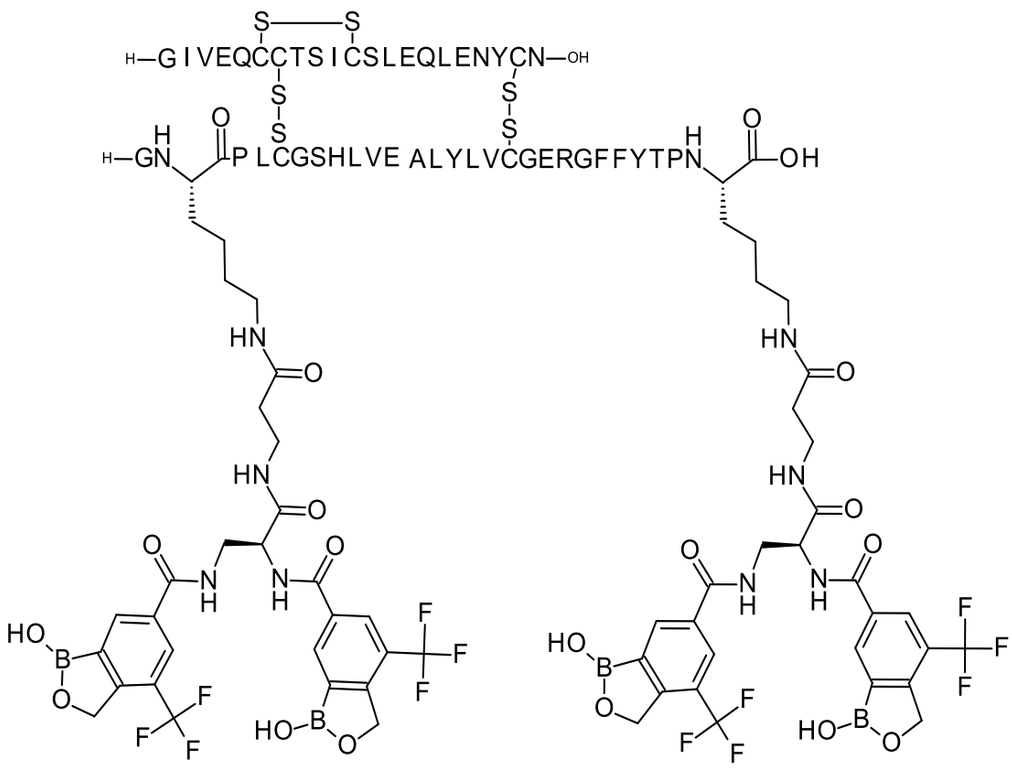
El Ejemplo 273 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 274:



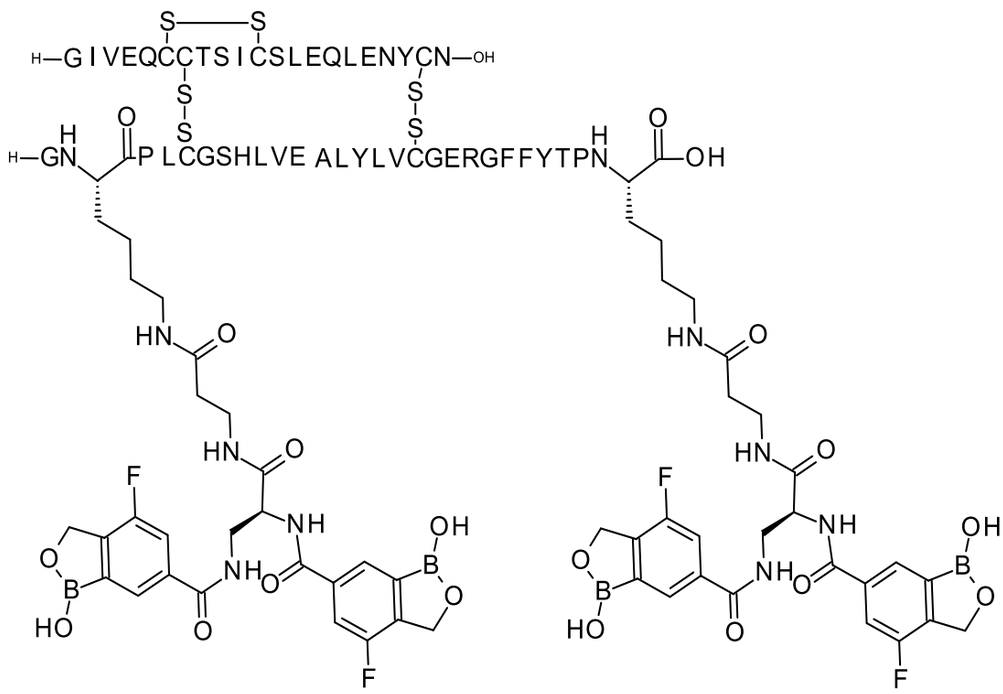
El Ejemplo 274 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 275:



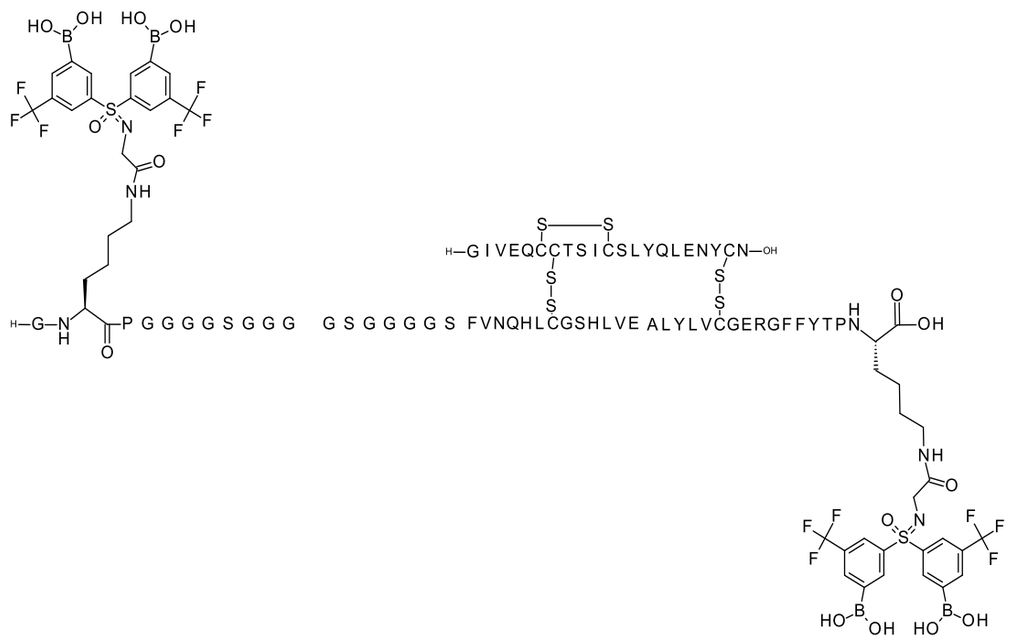
El Ejemplo 275 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 276:



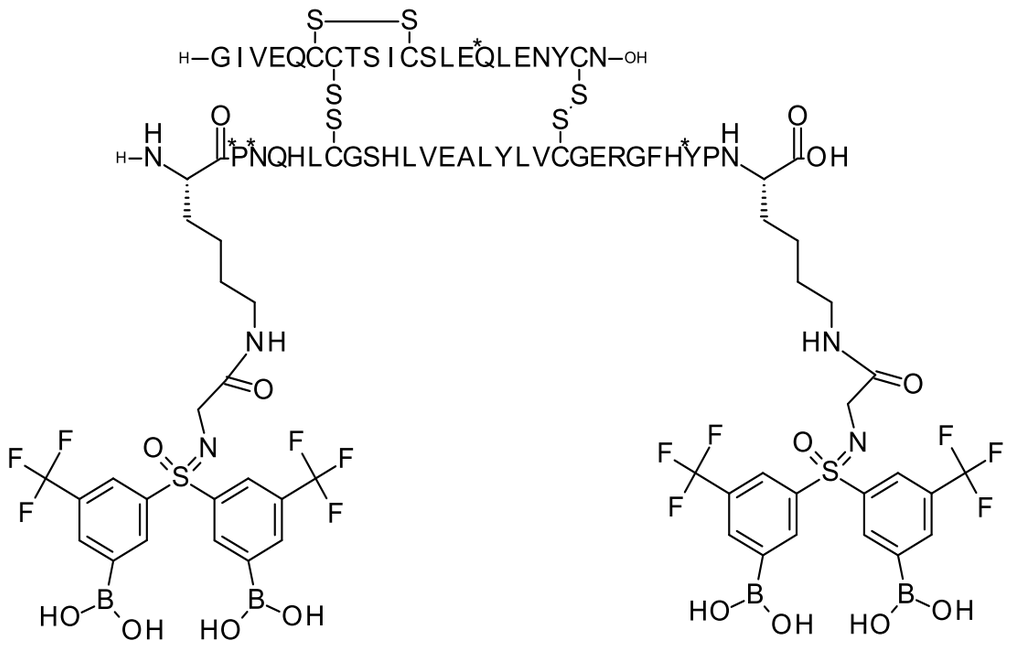
El Ejemplo 276 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 277:



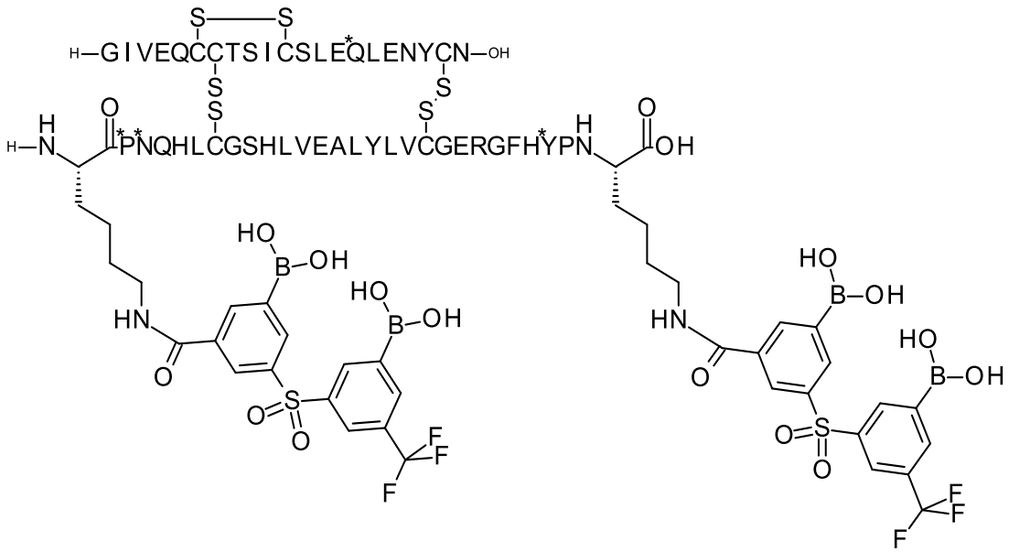
El Ejemplo 277 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 278:



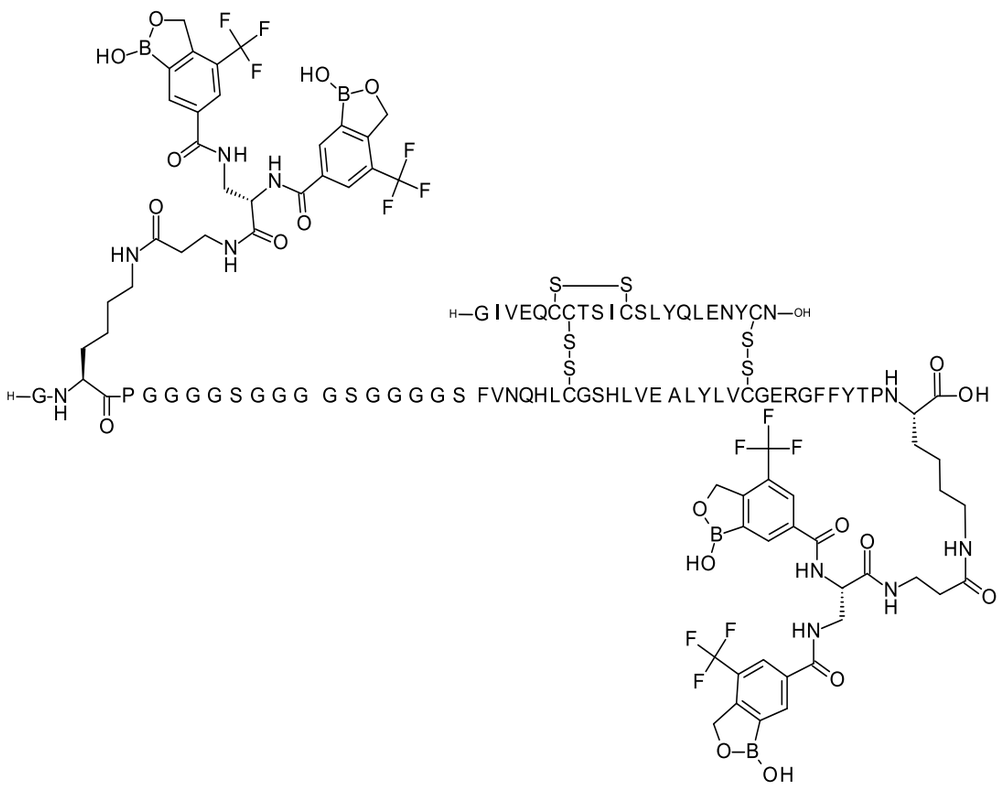
El Ejemplo 278 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 279:



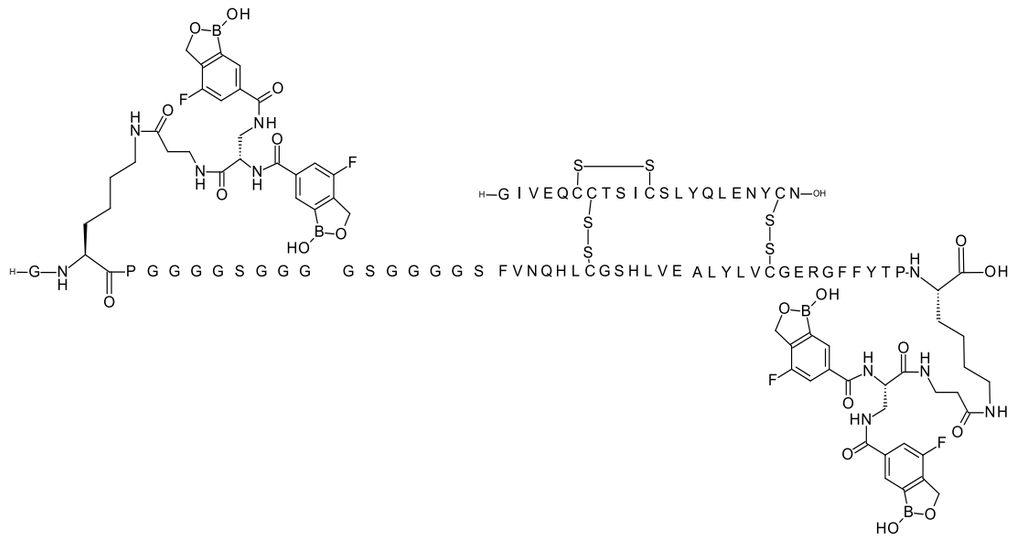
El Ejemplo 279 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 280:



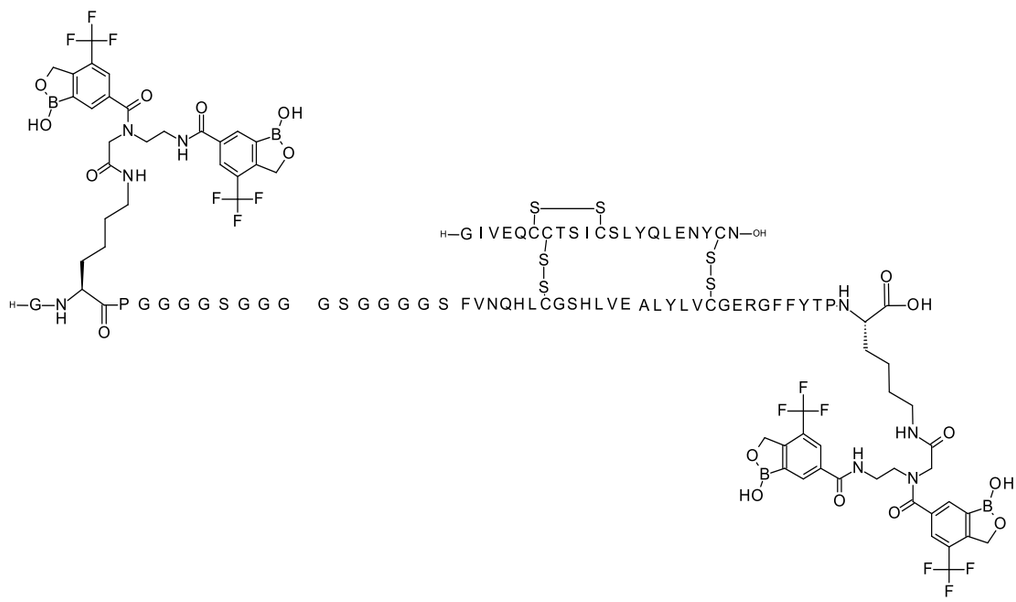
El Ejemplo 280 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 281:



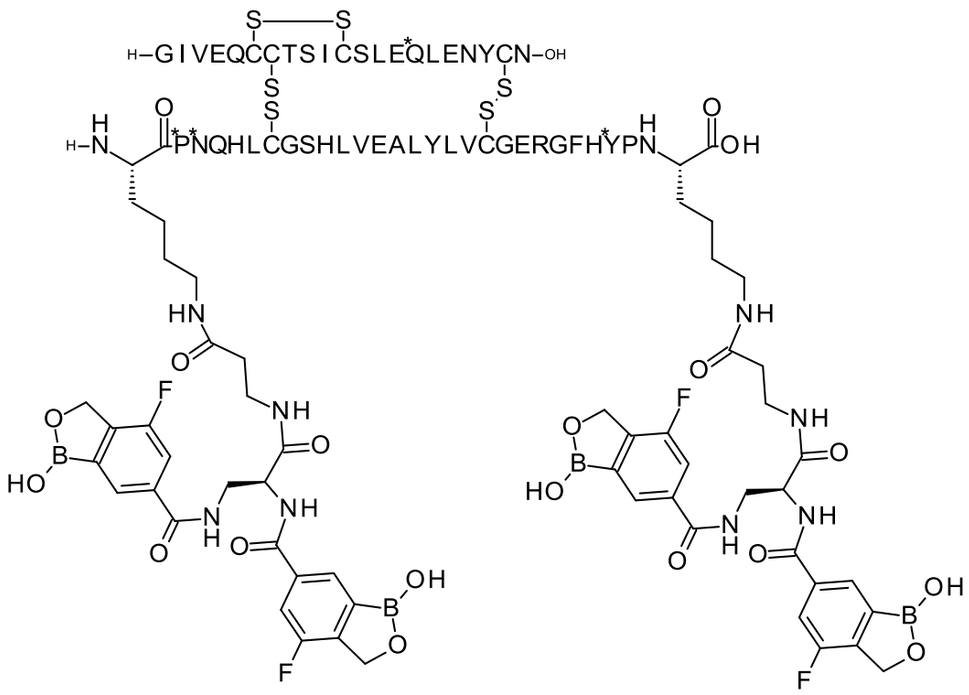
El Ejemplo 281 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 282:



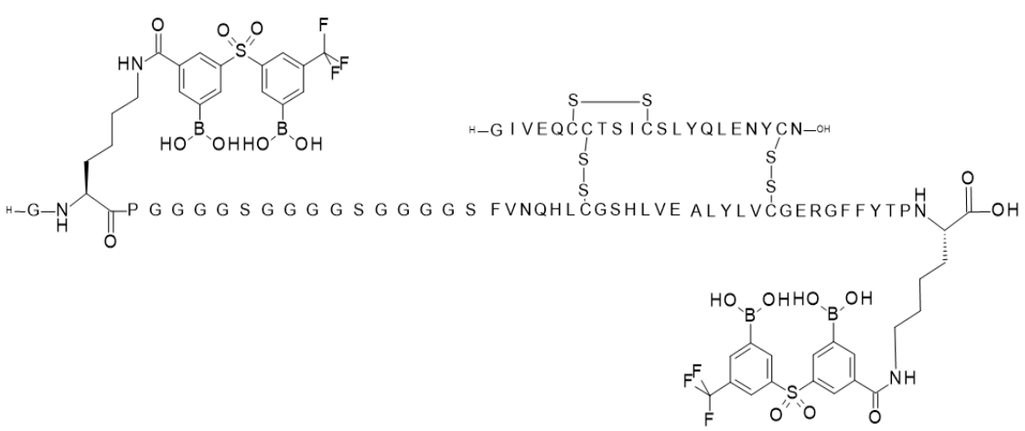
El Ejemplo 282 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 283:



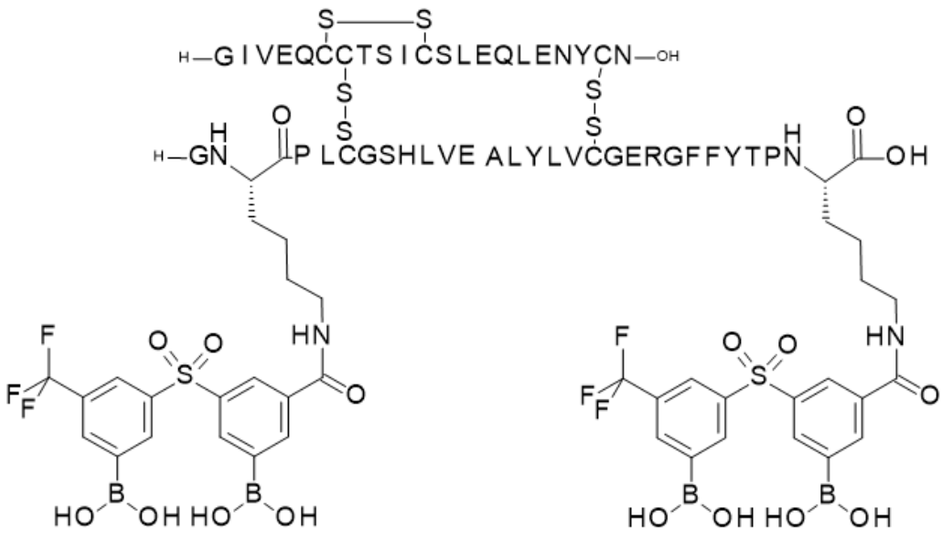
El Ejemplo 283 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 284:



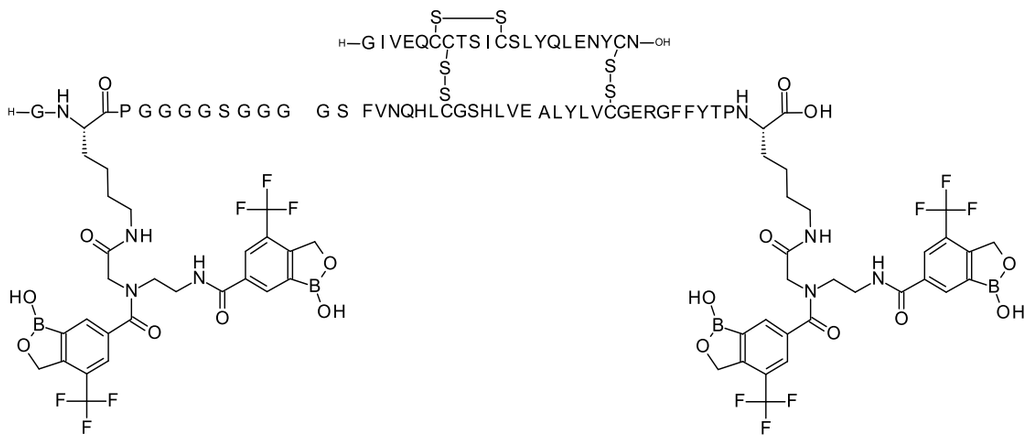
El Ejemplo 284 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 285:



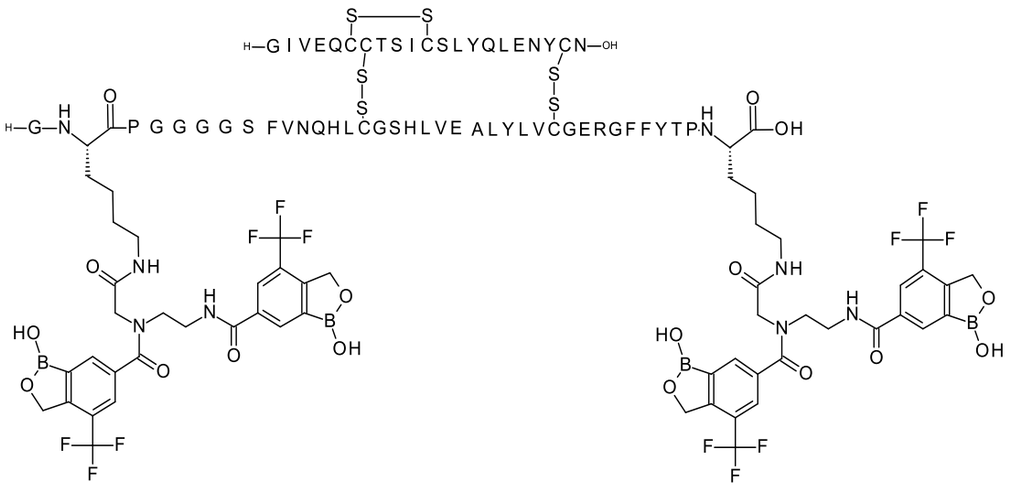
El Ejemplo 285 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 286:



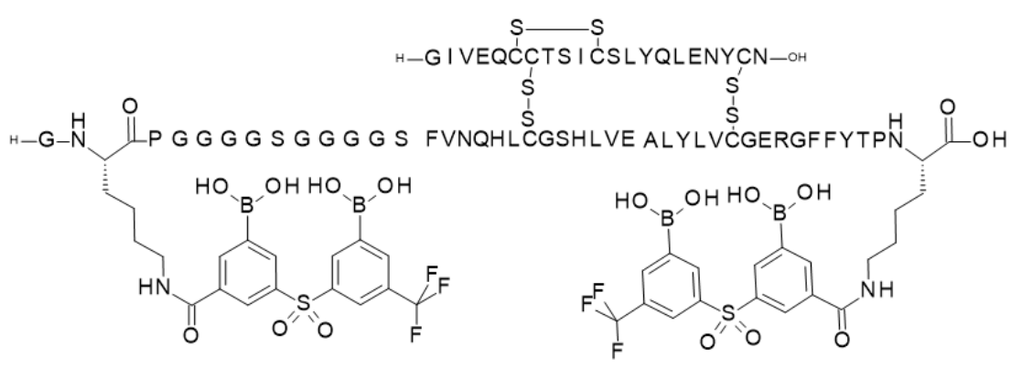
El Ejemplo 286 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 287:



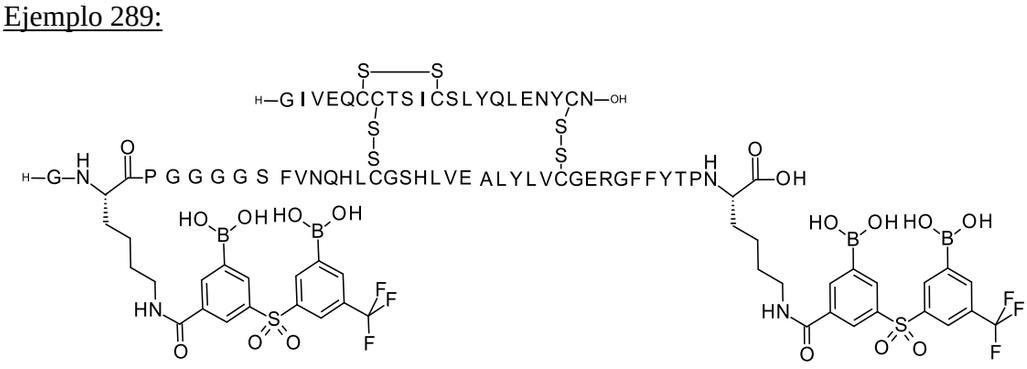
El Ejemplo 287 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 288:



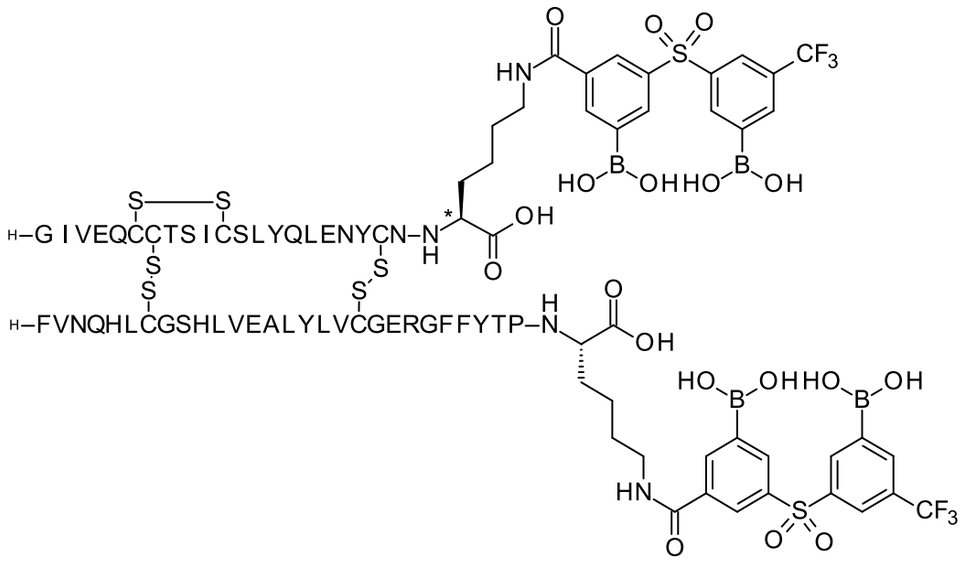
El Ejemplo 288 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 289:



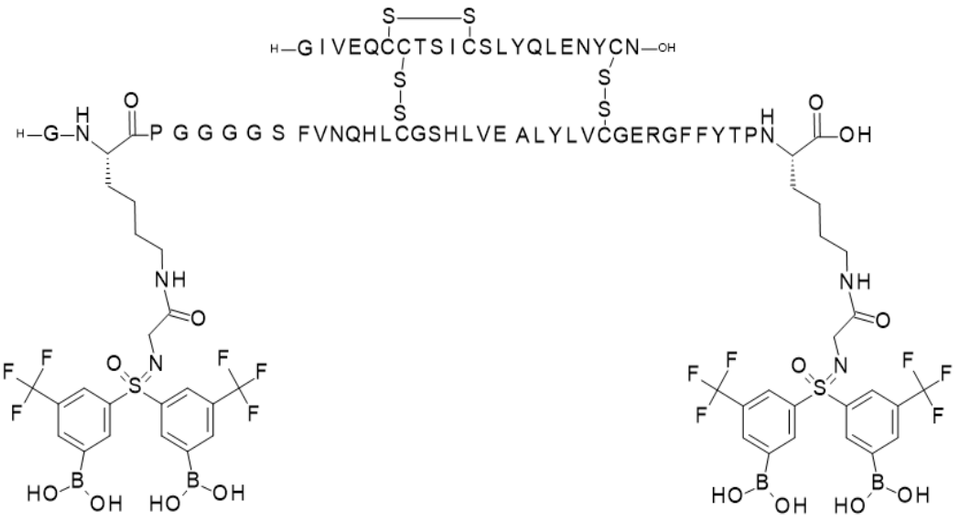
El Ejemplo 289 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 290:



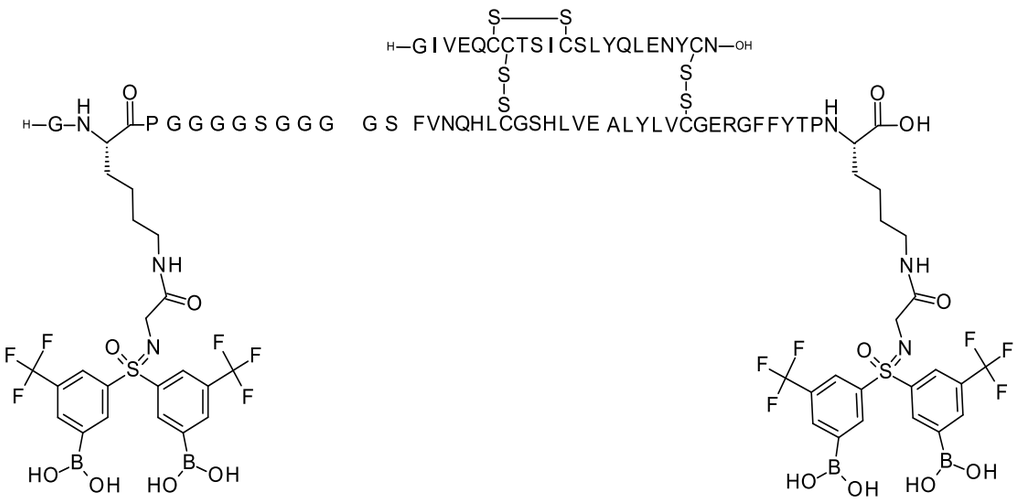
El Ejemplo 290 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A22K desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 291:



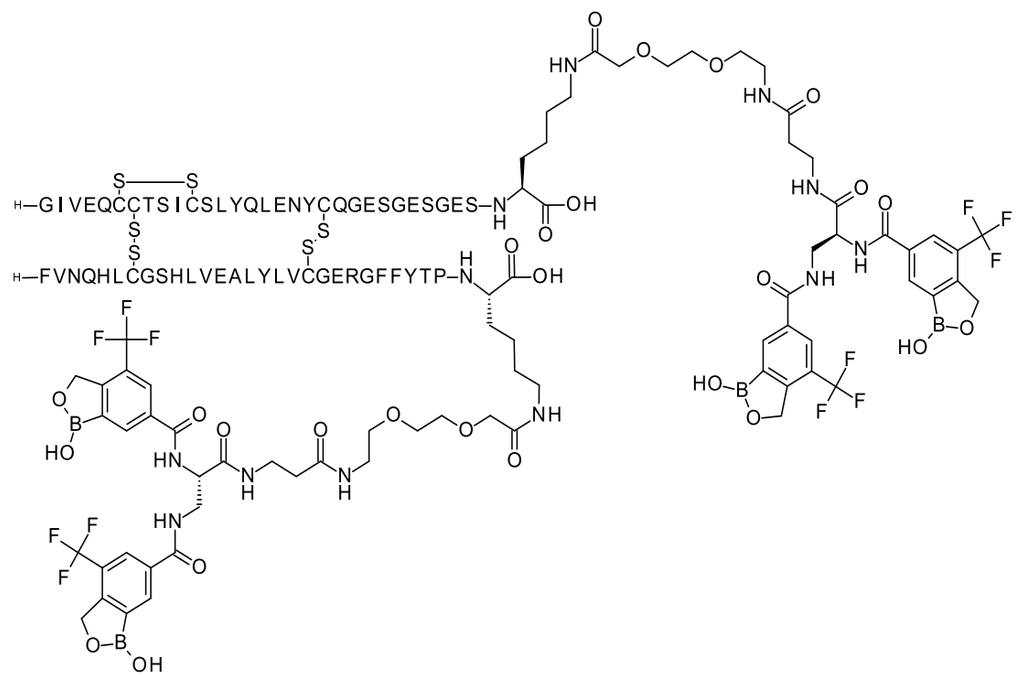
El Ejemplo 291 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 292:



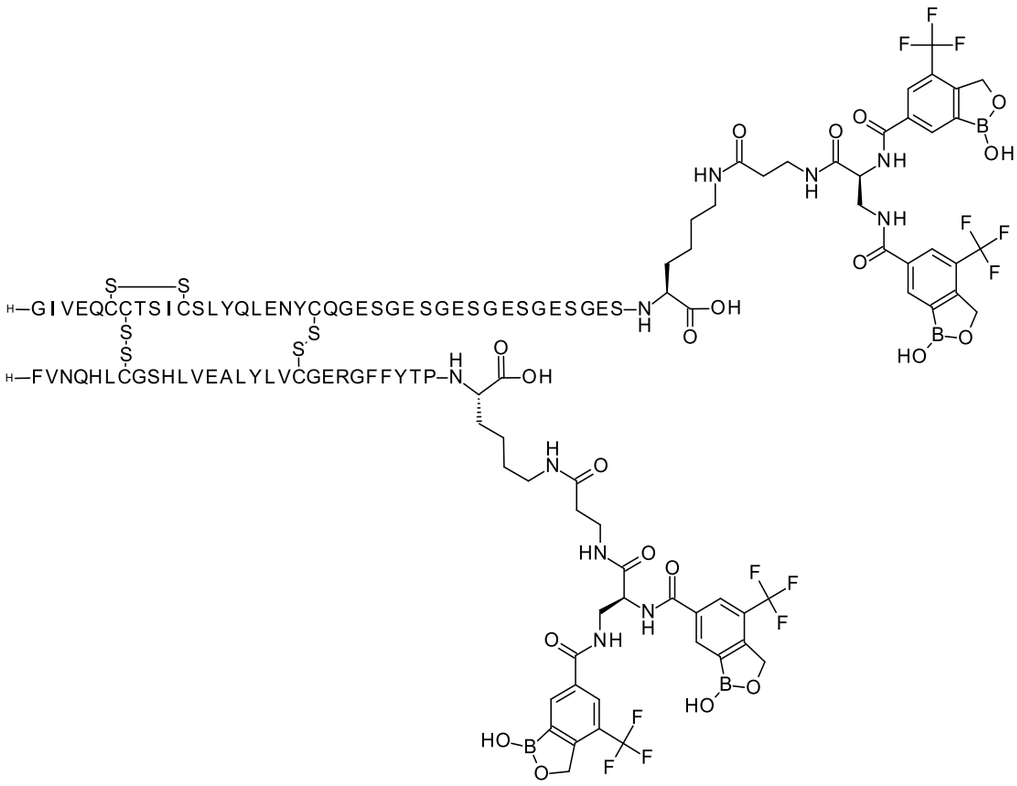
El Ejemplo 292 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 293:



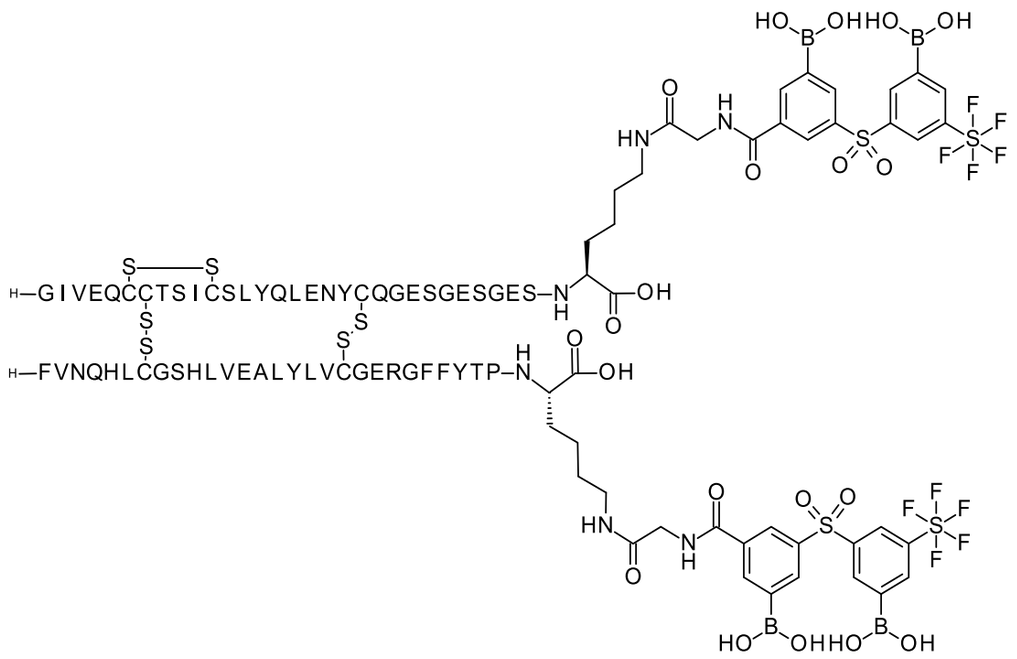
El Ejemplo 293 se preparó mediante la conjugación de Boc-OEG a los dos residuos de lisina de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30, de manera similar a la conjugación del Ejemplo 101, seguido de la eliminación de los grupos Boc mediante el uso de TFA al 95 % y la conjugación de los grupos amino de OEG con el componente básico del Ejemplo 29, similar a las conjugaciones en el Ejemplo 101.

Ejemplo 294:



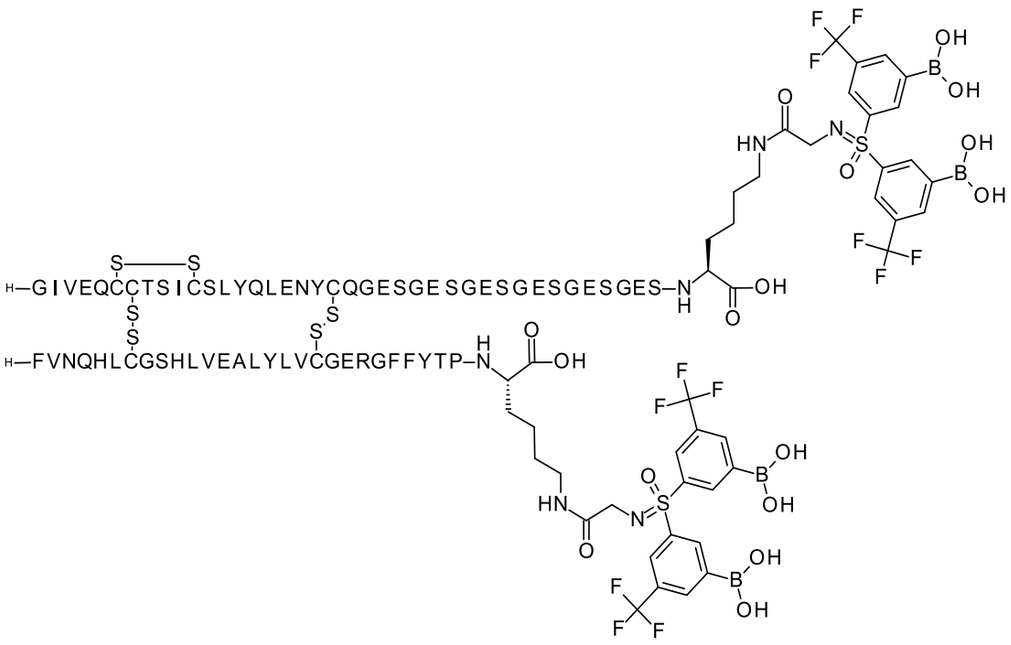
El Ejemplo 294 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)6K desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 295:



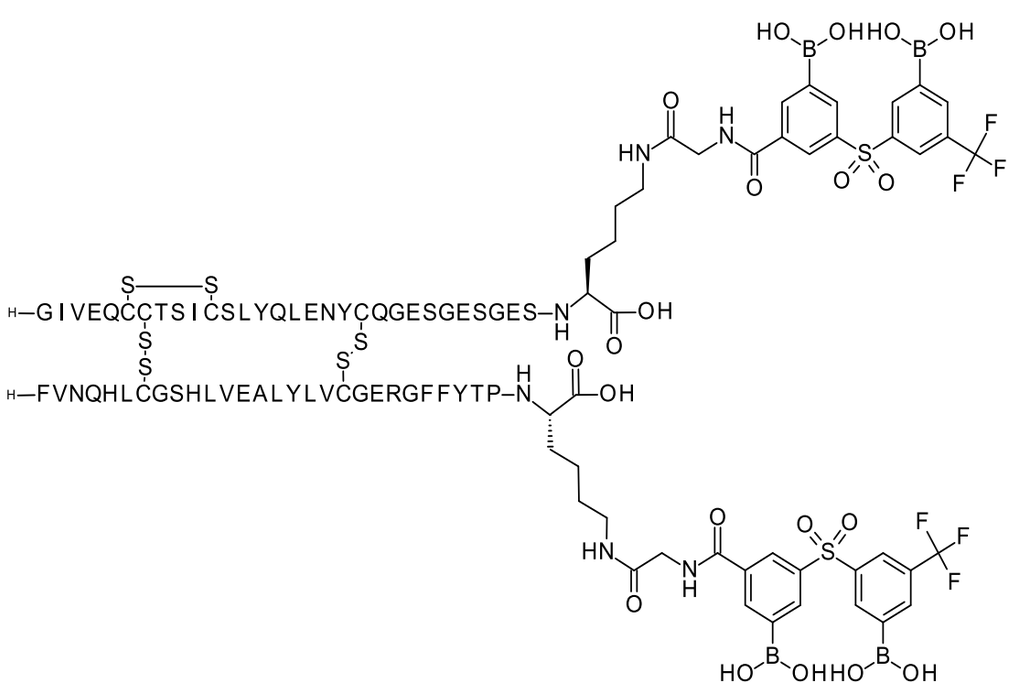
El Ejemplo 295 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 27.

Ejemplo 296:



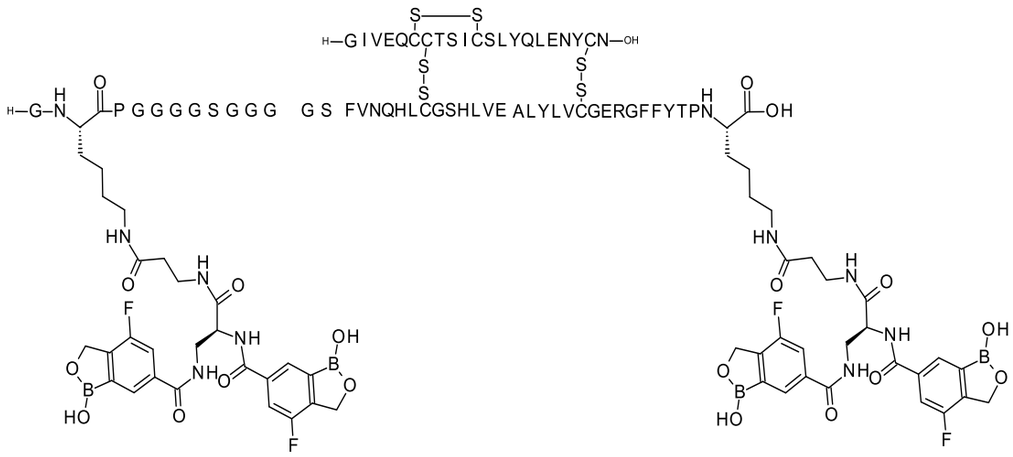
El Ejemplo 296 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)6K desB30 y el componente básico del Ejemplo 33.

Ejemplo 297:



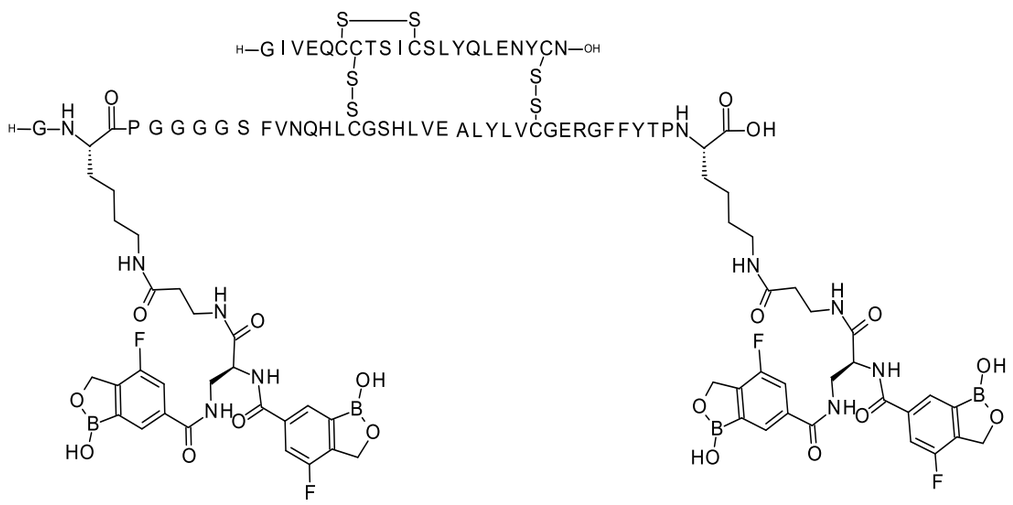
El Ejemplo 297 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 298:



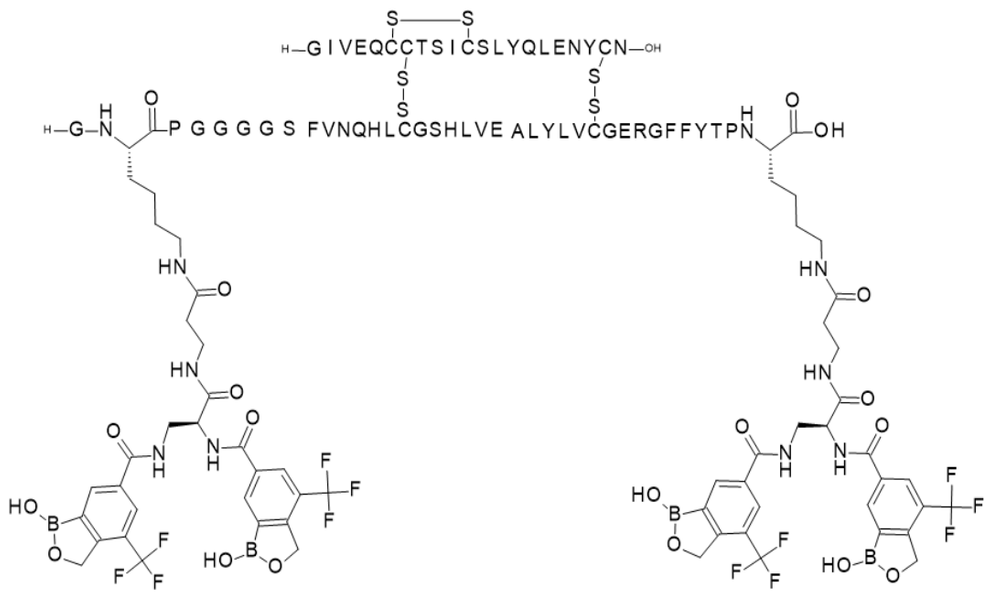
El Ejemplo 298 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 299:



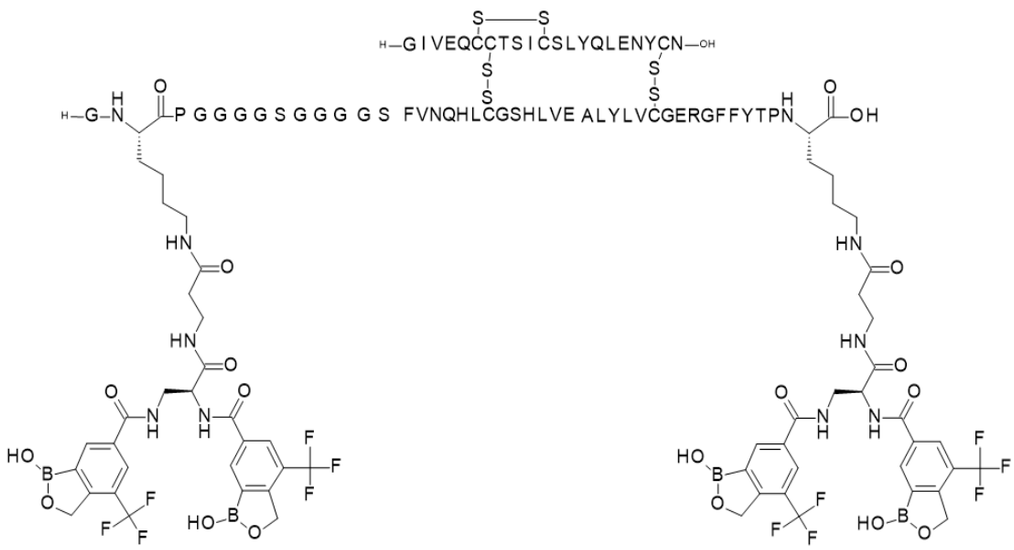
El Ejemplo 299 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 300:



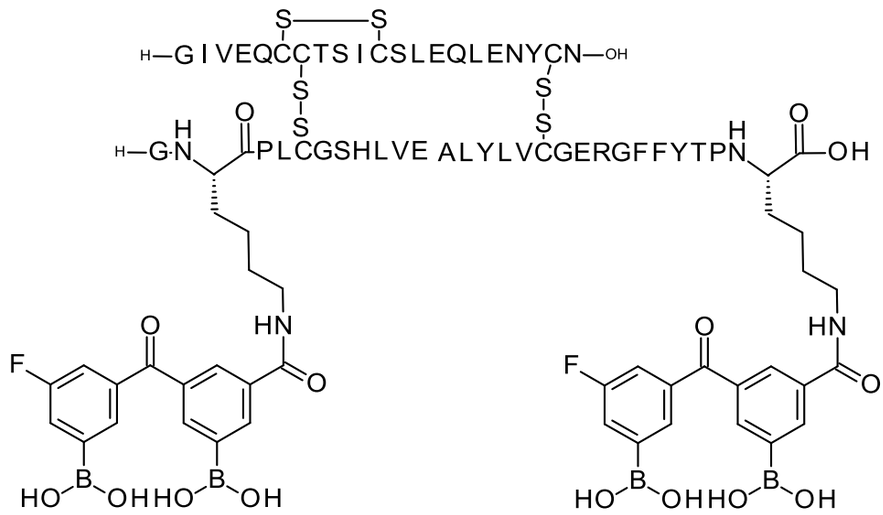
El Ejemplo 300 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 301:



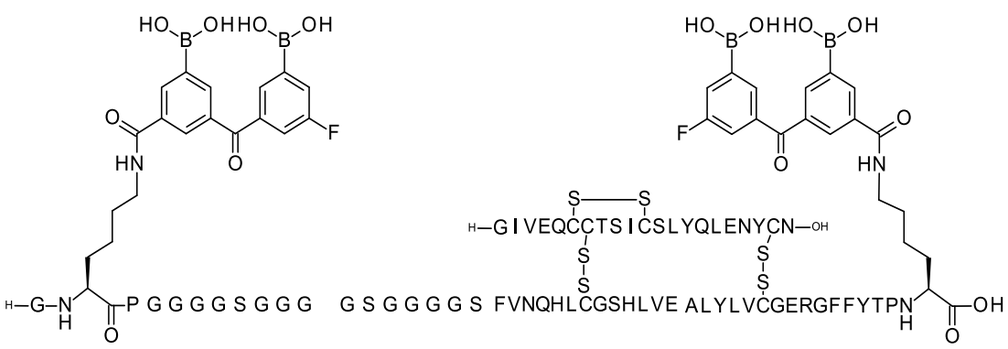
El Ejemplo 301 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 302:



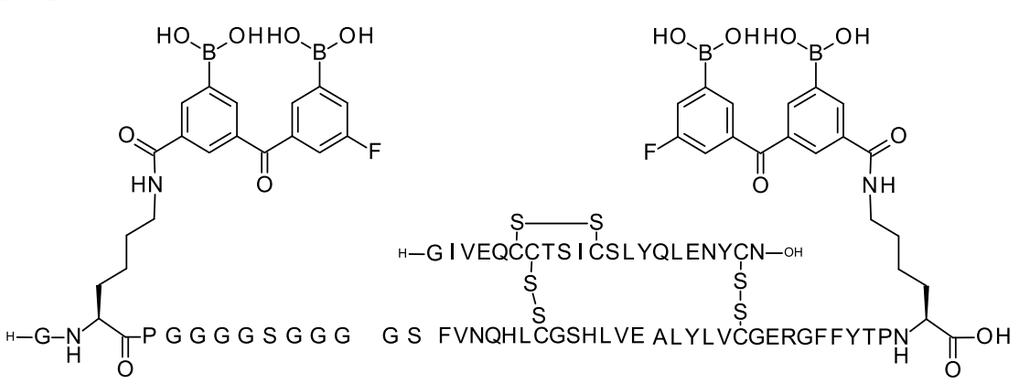
El Ejemplo 302 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 303:



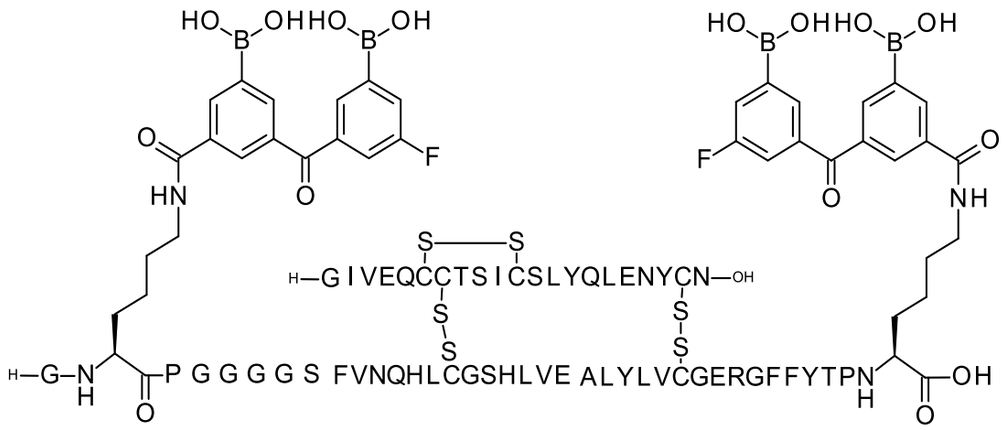
El Ejemplo 303 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 304:



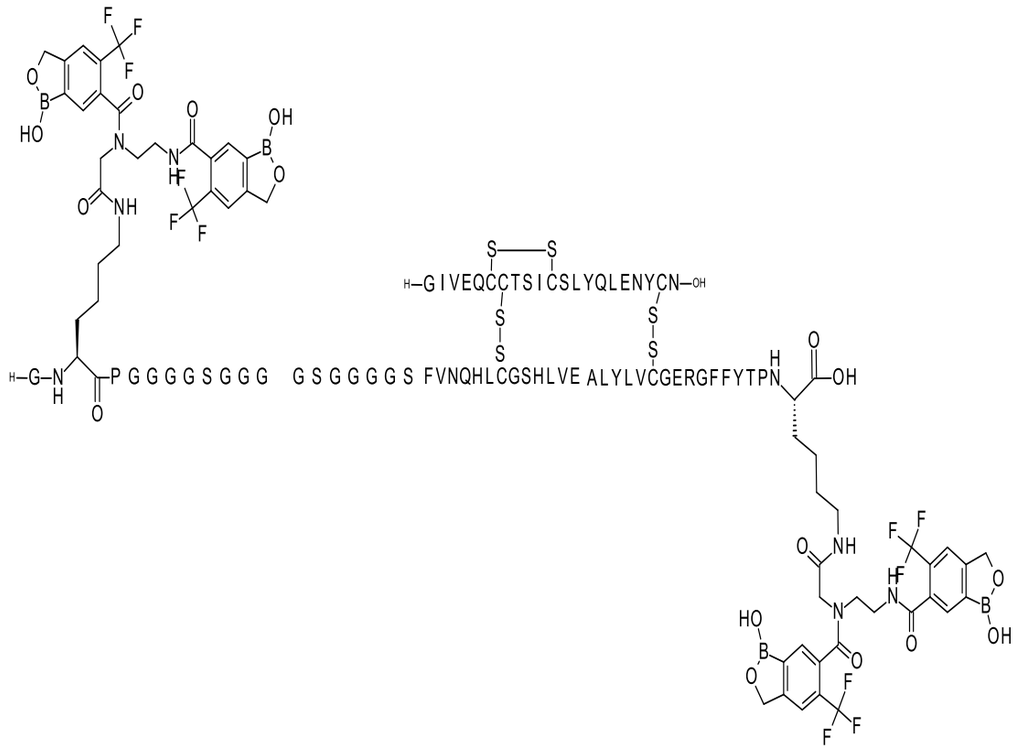
El Ejemplo 304 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 305:



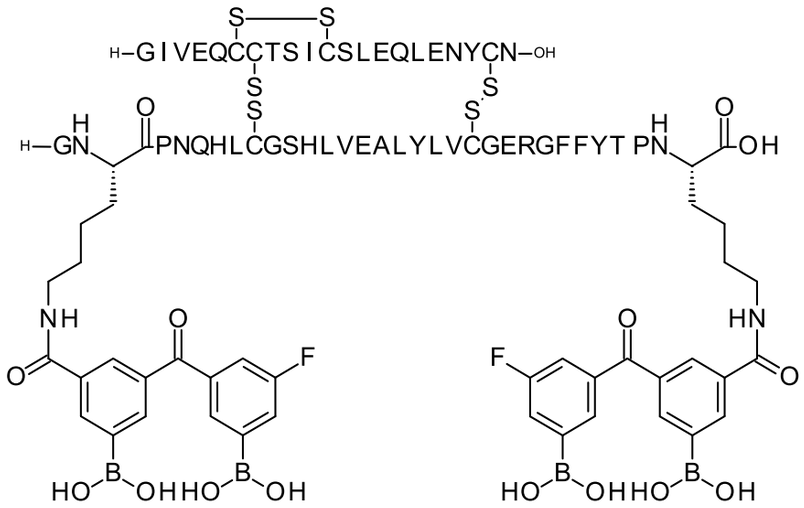
El Ejemplo 305 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 306:



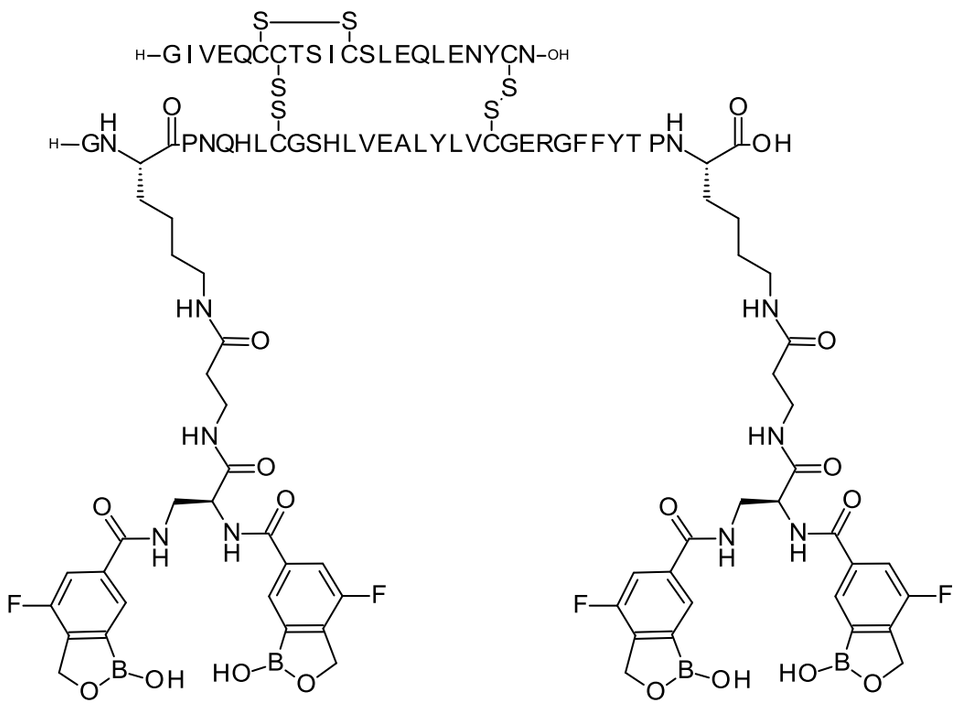
El Ejemplo 306 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 35.

Ejemplo 307:



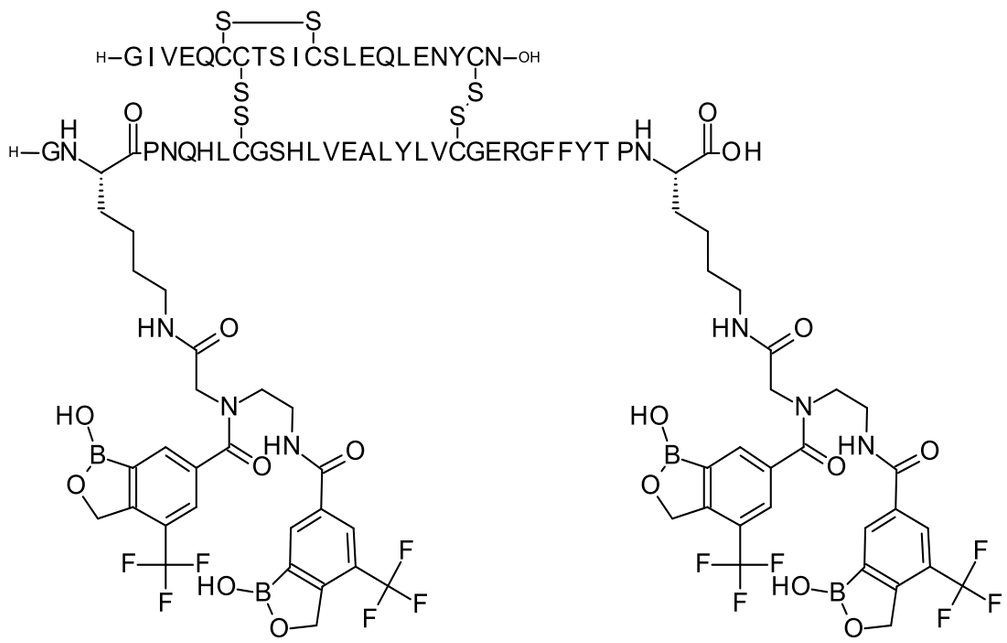
El Ejemplo 307 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 308:



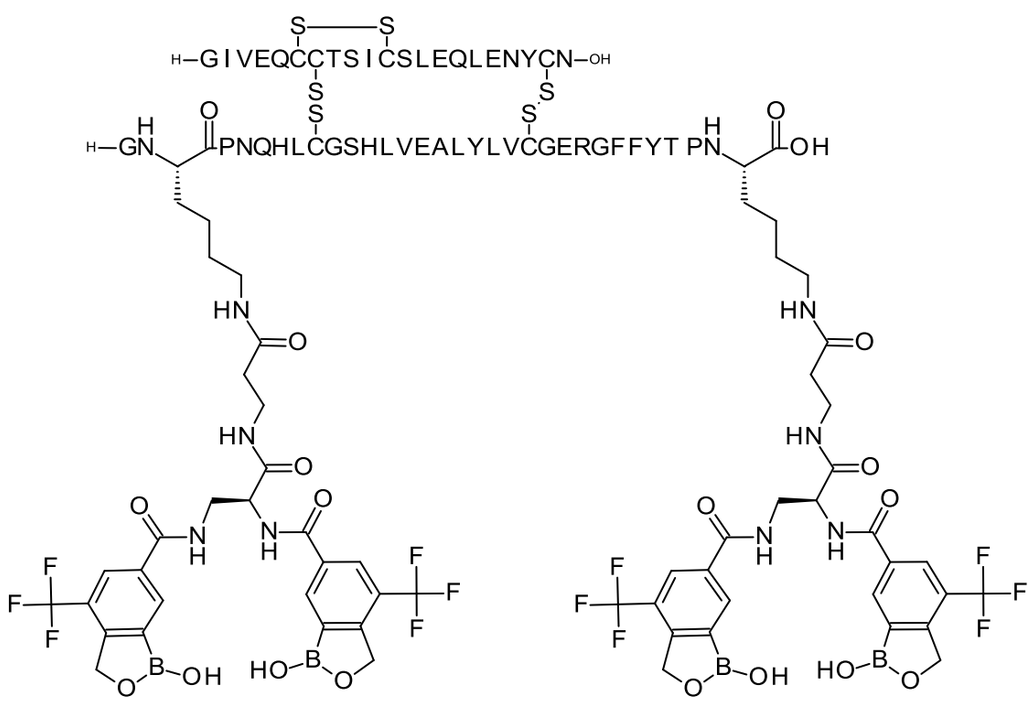
El Ejemplo 308 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 309:



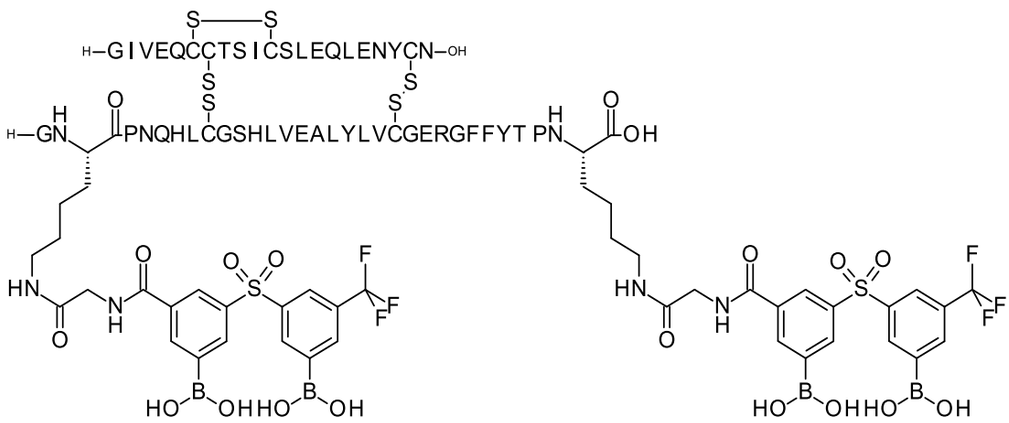
El Ejemplo 309 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 310:



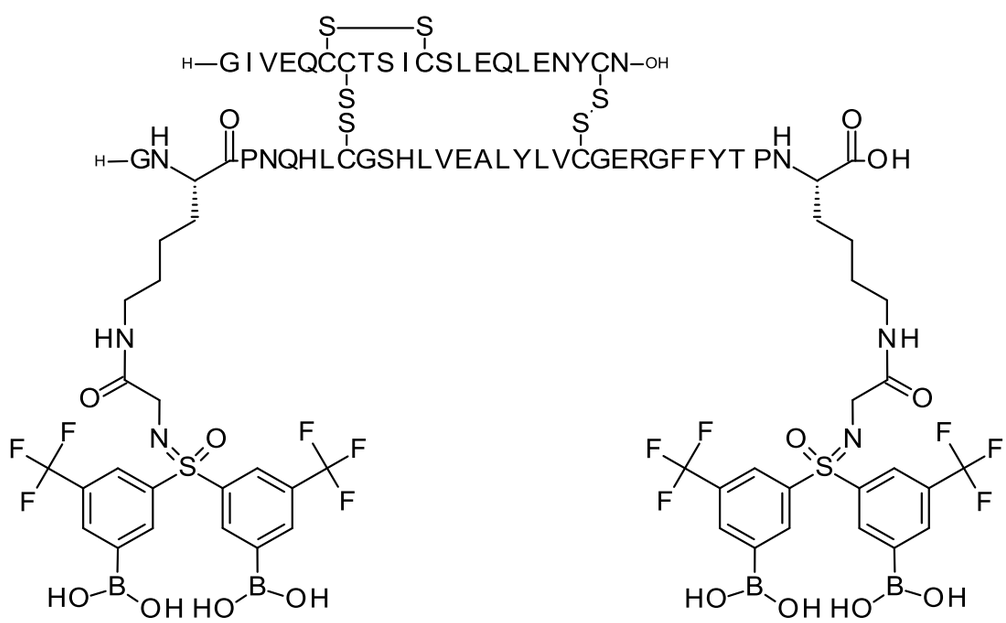
El Ejemplo 310 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 311:



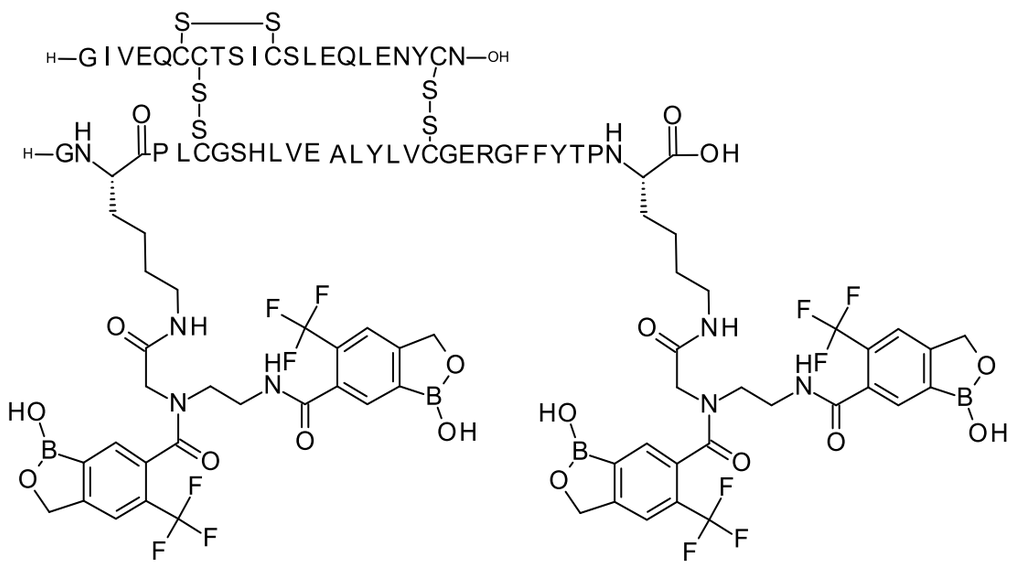
El Ejemplo 311 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 y el componente básico del Ejemplo 22.

Ejemplo 312:



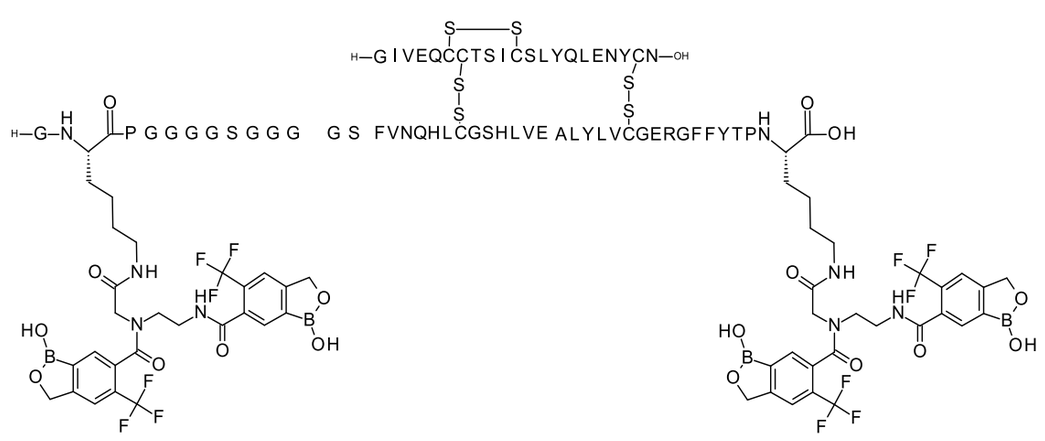
El Ejemplo 312 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 y el componente básico del Ejemplo 16.

Ejemplo 313:



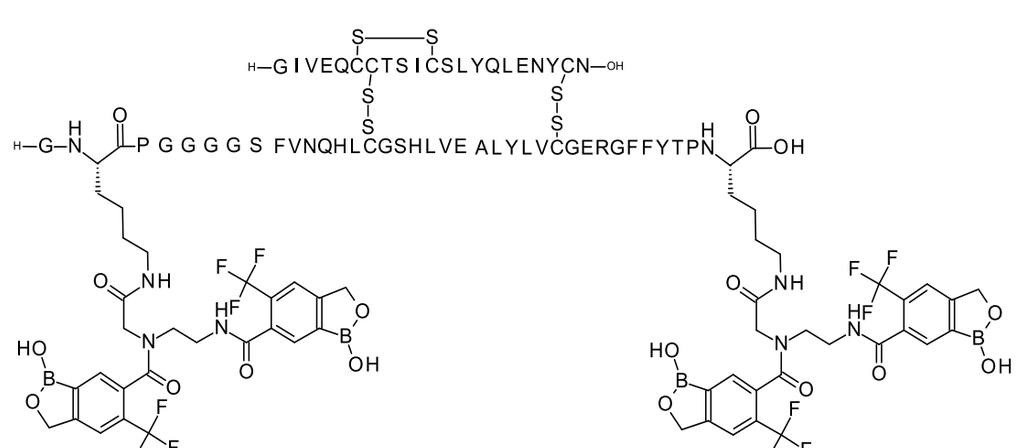
El Ejemplo 313 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 35.

Ejemplo 314:



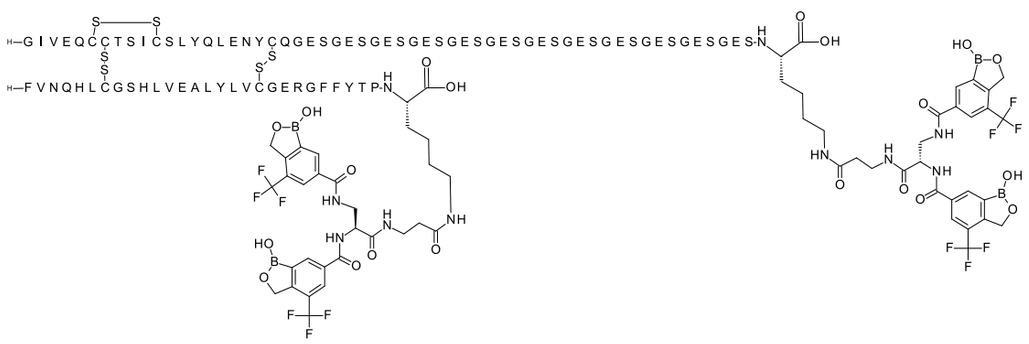
El Ejemplo 314 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 35.

Ejemplo 315:



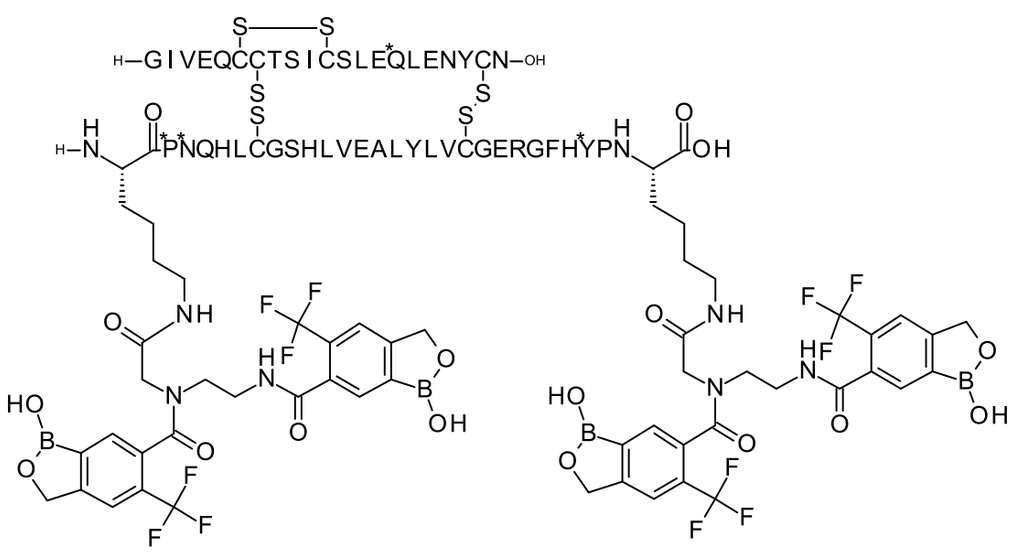
El Ejemplo 315 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 35.

Ejemplo 316:



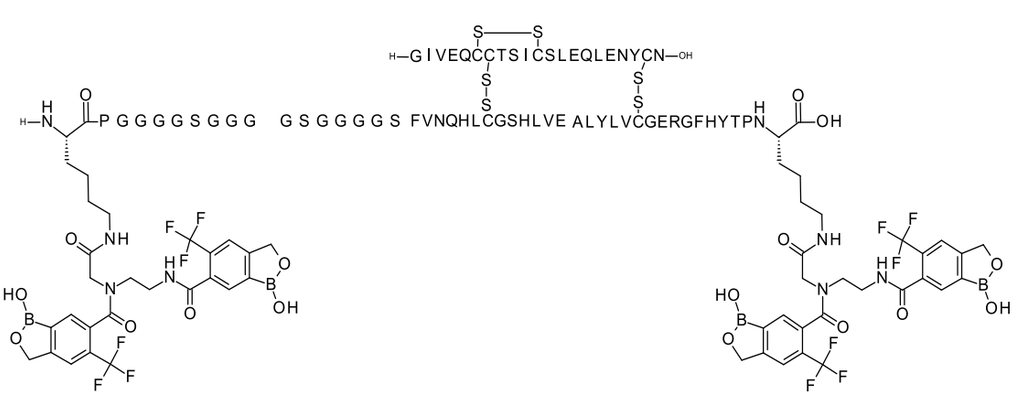
El Ejemplo 316 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)12K desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 317:



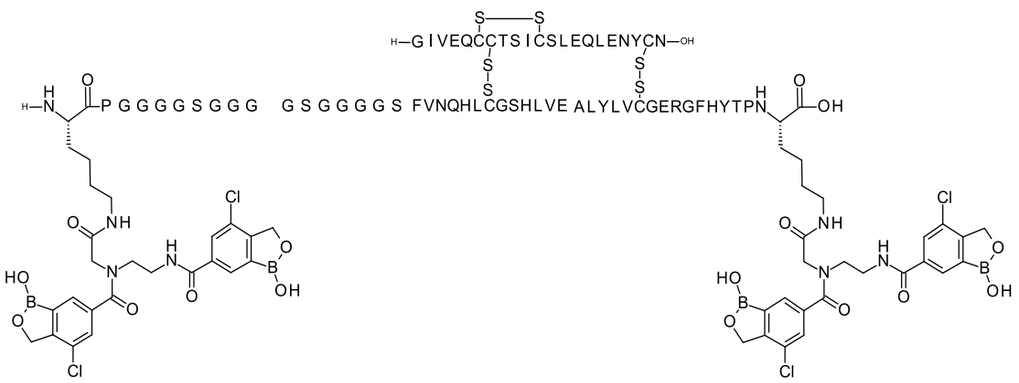
El Ejemplo 317 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 35.

Ejemplo 318:



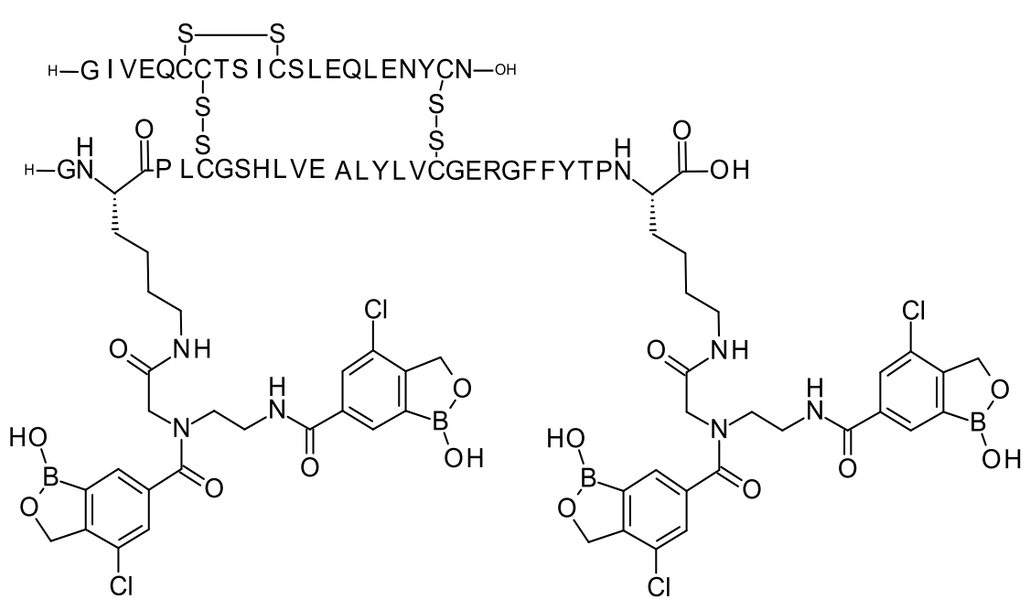
El Ejemplo 318 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 35.

Ejemplo 319:



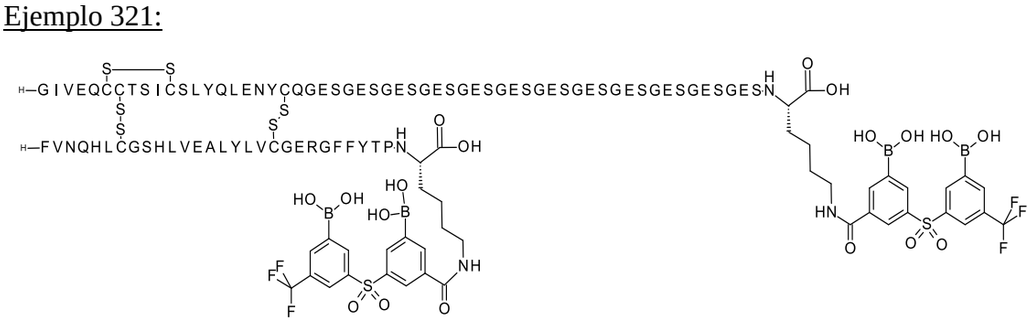
El Ejemplo 319 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 36.

Ejemplo 320:



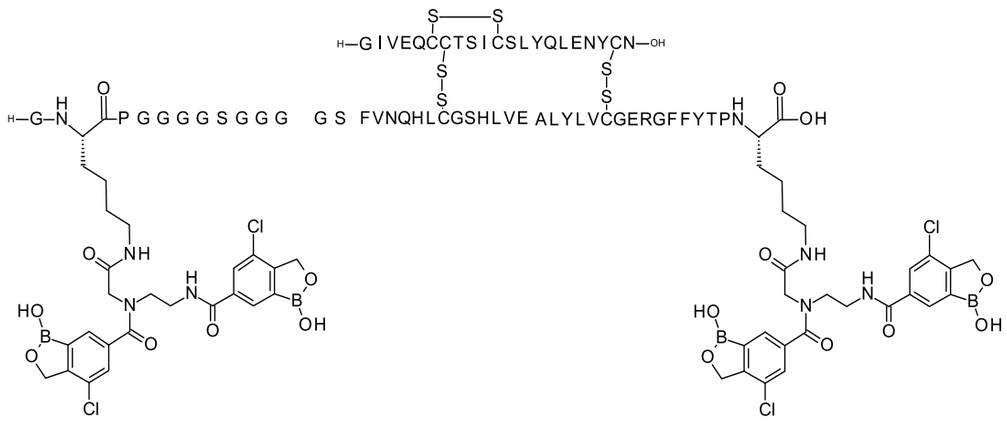
El Ejemplo 320 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 36.

Ejemplo 321:



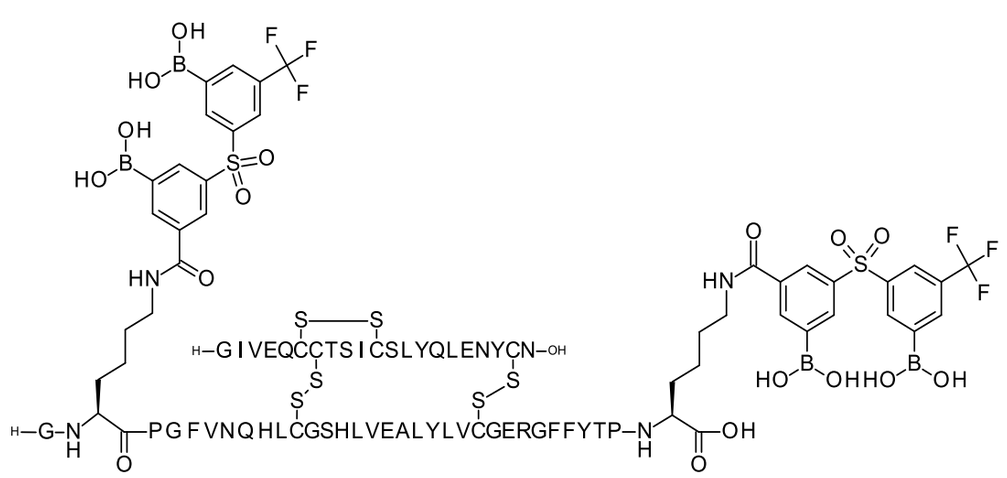
El Ejemplo 321 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)12K desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 322:



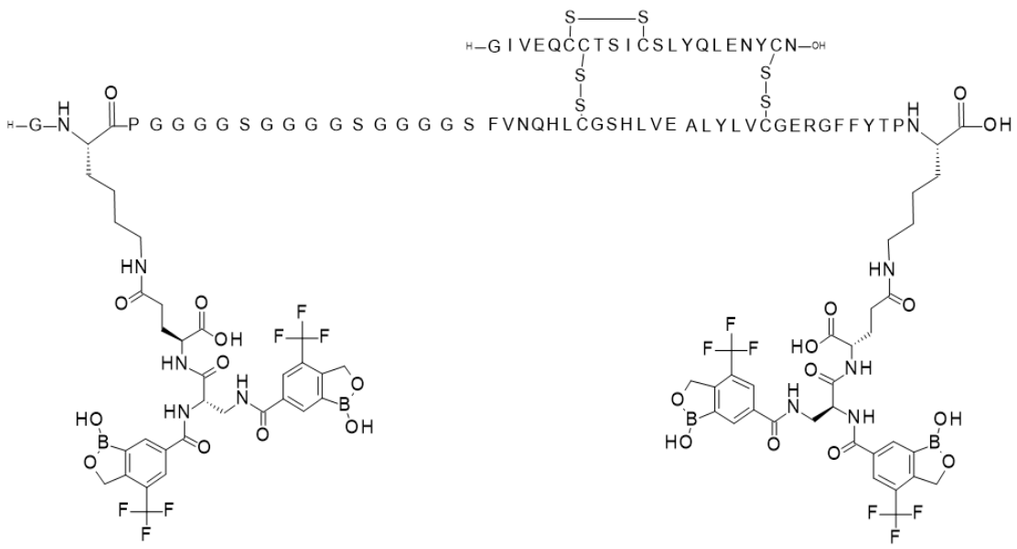
El Ejemplo 322 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 36.

Ejemplo 323:



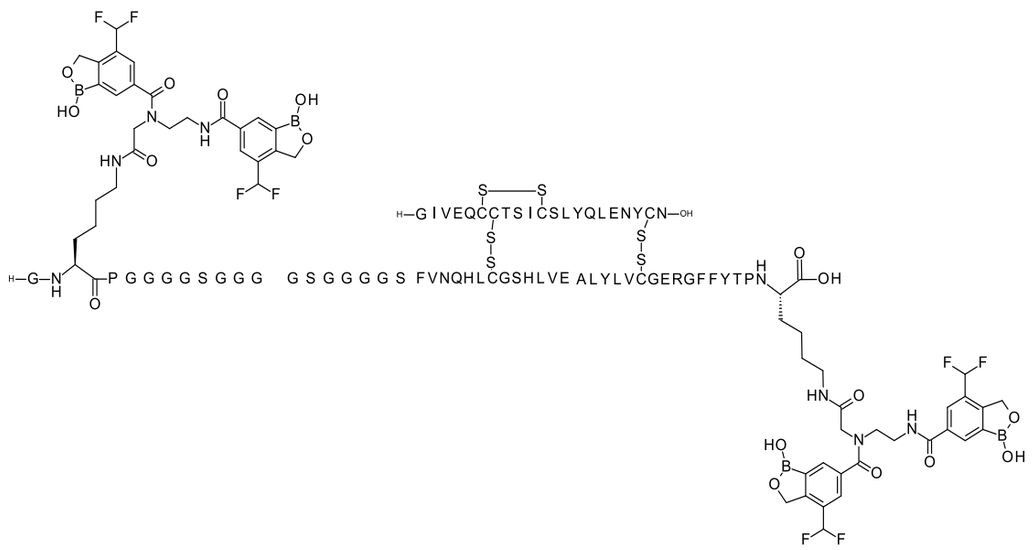
El Ejemplo 323 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPG desB30 y el componente básico del Ejemplo 34.

Ejemplo 324:



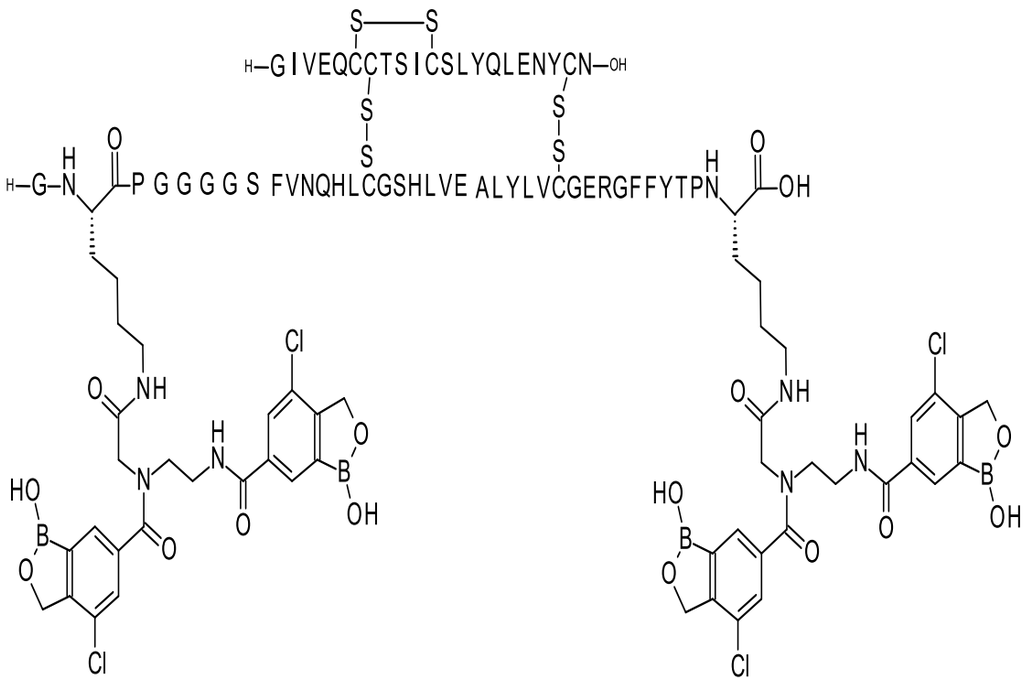
El Ejemplo 324 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 325:



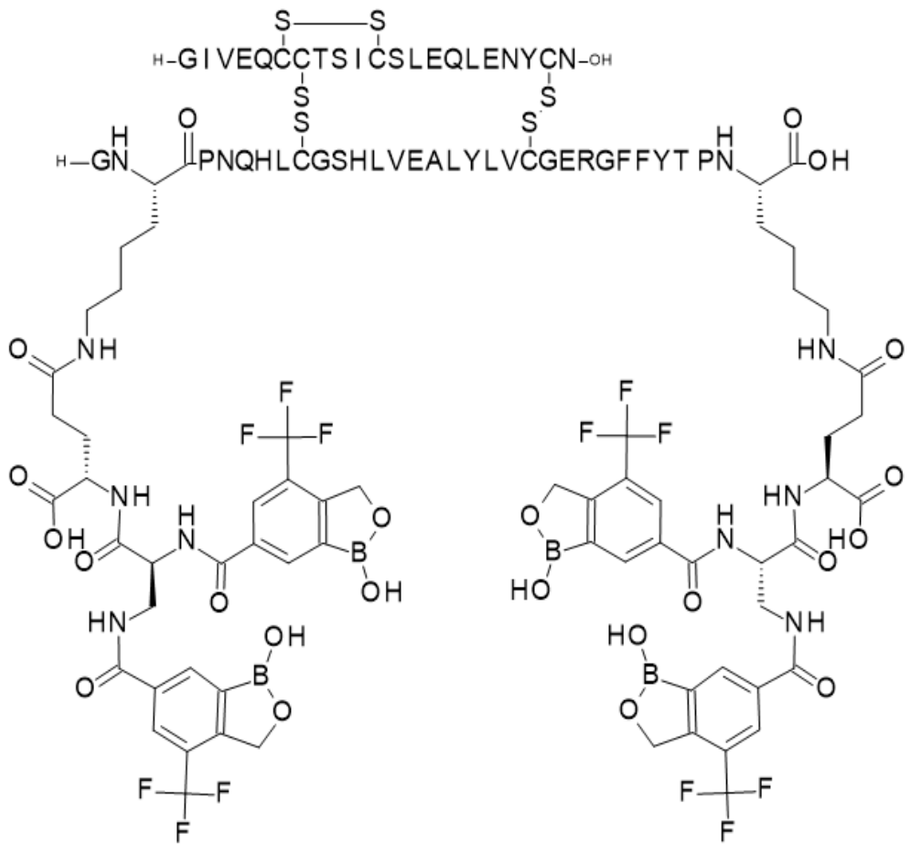
El Ejemplo 325 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 38.

Ejemplo 326:



El Ejemplo 326 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 36.

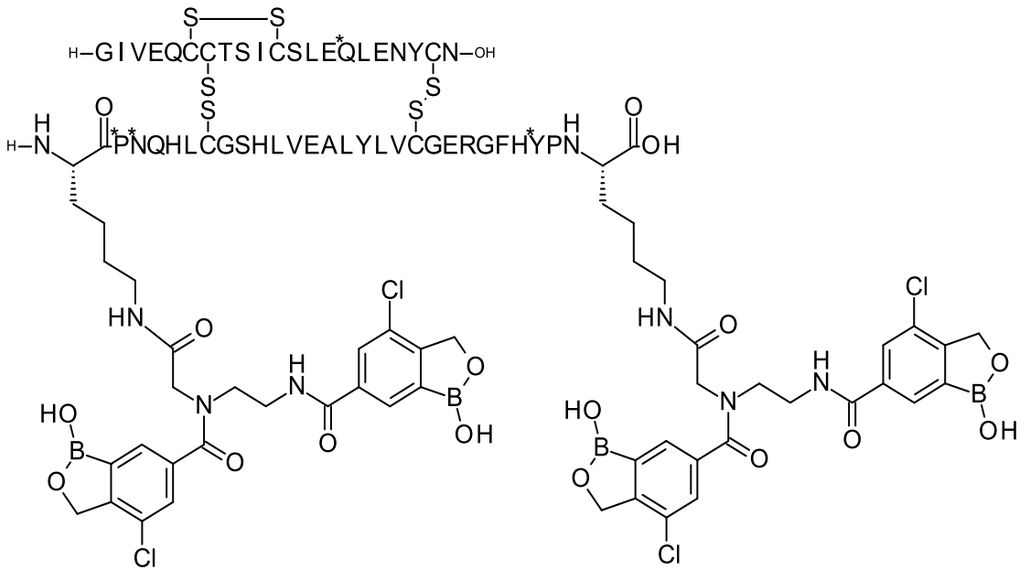
Ejemplo 327:



El Ejemplo 327 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B-1G B1K B2P desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector

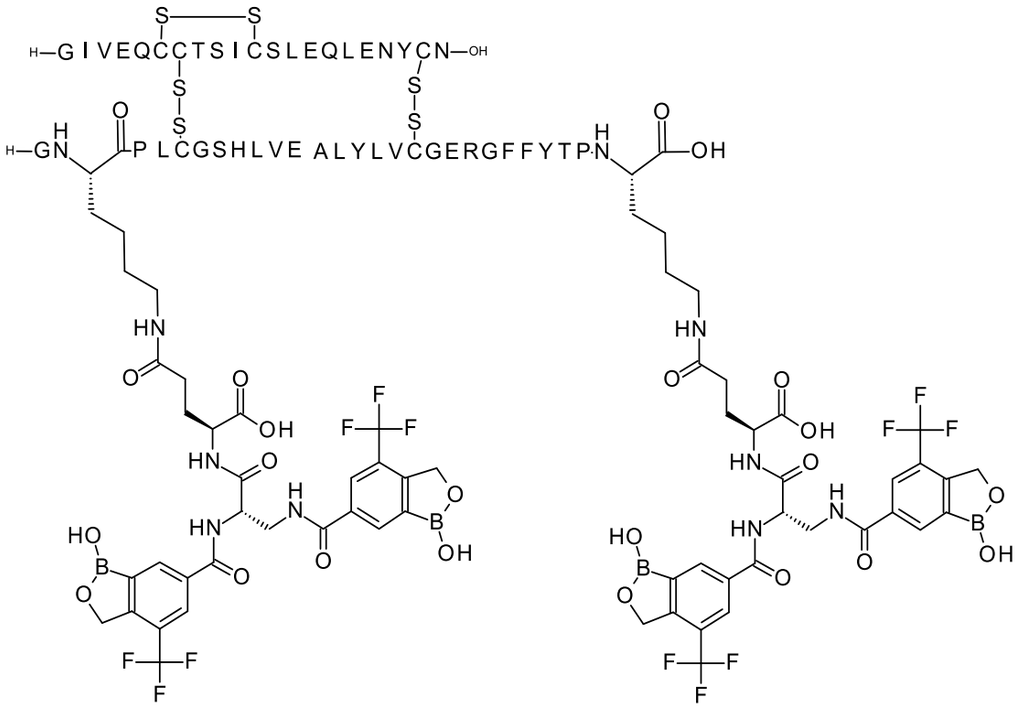
terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 328:



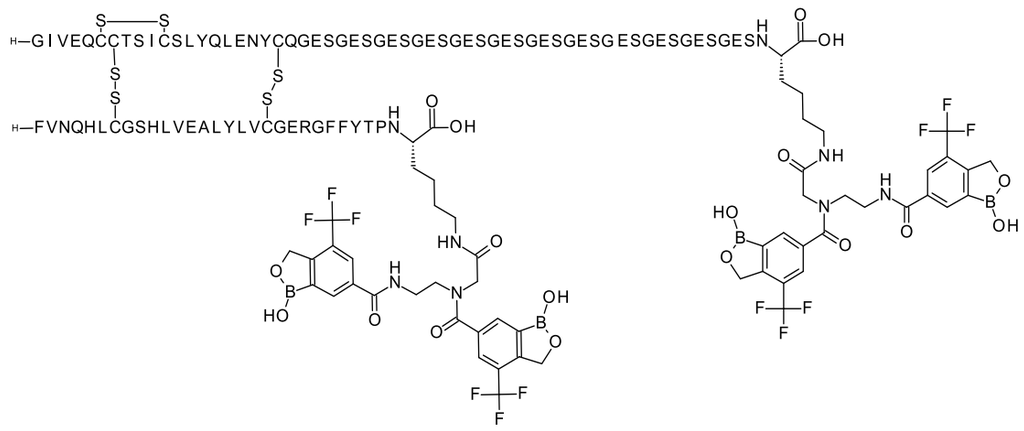
El Ejemplo 328 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 36.

Ejemplo 329:



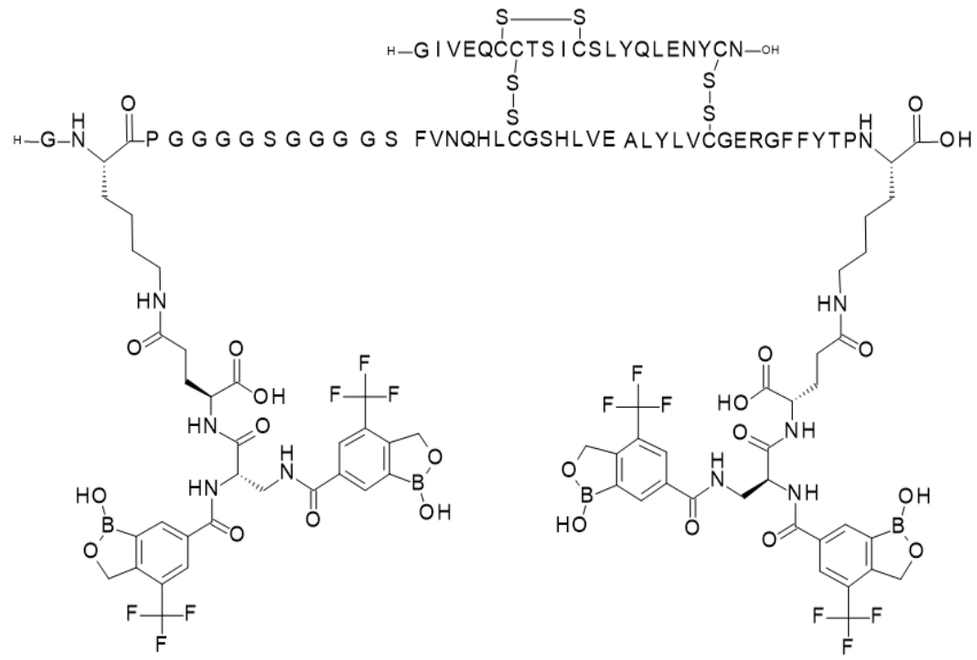
El Ejemplo 329 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 330:



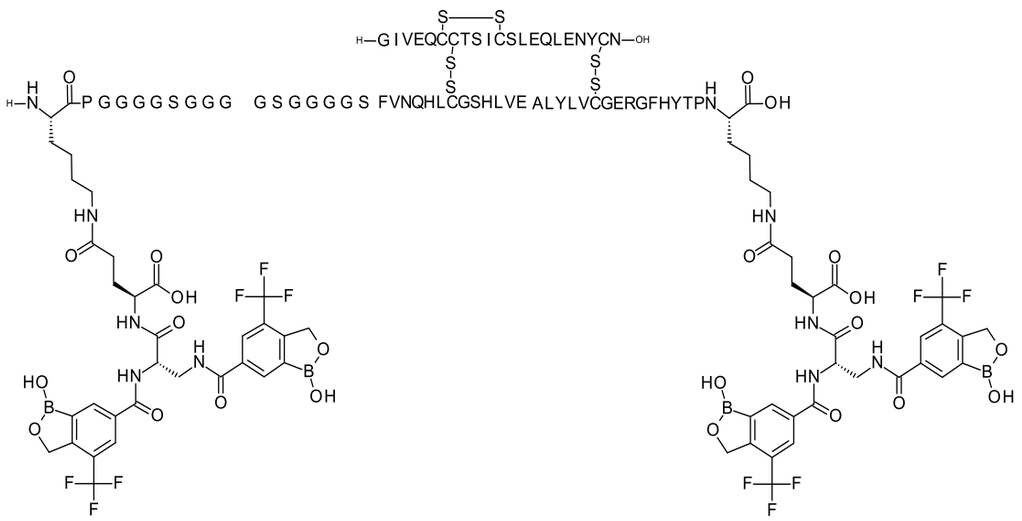
El Ejemplo 330 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)12K desB30 y el componente básico del Ejemplo 28.

Ejemplo 331:



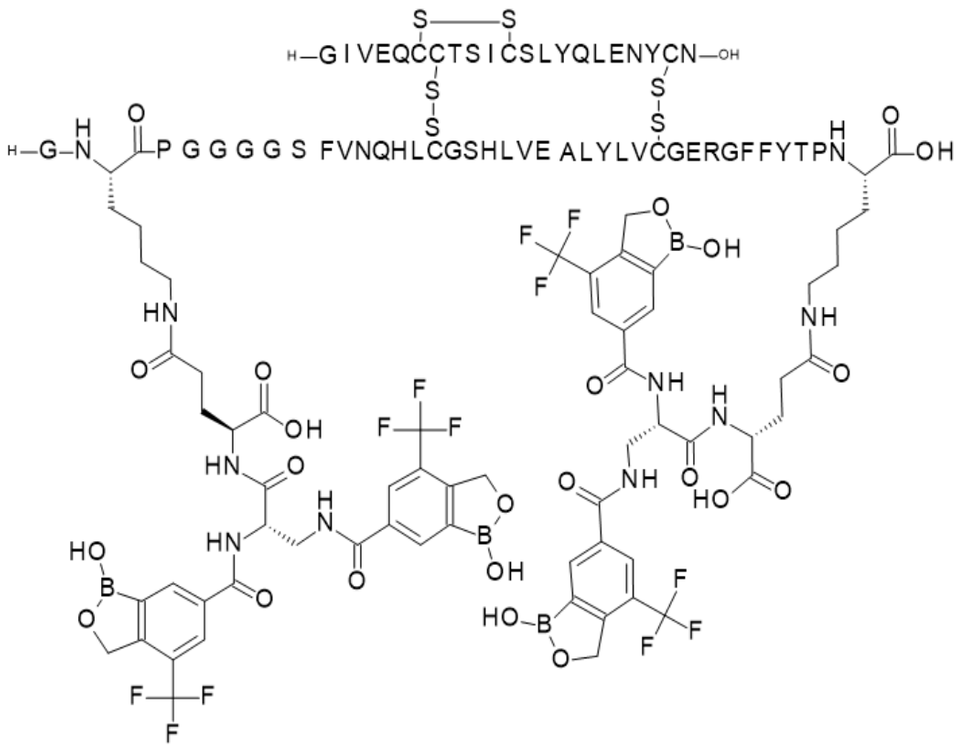
El Ejemplo 331 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 332:



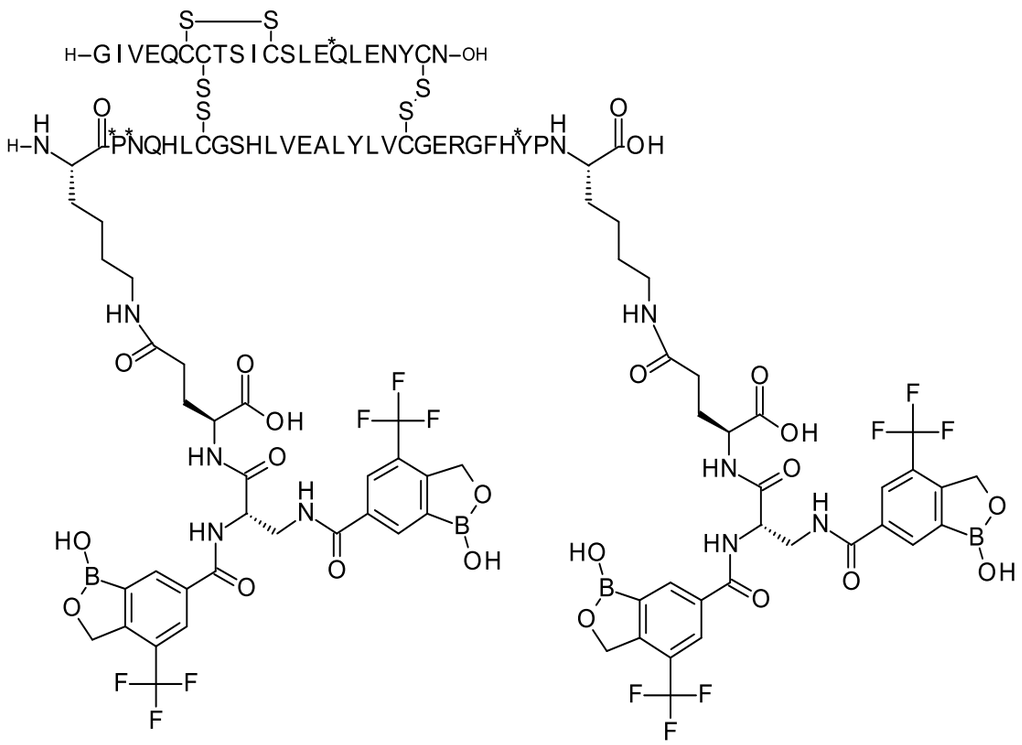
El Ejemplo 332 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 333:



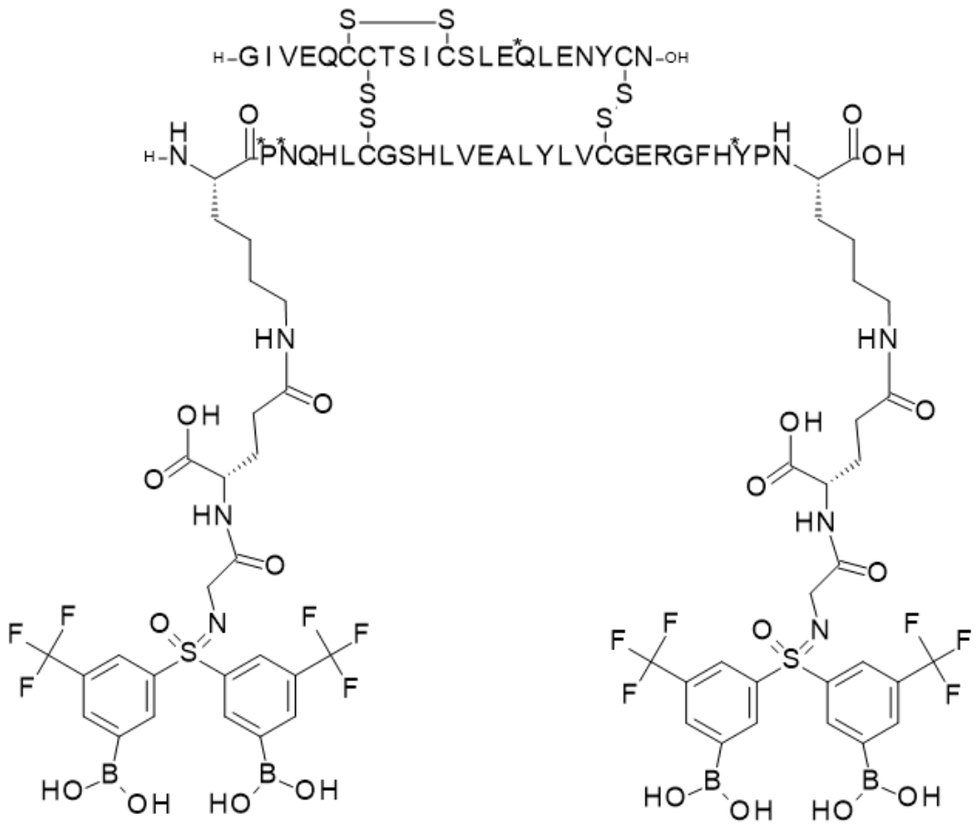
El Ejemplo 333 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 334:



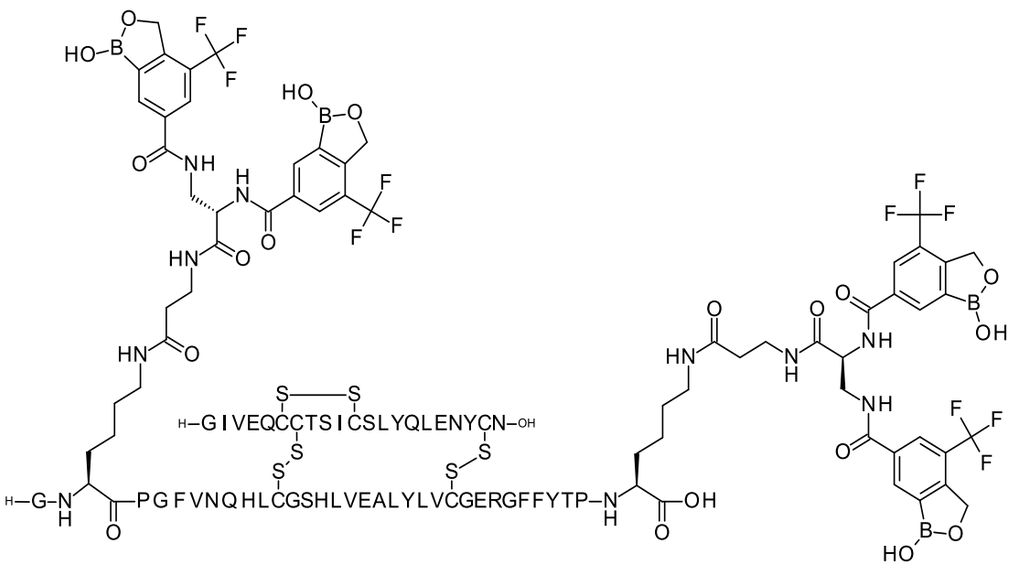
El Ejemplo 334 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 335:



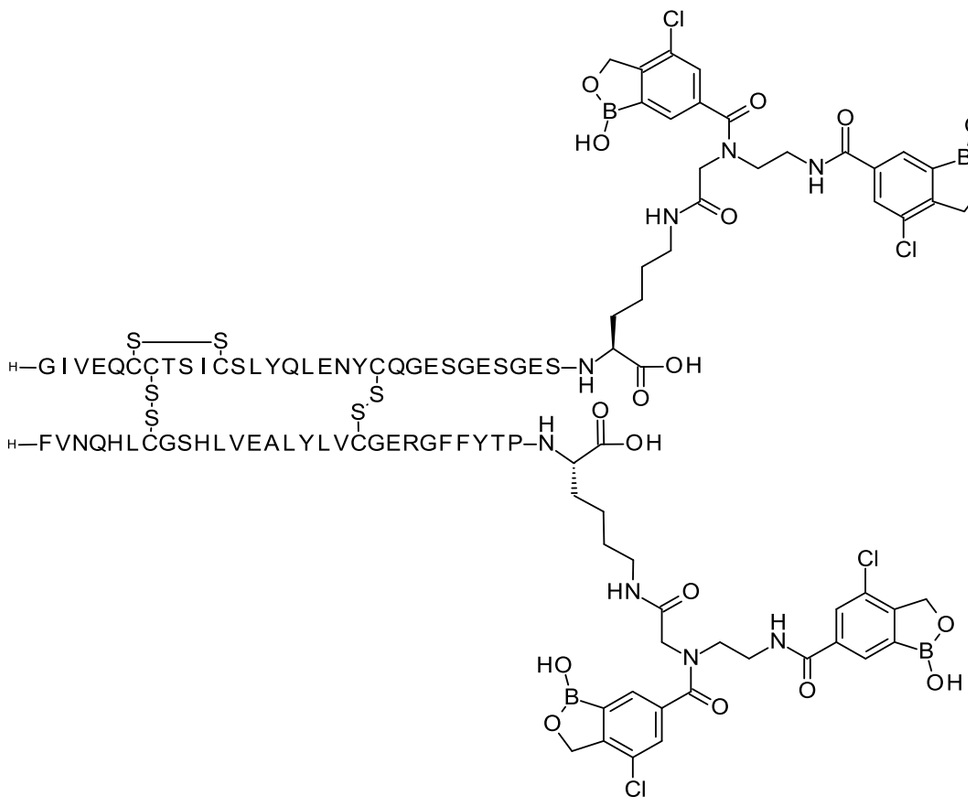
El Ejemplo 335 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 39. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 336:



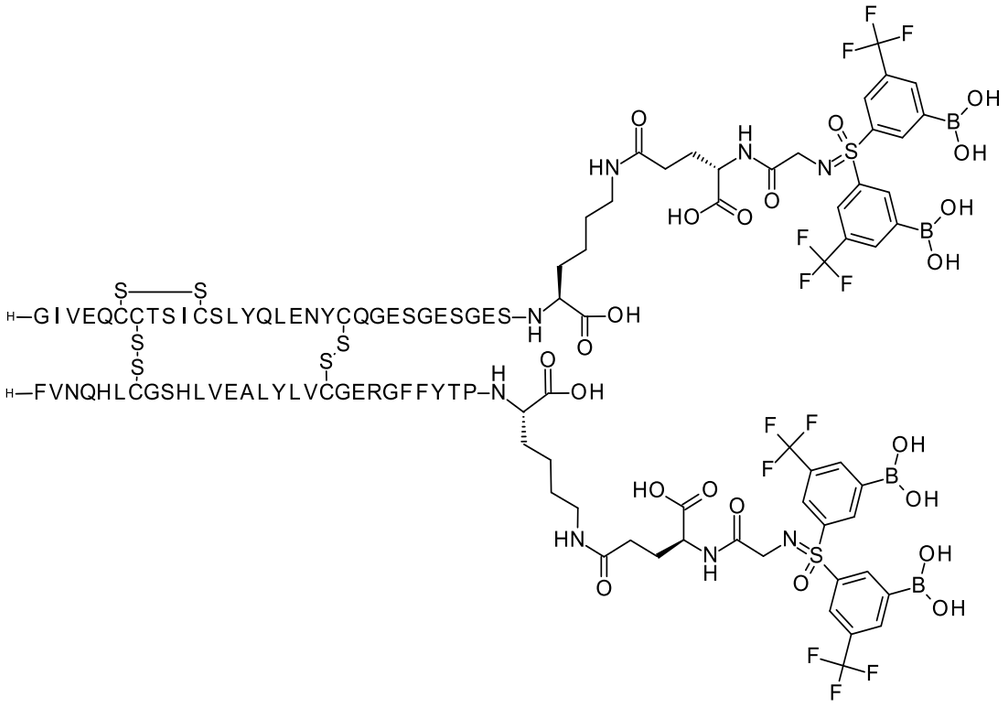
El Ejemplo 336 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPG desB30 y el componente básico del Ejemplo 29.

Ejemplo 337:



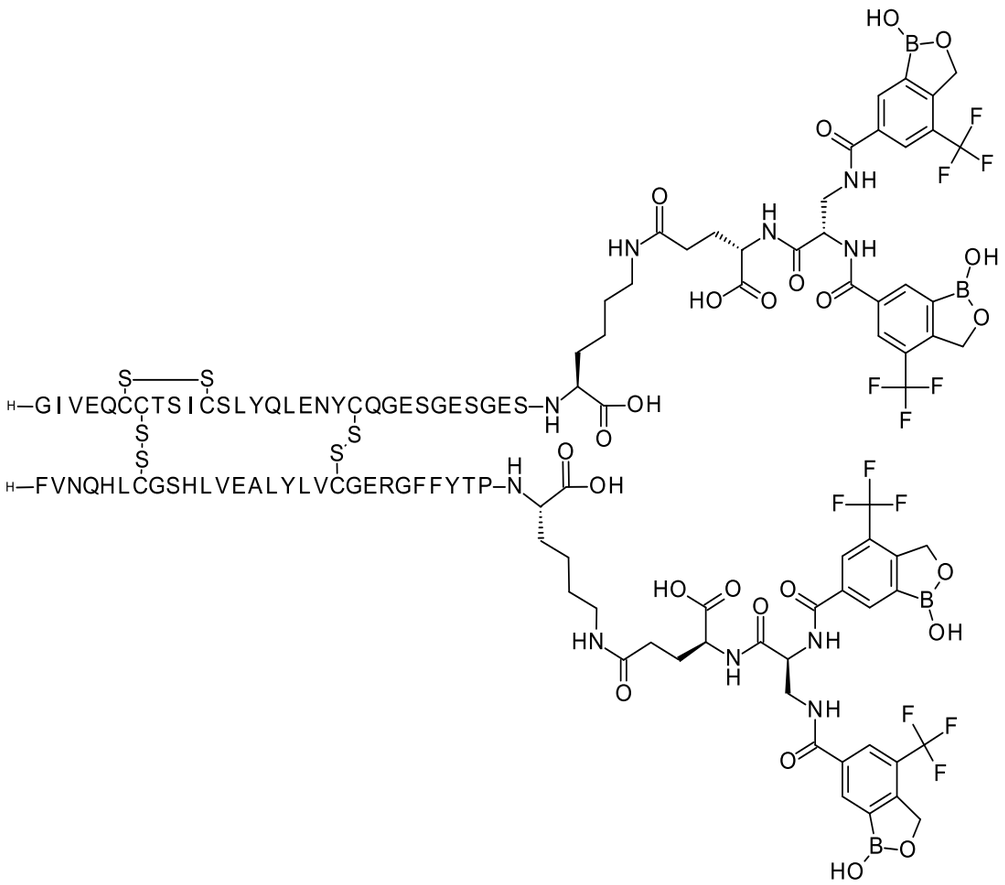
El Ejemplo 337 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 36.

Ejemplo 338:



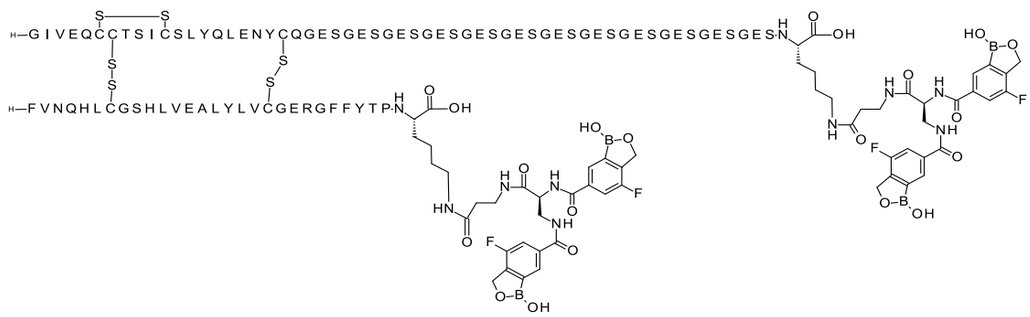
El Ejemplo 338 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 39. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 339:



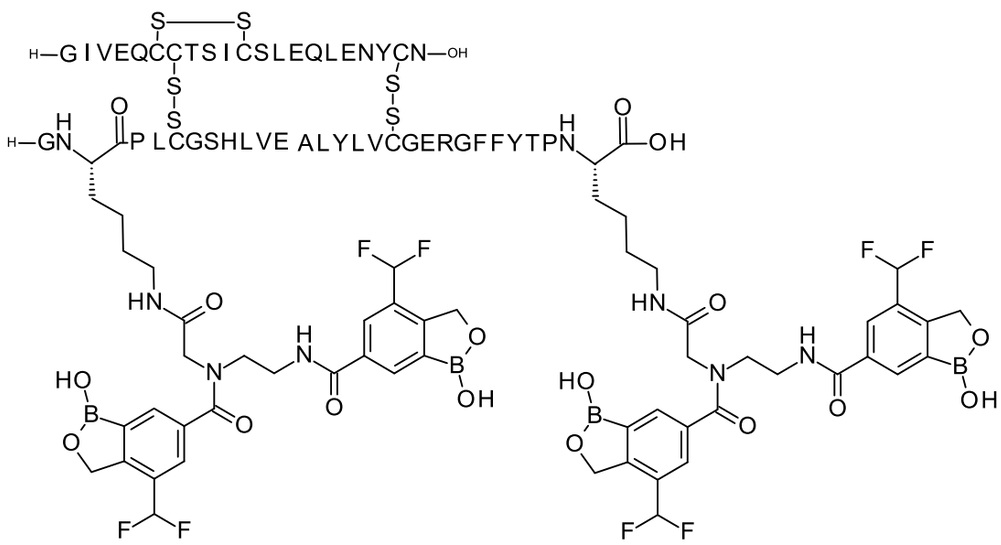
El Ejemplo 339 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 340:



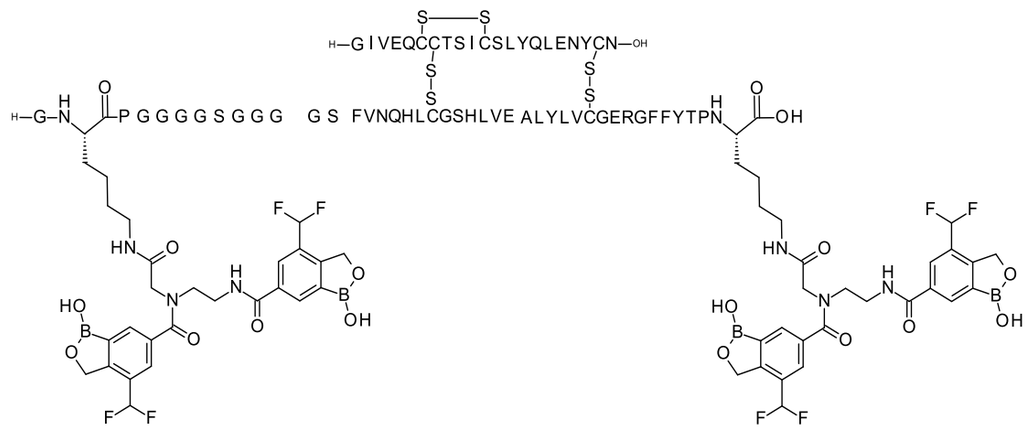
El Ejemplo 340 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)12K desB30 y el componente básico del Ejemplo 30.

Ejemplo 341:



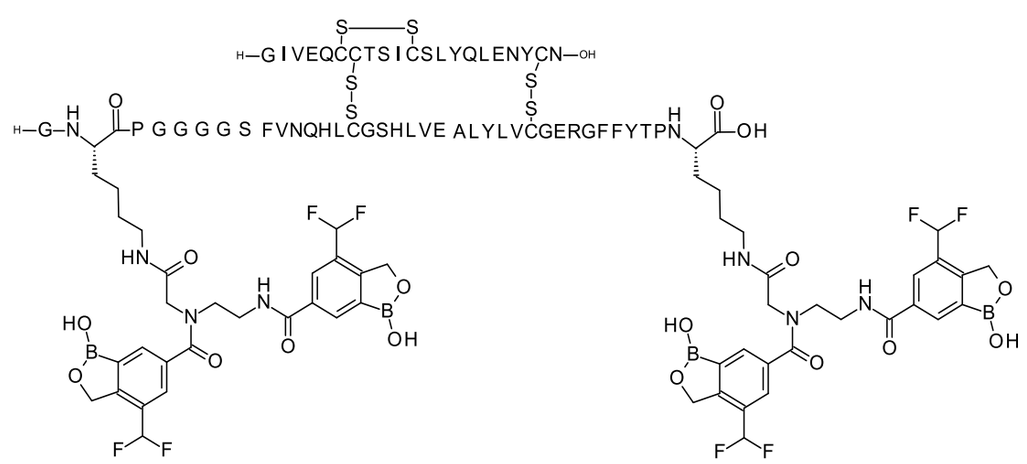
El Ejemplo 341 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)12K desB30 y el componente básico del Ejemplo 38.

Ejemplo 342:



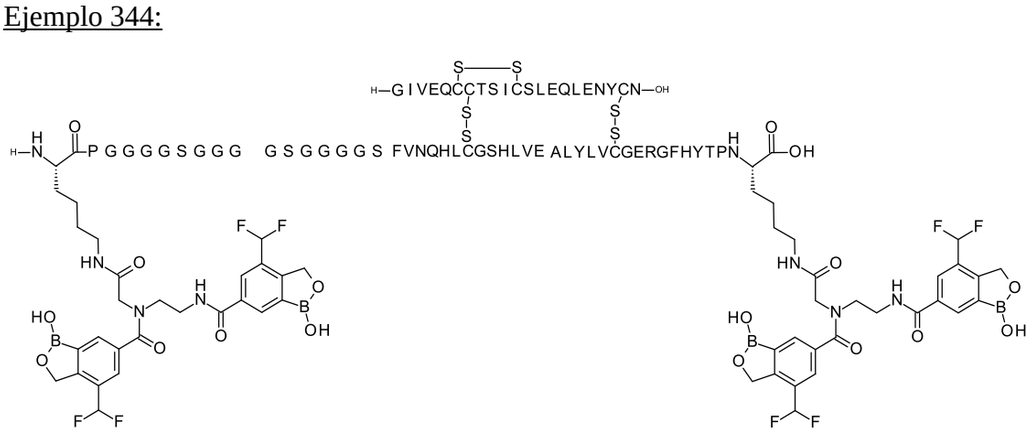
El Ejemplo 342 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 38.

Ejemplo 343:



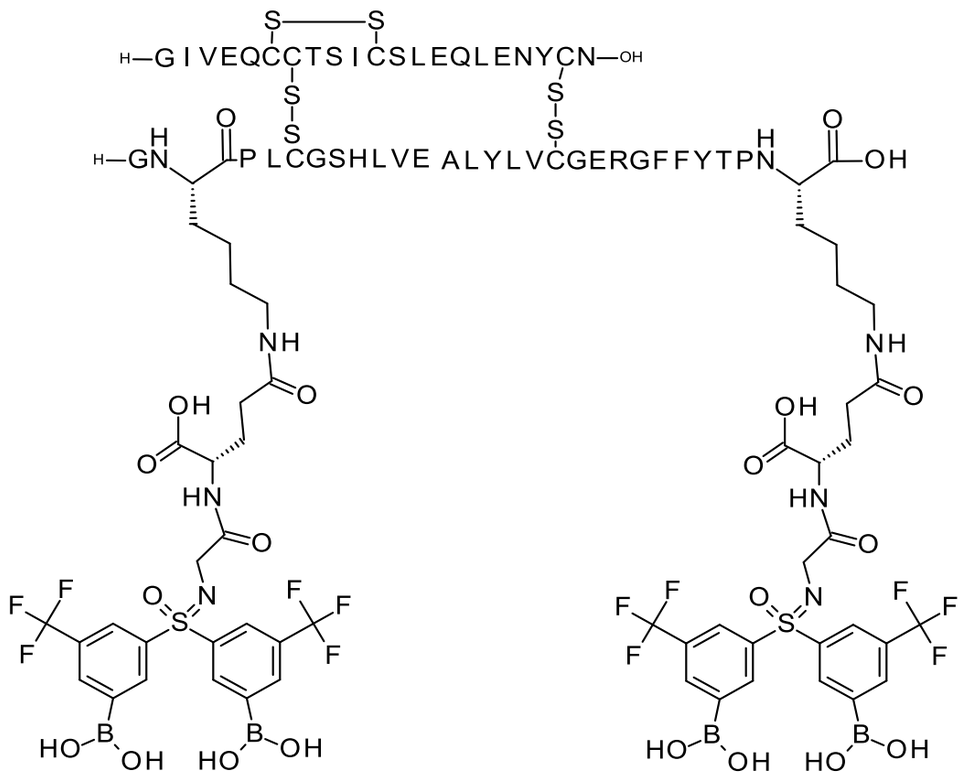
El Ejemplo 343 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 38.

Ejemplo 344:



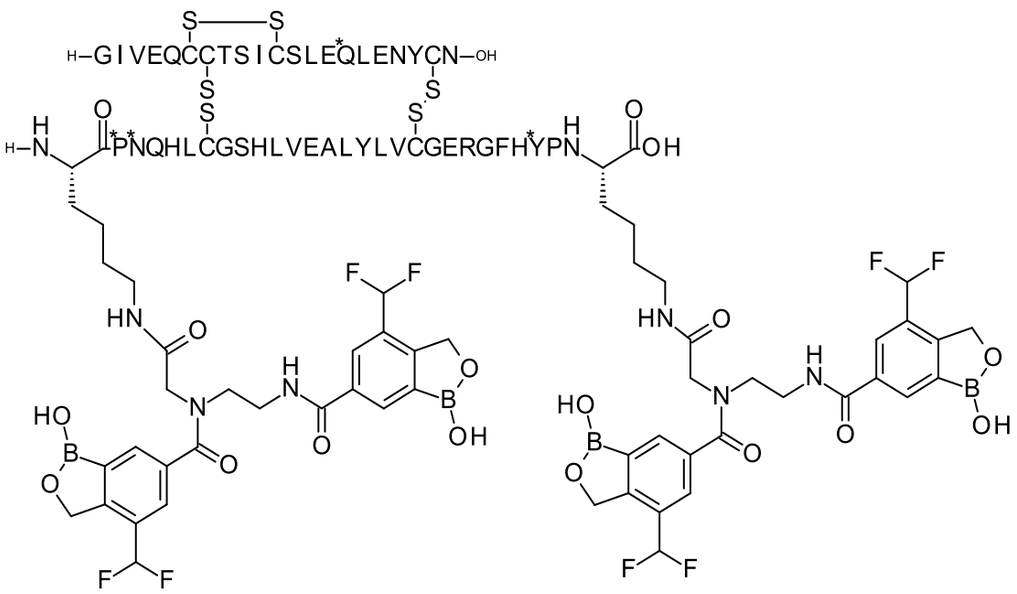
El Ejemplo 344 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-KPGGGGSGGGGSGGGGS A14E B25H desB30 y el componente básico del Ejemplo 38.

Ejemplo 345:



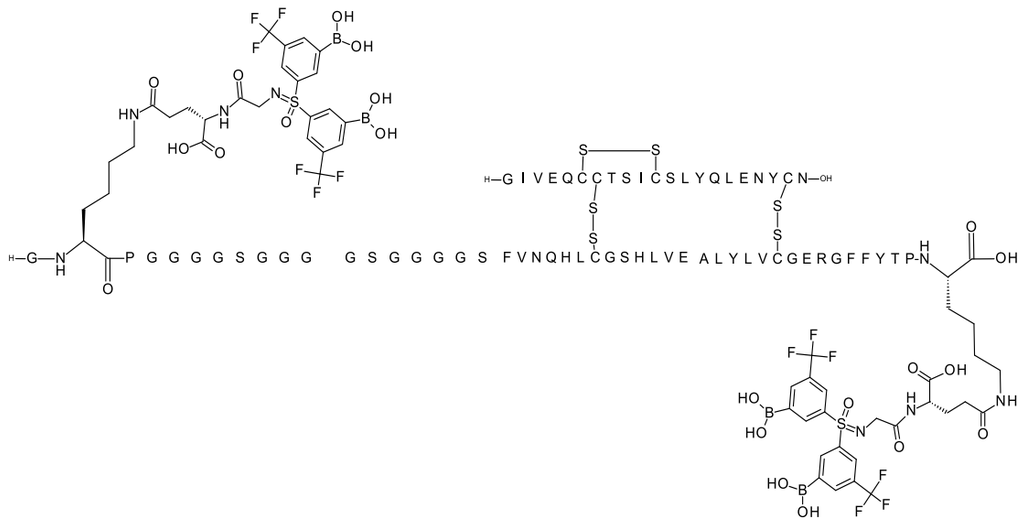
El Ejemplo 345 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 39. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 346:



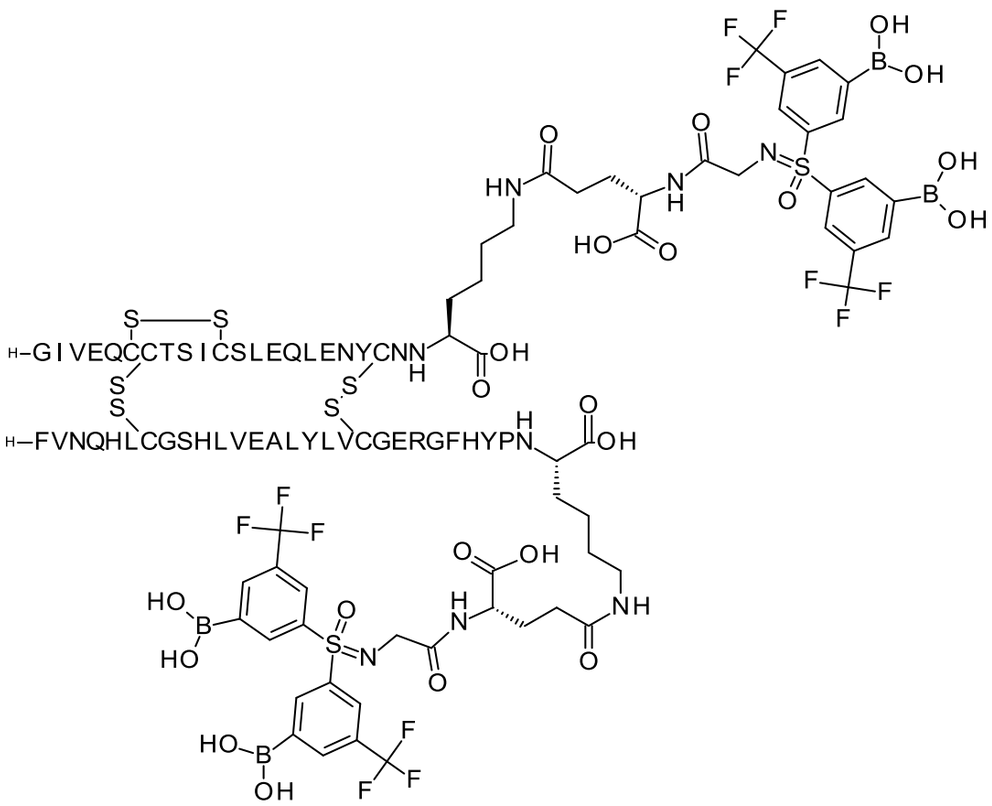
El Ejemplo 346 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E B1K B2P B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 38.

Ejemplo 347:



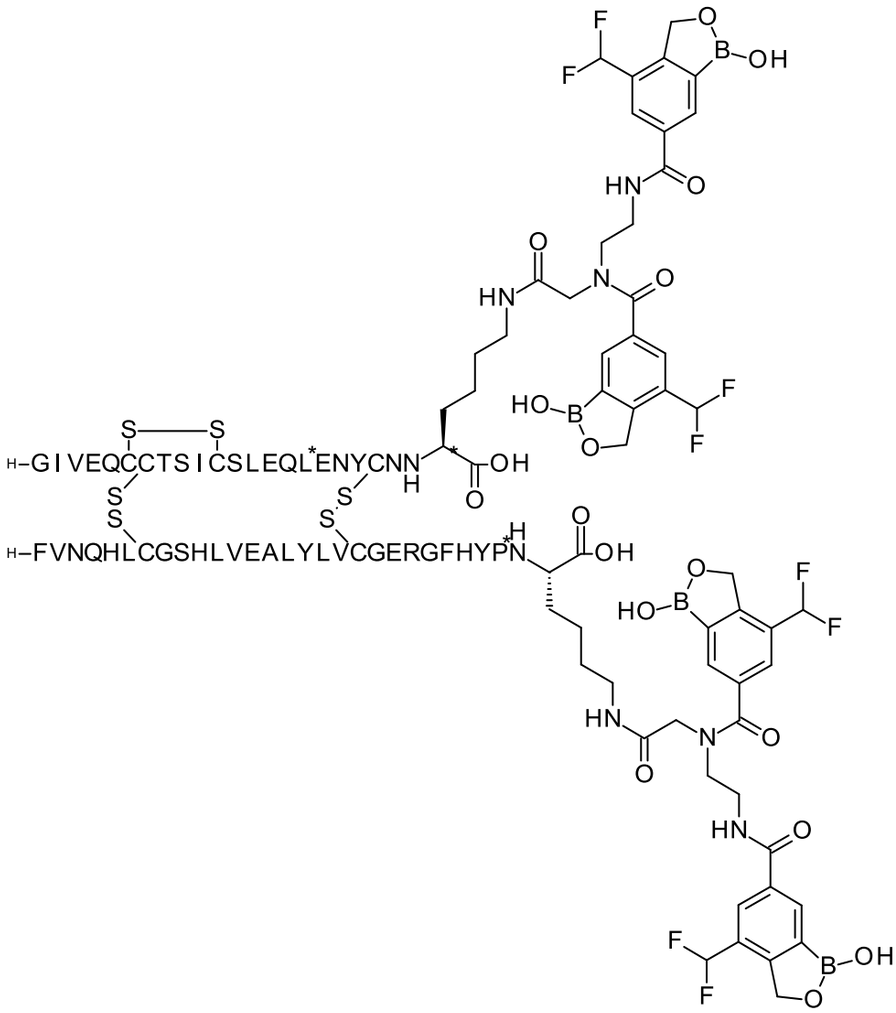
El Ejemplo 347 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 39. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 348:



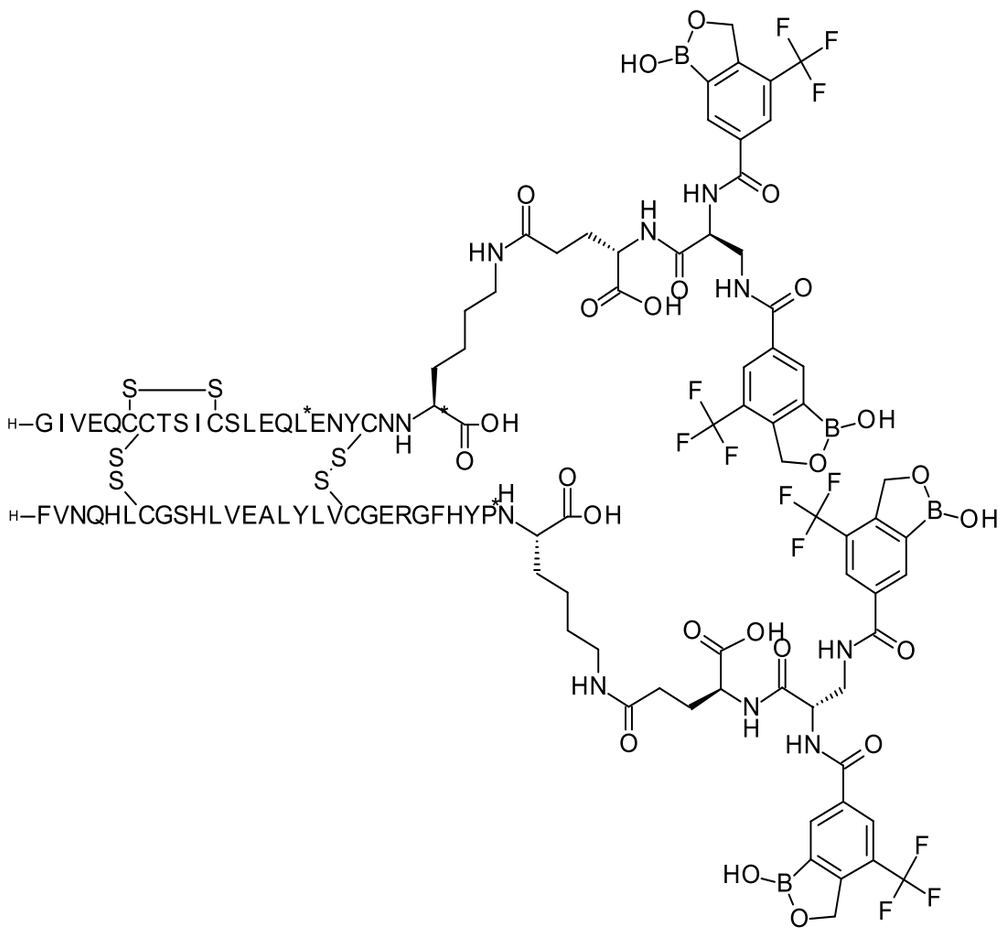
El Ejemplo 348 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 39. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 349:



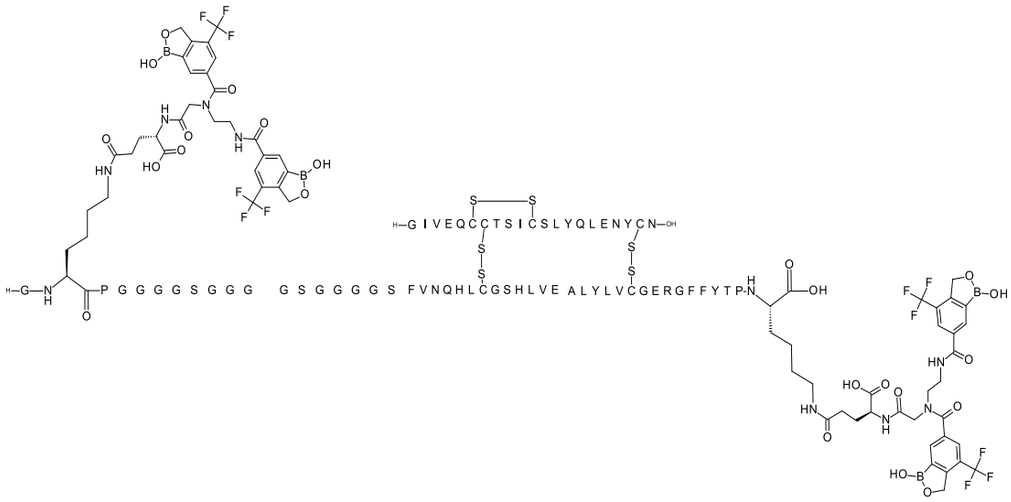
El Ejemplo 349 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 38.

Ejemplo 350:



El Ejemplo 350 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 37. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

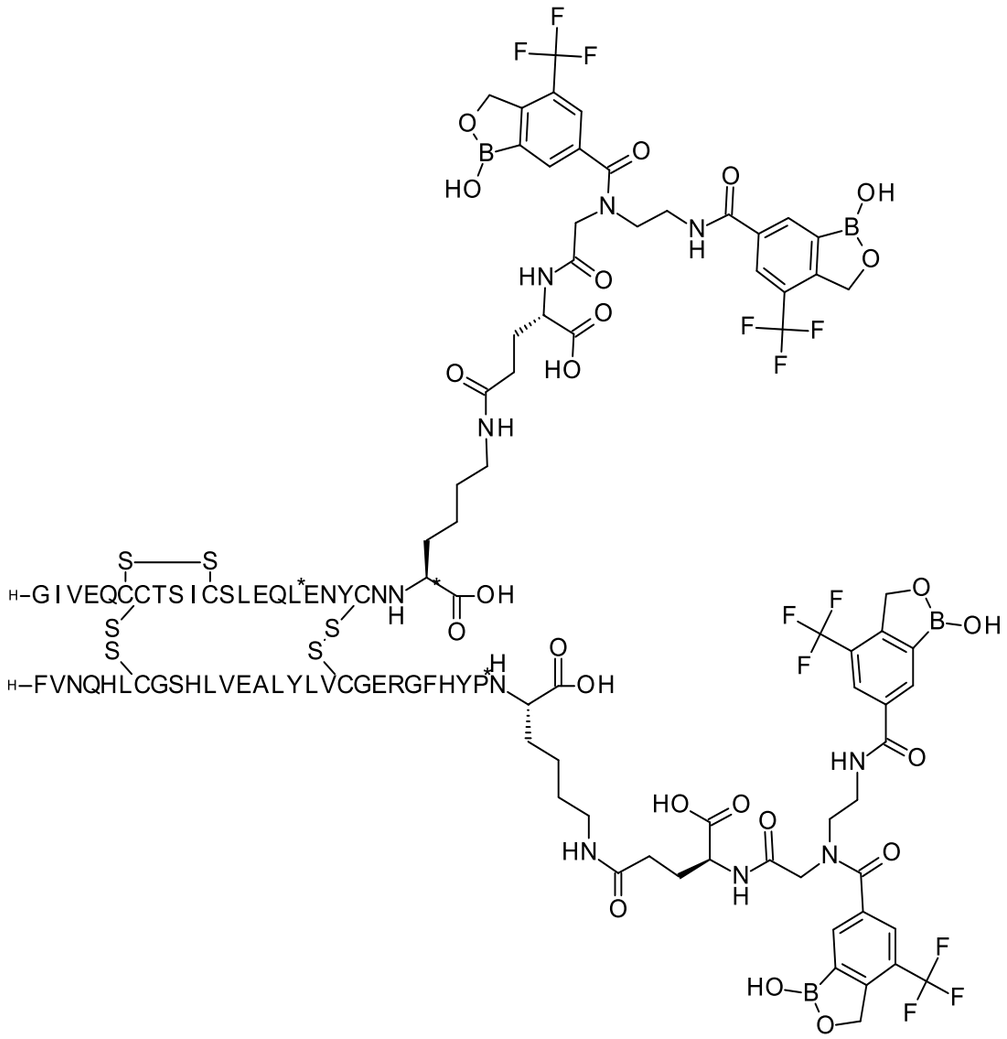
Ejemplo 351:



El Ejemplo 351 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana B1-GKPGGGGSGGGGSGGGGS desB30 y el componente básico del Ejemplo 40. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó

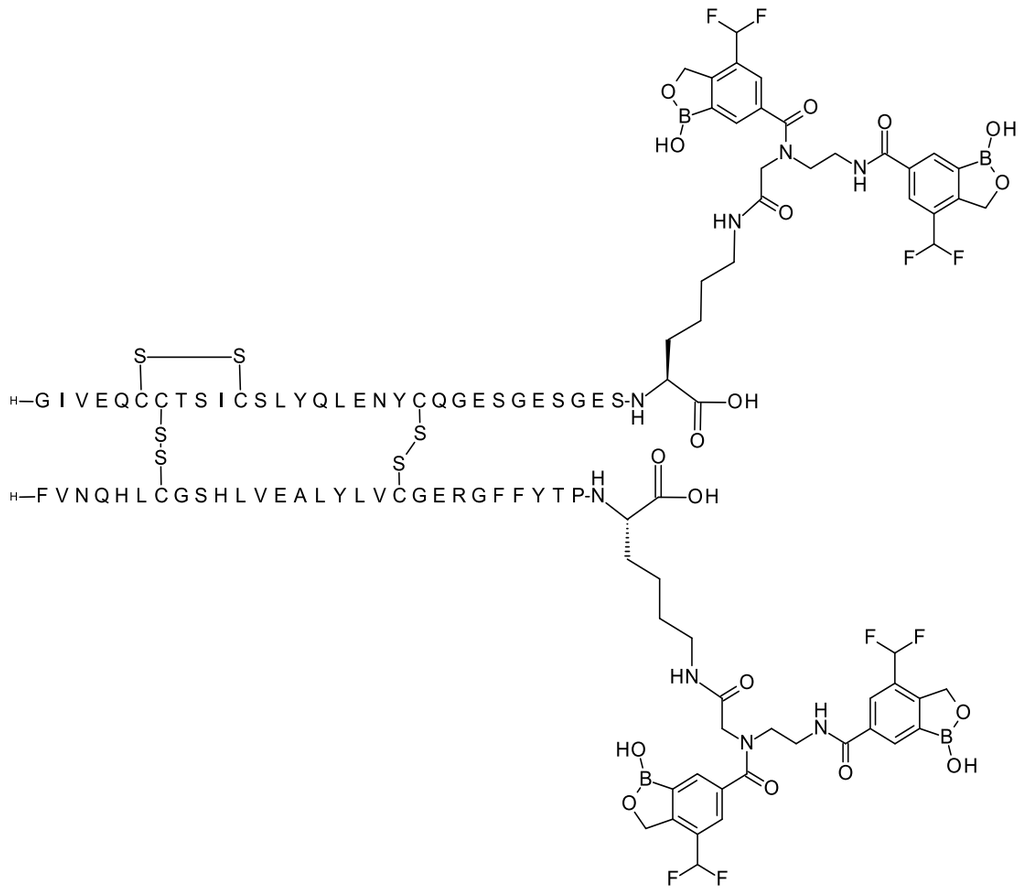
mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 352:



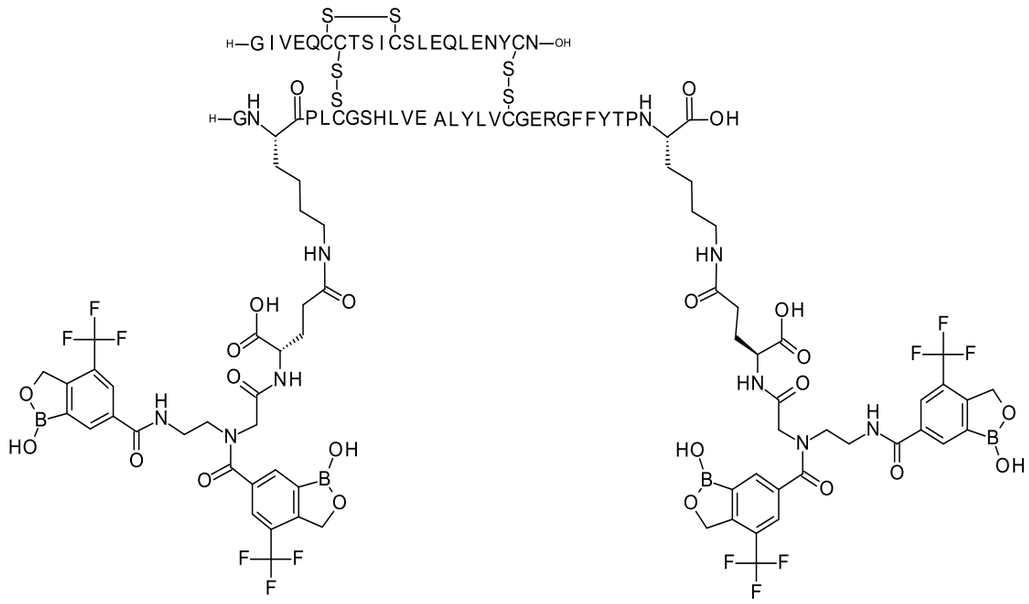
El Ejemplo 352 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E A22K B25H desB27 desB30 y el componente básico del Ejemplo 40. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo 353:



El Ejemplo 353 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A21Q (GES)3K desB30 y el componente básico del Ejemplo 38.

Ejemplo 354:



El Ejemplo 354 se preparó de manera similar al Ejemplo 101 a partir de la insulina humana A14E desB1-B2 B3G B4K B5P desB30 y el componente básico del Ejemplo 40. El grupo protector terc-butilo del residuo gamma-Glu del derivado de insulina se eliminó mediante el tratamiento con TFA al 95 %/agua durante 30-60 minutos a temperatura ambiente.

Ejemplo A: Afinidad de unión de carbohidratos y diboronato, ensayo de alizarina (ARS)

El ensayo de unión de rojo de alizarina es un ensayo colorimétrico usado para determinar la afinidad de inhibición de los compuestos de boronato/boroxol a la glucosa. El ensayo se basa en un cambio de color del rojo de la alizarina tras la unión al boronato, cuyo cambio puede ir acompañado de un cambio en la absorbancia en la región de 330-340 nm.

Determinación de la constante de disociación (K_d) de los compuestos de boro hacia la alizarina

Para la determinación de la constante de disociación (Kd) entre el rojo de alizarina sódica (ARS) y el compuesto de boronato, se disuelve 200 µM de ARS en un amortiguador fosfato 20 mM pH 7,4 y se titula por triplicado en una placa de 96 pocillos con 1, 0,5, 0,25, 0,125, 62,5, 31,25, 15,625, 7,812, 3,906, 1,953, 0,9767, 0,488 y 0,244 mM de ácido borónico. Después de 5 minutos de centrifugación a 4000 rpm, la placa se coloca en un espectrómetro de microplacas (SpectraMax, Molecular Devices) para la detección de la absorción.

El análisis se lleva a cabo a temperatura ambiente con lecturas de absorción a 330, 340 y 520 nm, respectivamente. Después los datos obtenidos para la absorción frente a la concentración de boronato se ajustan (Prism 7, GraphPad) con una función sigmoidal para obtener el valor de Kd de boronato y ARS.

Determinación de la constante de desplazamiento (K_d) de la glucosa hacia los compuestos de boro

Para la determinación de la constante de inhibición (Ki) entre el boronato y el carbohidrato, se disuelven 400 µM de ácidos borónicos en un amortiguador fosfato 20 mM pH 7,4 con agitación suave. Tras la disolución completa del compuesto, se añaden a la solución 200 µM de rojo de alizarina (ARS). Después la solución de ARS-boronato se divide en alícuotas en una placa de 96 pocillos (fondo negro, plano y transparente) 1:1 con el carbohidrato apropiado. En particular, se preparan soluciones de D-glucosa y L-lactato en un amortiguador fosfato 20 mM pH 7,4 a estas concentraciones respectivamente: 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 10, 5, 2,5, 1, 0,25, 0,1 mM y 2500, 1000, 500, 100, 50, 10, 5, 1, 0,5, 0,1, 0,05, 0,01 mM. La placa con ARS-boronato mezclado con carbohidrato se incuba 20 minutos a temperatura ambiente. Después de 5 minutos de centrifugación a 4000 rpm, la placa se coloca en un espectrómetro de microplacas (SpectraMax, Molecular Devices) para la detección de la absorción.

El análisis se lleva a cabo a temperatura ambiente con lecturas de absorción a 330, 340 y 520 nm, respectivamente. Después los datos obtenidos para la absorción frente a la concentración de carbohidrato se ajustan (Prism 7, GraphPad) con una ecuación de Ki de un sitio restringida para el valor de Kd del obtenido para ARS-boronato y para la concentración del ARS (100 µM) para obtener el valor de Ki del boronato para el carbohidrato elegido.

Tabla 1. Valores de Kd de glucosa y lactato determinados por el ensayo de alizarina descrito en el Ejemplo A para los compuestos de diboro usados en los compuestos de la invención y para los compuestos de monoboro incluidos como comparación.

Diboro/monoboro del Ejemplo núm.	**Afinidad de unión Kd de Glucosa (mM)**	**Afinidad de unión Kd de Lactato (mM)**
Ejemplo 10	2,6	67,9
Ejemplo 18	3,2	352,0
Ejemplo 19	1,6	107,0
Ejemplo 23	1,5	24,1
Ejemplo 24	1,1	41,0
Ejemplo 28	1,3	11,0
Ejemplo 29	0,52	N.D.
Ejemplo 32	0,80	40,0
Ejemplo 35	4,2	13,0
Ejemplo 36	3,2	60,6
Ejemplo 38	0,8	100,0
Ejemplo 41 (compuesto de comparación)	40,0	66,0
Ejemplo 42 (compuesto de comparación)	10,0	N.D.
Ejemplo 43 (compuesto de comparación)	50,0	200,0

N.D. = no detectable

Los datos en la Tabla 1 muestran que los compuestos de diboro usados en los compuestos de la invención se unen a la glucosa con valores de Kd en el intervalo milimolar bajo (0,8 a 4,2 mM), y que los compuestos de diboro dados tienen mayor afinidad hacia la glucosa que hacia el lactato. Los datos en la Tabla 1 también muestran que los monoboros (Ejemplos 41, 42, 43) tienen una afinidad más débil por la glucosa que los compuestos de diboro usados en los compuestos de la invención. Los monoboros no responden bien a las fluctuaciones en el intervalo fisiológico de las concentraciones de glucosa.

Ejemplo B: Ensayo para determinar la afinidad por el receptor de insulina humana (hIR-A) en ausencia o presencia de glucosa

Preparación del receptor de insulina

Las células BHK que sobreexpresan el receptor A de insulina humana (hIR-A) se lisaron en Hepes 50 mM, pH 8,0, NaCl 150 mM, Tritón X-100 al 1 %, EDTA 2 mM y glicerol al 10 %. El lisado de células aclarado se absorbió por lotes con aglutinina de germen de trigo

(WGA)-agarosa (Lectina de Triticum vulgaris-Agarosa, L1394, Sigma-Aldrich Steinheim, Alemania) durante 90 minutos. Los receptores se lavaron con 20 volúmenes de Hepes 50 mM, pH 8,0, NaCl 150 mM y Tritón X-100 al 0,1 %, donde después los receptores se eluyeron con Hepes 50 mM, pH 8,0, NaCl 150 mM, Tritón X-100 al 0,1 %, n-acetil glucosamina 0,5 M y glicerol al 10 %. Todos los amortiguadores contenían Complete (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Alemania) como se describe en Andersen y otros 2017 *PLos One* 12.

Ensayo de unión de ensayo de centelleo por proximidad (SPA) del receptor de insulina

Las microesferas de SPA PVT con anti-ratón (Perkin Elmer) se diluyeron en amortiguador de unión de SPA, que consiste en Hepes 100 mM, pH 7,4 o pH 7,8, NaCl 100 mM, $MgSO_4$ 10 mM, Tween-20 al 0,025 % (v/v). Las microesferas de SPA se incubaron con el anticuerpo 83-7 específico para IR (Soos y otros 1986 Biochem J. 235, 199-208) y HIR-A semipurificado solubilizado. Las concentraciones del receptor se ajustaron para lograr un 10 % de unión de 5000 cpm de ^{125}I-(Tyr31)-Insulina (Novo Nordisk A/S). Se añadieron series de diluciones de ligandos fríos a Optiplate de 96 pocillos, seguido del trazador (^{125}I-Insulina, 5000 cpm/pocillo) y, por último, la mezcla de receptor/SPA. Para evaluar la sensibilidad a la glucosa, los experimentos de unión se configuraron en ausencia o presencia de glucosa 20 mM. Las placas se balancearon suavemente durante 22,5 horas a 22 ^{o}C, se centrifugaron durante 5 minutos a 1000 rpm y se contaron en TopCounter (Perkin Elmer). Los puntos de datos se ajustaron a un modelo logístico de cuatro parámetros, mediante el cual se determinó la afinidad relativa del análogo en comparación con la insulina humana (dentro de la misma placa). Las afinidades relativas de los análogos en comparación con la insulina humana se determinaron como el cambio en veces, y el aumento en la afinidad relativa de 0 a 20 mM de glucosa (factor de glucosa del HIR) reflejó la sensibilidad a la glucosa de los análogos. Los experimentos se realizaron en presencia de HSA al 1,5 %. Los datos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Afinidad por el receptor de insulina en presencia de HSA al 1,5 %, factor de glucosa y datos de LCMS para los compuestos de la invención

Compuesto de Ejemplo Núm.	***Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o***	***Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver***	***LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada***	***LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada***	***LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada***	***LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada***
101	2,9	2,7	1670,4		1670,6	
102	6,0	3,2	1689,0		1689,2	

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
103	2,1	0,5	1663,0		1664,1	
104	0,7	0,4	1686,0	1346,0		
105	2,9	3,2	1827,5	1458,5	1827,3	1462,0
106	0,6	1,7	1724,3		1724,2	
107	0,9	4,2	2055,3	1640,8	2055,3	1640,9
108	0,6	3,1	1987,5		1987,5	
109	6,4	1,5	2026,3	1603,0	2026,1	1603,0
110	16,1	1,3	1643,7		1643,7	
111	0,6	-				
112	3,8	7,6	2198,6	1759,1	2202,0	1762,0
113	2,4	2,2				
114	6,8	4,5	1639,6	1318,9	1639,3	1326,3
115	1,4	9,1	2100,9	1680,9	2100,9	1680,9
116	3,8	5,7	2069,9	1656,1	2069,9	1656,1
117	9,2	-				
118	4,0	4,5				
119	1,5	9,0		1722,7		1722,4
120	1,7	2,0				
121	14,6	-		1733,1		1732,8
122	1,9	3,9	1994,8	1596,8	1994,3	1595,7
123	12,0	1,3	2090,9	1673,0	2090,9	1672,9
124	2,1	3,4	1684,0	1348,0		
125	6,2	2,0	1992,0	1587,0		
126	9,7	2,3	1686,0	1342,0		
127	1,5	3,5	1606,1		1605,9	

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
128	25,6	1,9	1673,9	1339,5	1678,6	1343,1
129	,6	4,3	1601,3		1601,6	
130	11,9	2,1	1656,7	1325,6	1656,7	1325,6
131	,5	3,0	1694,8	1352,4	1694,8	1352,4
132	3,7	4,0		1726,3		1726,2
133	5,7	2,8	1883,6		1883,3	
134	8,0	-	1595,9		1596,1	
135	1,2	20,9		1650,6		1650,4
136	3,2	3,4			1847,7	
137	2,9	13,7	1590,0	1268,0		1590,0
138	,9	9,9	1506,9		1507,0	1506,9
139	4,0	3,2	1603,3		1603,1	1603,3
140	2,0	13,8	1789,0		1788,6	1789,0
141	8,6	2,3	1634,3		1634,1	
142	1,8	2,2	1879,1		1878,6	
143	4,8	2,9	1596,0		1596,1	1596,0
144	2,9	2,3	1633,3		1633,2	1633,3
145	16,9	1,5	1633,2		1633,3	1633,2
146	3,5	4,5	1544,3		1544,0	1544,3
147	13,1	5,1	1674,0	1336,0		
148	8,8	1,8	1666,0	1329,0	1670,0	1336,0
149	6,7	2,8	1638,8		1638,6	
150	13,3	1,3	1647,4		1647,0	
151	4,6	3,0	1622,0		1622,1	
152	4,9	2,9	1653,1		1653,0	

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
153	12,4	1,9	1647,6		1647,3	
154	6,1	3,7	1640,6		1640,4	
155	5,3	3,0	1626,3		1626,1	
156	1,4	1,7	1804,5	1440,2	1804,5	1440,2
157	7,2	8,0	1667,0	1334,0		1667,0
158	2,0	9,9	1558,5		1558,3	1558,5
159	5,2	15,2	1603,0	1275,0		1603,0
160	3,0	15,1		1657,8		1657,6
161	1,3	7,7	1604,9			1604,7
162	5,0	2,0	1756,6	1401,9	1756,7	1401,9
163	1,8	7,6	1666,5	1329,8	1666,7	1329,9
164	0,4	3,3	1873,2	1491,4	1873,2	1491,4
165	0,2	14,4	1729,2	1376,2	1729,0	1376,2
166	2,2	5,9	1553,3		1553,1	
167	1,4	14,2	1798,0		1797,6	
168	2,8	2,3	2092,8	1670,9	2093,1	1671,0
169	1,7	9,7	1998,2	1595,2	1998,5	1595,4
170	5,3	1,9	1666,5	1329,8	1666,7	1329,9
171	0,9	5,7	1873,2	1491,4	1873,2	1491,4
172	3,2	2,2	1729,2	1376,2	1729,0	1376,2
173	0,7	21,2	1731,9	1381,9	1731,9	1381,9
174	0,5	14,1	1627,6	1298,5	1627,6	1298,7
175	0,1	9,3	1913,1	1523,5	1913,2	1523,6
176	0,4	46,2	1477,1		1477,4	
177	0,4	9,0	1566	1250		

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
178	0,5	7,2	1548,0	1239,0		
179	1,4	8,4	1661	1325		
180	0,3	8,0	1559,0	1247,0		
181	0,7	15,2	1794,5	1435,8	1794,2	1435,7
182	0,2	15,3	1540 1540		1540,3	
183	0,37	11,14	1720,1		1720,3	
184	1,05	10,53	1550,5		1550,5	
185	1,11	27,18	1749,9	1396,4	1749,8	1396,5
186	0,01	2,5	1990,8	1593,1	1991,5	1593,4
187	1,58	11,88	1709,3	1363,9	1709,2	1363,9
188	0,21	8,23	1877,5		1877,3	
189	0,23	4,25	1504,6		1504,5	
190	0,1	4,6	1772,2	1414,2	1772,4	1414,5
191	0,03	2,9	1896,3	1513,6	1894,5	1513,8
192	0,03	1,3	1787,5	1426,6	1787,5	1426,6
193	2,60	7,34	1871,1		1871,2	
194	15,36	5,83	1520,0	1216,0		
195	1,17	5.68	1367,0			
196	1,19	6,35	1717,0	1370,0		
197	0,03	8,3	1800,0	1433,0		
198	0,2	1,9	1907,8	1526,5	1908,1	1526,7
199	0,02	2,3	2100,0	1676,6	2099,9	1676,5
200	1,0	3,6	1464,5		1464,9	
201	0,1	1,9	1543,0		1543,3	
202	0,04	2,3	1939,0	1548,0		

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
203	4,6	1,6	1919,4		1919,6	
204	0,6	7,6	1969,4		1969,6	
205	0,1	9,7	1607,5	1286,3	1607,6	1286,2
206	0,3	5,7	1699,0	1348,6	1699,1	1348,7
207	2,6	3,1	1823,6	1458,8	1823,6	1459,0
208	1,39	13,09	1926,3	1541,2	1926,4	1539,3
209	0,5	1,95	2021,9	1617,8	2021,9	1617,7
210	0,7	6,3	1962,3		1962,5	
211	0,1	8,1	1649,7	1319,9	1649,7	1320,0
212	0,12	2,65	1608,9			1609,2
213	0,1	12,6	1586,6	1265,9	1586,7	1265,9
214	0,2	12,3		1890,46		1890,58
215	0,5	16,2	1614,6		1614,5	
216	0,1	6,2	1781,8		1781,6	
217	0,4	4,9	1862,0		1862,1	
218	1,3	7,3	1980,5		1980,4	
219	0,2	5,5	1753,2		1753,2	
220	1,6	10,9	1840,3		1840,6	
221	3,8	11,4	1959,0		1958,9	
222	0,9	9,2	1731,7		1731,5	
223	67,3	2,8	1579,0	1263,0		
224	40,9	1,8	1579,0	1263,0		
225	2,9	14,2	1698,0	1359,0		
226	0,5	3,6	1822,0	1458,0		
227	0,3	14,6	1752,0	1399,0		

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
228	0,03	3,1	1897,0	1518,0		
229	2,0	5,3	1720,0	1376,0		
230	0,9	11,7	1586,2		1586,0	
231	2,8	4,5	1947,9		1947,9	
232	0,5	18,1	1524,2	1215,9	1524,2	1215,9
233	0,3	12,1	1997,9		1997,9	
234	0,1	8,8	1636,0		1636,5	
235	0,03	3,6	1649,2		1649,1	
236	16,6	1,4	1599,1		1599,1	
237	3,8	1,8	1960,9		1960,9	
238	4,1	2,6	1919,6		1919,6	
239	1,1	10,2	1906,6		1906,6	
240	0,2	7,5	1956,7		1956,6	
241	0,3	4,9	1928,1		1928,2	
242	0,1	1,5	1969,7		1969,6	
243	0,8	5,1	1758,2		1758,1	
244	0,2	40,5	1929,2		1929,4	
245	16,4	6,2	1603	1283		
246	9,1	3,2	1604	1283		
247	13,3	9,0	1589,0	1272,0		
248	14,7	8,2	1589,0	1272,0		
249	1,2	2,5	1854,0	1480,0		
250	4,1	4,9	1562,0	1250,0		
251	0,02	3,5	1895,0	1513,0		
252	0,1	3,6	1771	1413		

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
253	5,4	7,2	1560,0	1245,0		
254	0,1	18,6	1918,1		1918,3	
255	0,04	26,1	1551,7		1552,0	
256	0,1	6,2	1872,5		1872,5	
257	14,4	5,4	1586,0	1269,0		
258	8,9	2,0	1586,0	1269,0		
259	4,2	11,0	1562,0	1250,0		
260	0,2	10,1	1673,0	1335,0		
261	0,1	2,3	1784,0	1420,0		
262	0,6	27,7	1888,5		1888,9	
263	0,3	13,7	1770,4		1770,5	
264	0,2	5,2	1683,0	1347,0		
265	0,01	5,9	1818,0	1451,0		
266	0,1	6,1	1673,7		1673,7	
267	0,1	8,0	1632,0	1306,0		
268	0,4	7,5	1831,9	1465,4	1832,1	1465,9
269	0,01	19,0	1743,0	1391,0		
270	0,1	1,8	1743,0	1391,0		
271	0,4	7,1	1620,0	1296,0		
272	0,2	12,1	1712,0	1370,0	1710,9	
273	0,1	20,4	1537,6		1537,7	
274	0,2	3,9	1593,1		1593,0	
275	0,1	6,9	1621,6		1621,8	
276	0,7	10,1	1571,7		1571,8	
277	0,2	32,0	1943,5		1943,6	

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
278	0,02	26,8	1594,1	1271,9	1594,2	1271,9
279	0,1	7,2	1553,6	1239,5	1553,7	1239,5
280	0,5	18,0	2027,5	1625,8	2027,6	1625,9
281	5,1	7,6	1972,8	1585,9	1973,1	
282	1,4	7,1	2003,6	1336,1		
283	1,4	5,3	1623,7	1299,2	1623,7	1299,2
284	0,5	55,0	1902,8		1903,1	
285	0,1	19,7	1501,7		1501,7	
286	1,1	8,4	1915,6		1915,8	
287	1,2	7,0	1836,7		1837,0	
288	0,5	22,3	1824,2		1824,3	
289	0,3	24,9	1745,2		1745,5	
290	0,5	8,0	1623,5	1299,1	1623,6	1299,1
291	0,1	11,9	1785,9		1786,0	
292	0,1	16,3	1864,7		1864,8	
293	0,2	7,7		1623,5		1623,6
294	0,3	7,0		1729,5		1729,5
295	1,4	1,8	1893,8	1512,1	1894,1	1511,9
296	0,2	8,5		1662,4		1662,2
297	0,3	4,4	1860,3	1488,6	1860,6	1488,7
298	3,4	9,0	1815,4		1815,5	
299	2,3	14,3	1865,4		1865,5	
300	0,3	14,5	1944,2		1944,4	
301	0,3	18,4	1458,7		1458,7	
302	0,3	15,0	1860,2		1860,1	

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
303	1,8	16,2	1815,4		1815,5	
304	1,1	15,0	1781,3		1781,3	
305	1,0	13,5	1702,1		1702,5	
306	2,3	4,6	1994,6		1994,8	
307	1,0	14,8				
308	1,8	15,1	1549,3		1549,0	
309	0,3	6,2	1688,1		1688,1	
310	0,1	11,1	1716,6		1716,6	
311	0,2	8,1	1625,0		1625,1	
312	0,04	7,8	1637,2		1637,1	
313	0,5	4,0	1593,1		1593,3	
314	1,8	4,3	1915,9		1915,8	
315	1,2	5,3	1837,1		1837,0	
316	0,5	8,2	1714,6		1714,6	
317	0,5	2,7	1649,8	1319,9	1649,7	1320,0
318	1,3	2,9	1969,4		1969,4	
319	1,1	5,7	1935,8		1935,8	
320	0,4	5,0	1559,5		1559,7	
321	0,6	5,4		1957,9		1957,7
322	1,8	9,5	1882,2		1882,3	
323	0,2	46,9	1680,9	1341,4	1680,9	1341,3
324	0,3	46,5	2056,4	1645,3	2056,7	1645,6
325	2,8	8,9	1977,0	1581,0		
326	1,3	10,1	1803,5		1803,5	
327	0,1	32,2	1745,7		1745,7	

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
328	2,1	3,5	1611,2	1289,1	1611,2	1289,1
329	5,5	18,0	1650,5		1651,2	
330	1,1	4,1	2034,3	2542,5	2542,9	2034,5
331	0,3	43,6	1973,7		1973,4	
332	0,3	33,9		1622,0		1622,0
333	0,2	42,9	1894,7		1894,5	
334	0,04	17,2	1707,2	1366,0	1707,2	1366,0
335	0,1	29,8	1663,2	1330,8	1663,2	1330,8
336	0,2	19,5	1801,0	1441,3	1801,0	1441,0
337	0,7	7,0	1895,0		1894,6	
338	0,1	7,4				
339	0,1	20,8	1986,0	1588,0		
340	6,4	3,7	1681,9		1681,2	
341	0,4	7,7	1575,4		1575,3	
342	2,8	8,7	1898,3		1897,8	
343	2,4	9,0	1819,2		1819,0	
344	2,1	3,8	1951,8		1951,4	
345	0,04	19,7		1602,8		1602,3
346	0,5	5,3	1627,0		1627,2	
347	0,3	73,5	2013,0	1603,0		
348	0,2	7,3	1701,0	1358,0		
349	1,0	4,7	1665,0	1332,0		
350	0,1	18,4	1741,0	1393,0		
351	0,2	2,4	2064,0	1651,0		
352	0,4	5,2	1748,0	1398,0		

Compuesto de Ejemplo Núm.	*Afinidad por HIR relativa a HI (%), HSA al 1,5 % (pH 7,8 o*	*Factor de glucosa del HIR, glucosa 20 mM, HSA al 1,5 % (pH 7,8 o 7,4, ver*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ encontrada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ encontrada*	*LCMS $[M+4H]^{4+}$ calculada*	*LCMS $[M+5H]^{5+}$ calculada*
353	1,3	5,2	1909,8	1528,2	1909,3	1527,6
354	0,1	3,2	1668,0		1666,0	

Los datos en la Tabla 1 muestran que los conjugados de insulina y diboro de la invención en presencia de HSA al 1,5 % tienen mayor afinidad por el receptor de insulina en presencia de 20 mM de glucosa que cuando no hay glucosa presente. La glucosa puede desplazar los conjugados de insulina y diboro de la unión a la albúmina, para dar de esta manera una mayor fracción libre de conjugado de insulina y diboro no unido a la albúmina, lo que da como resultado una mayor afinidad neta por el receptor de insulina.

Ejemplo C: Ensayo para determinar la señalización sensible a la glucosa (fosforilación de AKT en glucosa baja/alta), Tabla 3.

Cuando la insulina se une al receptor de insulina (IR) induce la activación de vías de señalización descendentes. Una de las moléculas de señalización descendente es AKT y, por lo tanto, la fosforilación de AKT puede usarse para monitorear la activación de la vía de señalización de la insulina.

Ensayo de AKT

Células de ovario de hámster chino que sobreexpresan el HIR-A se cultivaron a 37 °C y se sembraron en placas de 96 pocillos con una concentración de glucosa de 3 mM o 20 mM. Se añadieron cantidades crecientes de insulina humana o derivados de insulina de la invención para generar curvas de respuesta a la concentración y se incubaron durante 10 min. El medio se desechó y las células se colocaron en hielo. El ensayo de activación de AKT se realizó como se describió por el proveedor mediante el uso de AlphaScreen® SureFire®. Las señales se midieron con el instrumento Envision (EnVision, Perkin Elmer). Se determinó el cambio en veces entre la potencia del análogo sensible a la glucosa (con relación a la insulina humana) a una concentración de glucosa de 20 mM y 3 mM.

Ejemplo D: Ensayo para determinar la absorción de glucosa sensible a carbohidratos en las células (ensayo de lipogénesis en rata)

Cuando la insulina se une al receptor de insulina induce la activación de vías de señalización descendentes. Un punto final metabólico de la señalización de la insulina es el metabolismo de los lípidos y el ensayo de lipogénesis se usó para medir una lectura del

punto final porque, en presencia de insulina, se estimula la absorción de ^{3}H-glucosa por las células y se incorpora a los lípidos.

Ensayo de lipogénesis en rata (rFFC)

Las almohadillas grasas del epidídimo de rata Sprague Dawley se degradaron con colagenasa en amortiguador Hepes Krebs Ringer a 36,5 ^{o}C durante 1-1,5 horas con agitación vigorosa. La suspensión se filtró a través de 2 capas de gasa. Las fases se separaron mediante reposo durante 5 minutos a temperatura ambiente, para permitir que los adipocitos se acumularan en la fase superior. La fase inferior se eliminó con una jeringa. Los adipocitos se lavaron dos veces con 20 ml de amortiguador Hepes Krebs Ringer. Las células se transfirieron a placas de 96 pocillos en amortiguador Hepes Krebs Ringer que contenía HSA al 1,5 %, glucosa 0,5 mM, glucosa a 0,1 µCi/pocillo (D-[3-^{3}H] glucosa (20,0 Ci/mmol) Perkin Elmer), sorbitol +/-10 mM. Se añadieron cantidades crecientes de insulina humana o derivados de insulina de la invención para generar curvas de respuesta a la concentración y se incubó durante 2 horas a 36,5 °C. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de 100 µl de Microscient E (# de catálogo 6013661 Perkin Elmer). Las placas reposaron 3 horas antes de contar en el contador Top. Se determinó la relación entre EC50 sin sorbitol/EC50 con sorbitol 10 mM del análogo sensible a la glucosa.

Tabla 3.

Compuesto de Ejemplo núm.	AKT HSA al 1,5 % Factor de glucosa 3 frente a 20 mM	rFFC HSA al 1,5 % 0 frente a 10 mM factor de sorbitol
179	2,3	10,5
181	3,2	2,8
204	2,0	5,9
205	1,9	4,0
210	2,6	5,4
211	2,2	5,4
214	5,7	-
215	2,3	18,0
216	2,3	4,4
217	2,6	12,8
218	3,0	16,3
219	2,3	-
222	1,6	10,1
225	2,6	17,9
227	2,4	16,7
229	2,0	11,5
230	2,4	9,5
233	2,4	12,0
234	1,8	5,4
239	1,7	15,0
240	2,4	9,4
241	-	11,7
244	6,4	28,1
264	1,7	10,4
272	3,3	21,1
273	3,5	9,2
274	2,3	13,1
275	1,9	6,9
276	2,3	9,9
280	4,1	10,1
285	2,4	11,0
286	2,3	11,3
287	2,2	10,2

288	3,3	9,4
289	3,0	19,1
291	3,1	-
292	3,8	17,1
294	1,7	6,5
300	2,9	14,7
301	3,3	21,9
309	1,7	11,6
310	2,6	7,3
316	1,8	5,9
326	2,2	27,6
331	-	16,1
332	-	13,4
333	-	13,5
335	-	7,4

Los datos de AKT en la Tabla 3 muestran que los conjugados de insulina y diboro de la invención dan mayores niveles de fosforilación de AKT en presencia de concentraciones de glucosa más altas (20 mM) frente a concentraciones de glucosa más bajas (3 mM). Los datos de lipogénesis en la Tabla 3 muestran que los conjugados de insulina y diboro de la invención dan mayores niveles de lipogénesis (es decir, más transporte de glucosa) en presencia de niveles más altos de azúcar (sorbitol 10 mM) en comparación con ningún azúcar añadido (sorbitol 0 mM).

Las células necesitan glucosa para sobrevivir, por lo que se usó glucosa 3 mM como nivel más bajo y 20 mM como nivel más alto. El propio ensayo de rFFC es sensible a los niveles de glucosa, por lo que se usó sorbitol (que no afecta el transporte de glucosa en sí mismo) como azúcar para desplazar los derivados de insulina y diboro de la HSA en el ensayo de rFFC.

Ejemplo E: Datos de PK y PD

Se realizaron pinzas euglucémicas e hiperglucémicas en cerdas domésticas de 65-100 kg sin tratamiento previo. Los animales se equiparon con dos catéteres venosos, uno para la infusión y otro para la obtención de las muestras de sangre. El reemplazo basal se realizó por infusión constante de somatostatina, glucagón e insulina humana. Después de comenzar la infusión, el nivel de glucosa plasmática se cambió a 10 mM o 3,5-4 mM mediante el ajuste de los g de glucosa en la infusión. Después de alcanzar el estado estacionario de la plasmática (90 o 120 min) se administró un bolo i.v. de un análogo de insulina. Para el análisis farmacocinético (PK), se obtuvieron muestras de plasma en puntos de tiempo seleccionados durante 360 a 510 min y se analizaron específicamente para el análogo. Para

el análisis farmacodinámico (PD) se usó el cambio en la velocidad de la infusión de glucosa respecto al estado estacionario.

Los datos PK sensibles a la glucosa para los derivados de insulina de la invención, así como también los controles, mediante la administración i.v. a cerdos con pinza a 3,5-4 o 10 mM de glucosa se muestran en las Figuras 1-9, y los datos PD como áreas bajo la curva de la velocidad de la infusión de glucosa ajustada al valor inicial, para las pinzas a glucosa 3,5-4 mM frente a glucosa 10 mM se muestran en la Figura 10.

Los datos PK de los cerdos muestran que los conjugados de insulina y diboro de la invención se eliminan más rápidamente a niveles de glucosa en sangre más altos (10 mM) en comparación con niveles de glucosa más bajos (3,5-4 mM). El desplazamiento de los conjugados de insulina y diboro de la unión a la albúmina por la glucosa da lugar a una fracción más grande de insulina no unida, por lo tanto disponible para la unión y la activación del receptor de insulina. Los datos PD de los cerdos muestran que los conjugados de insulina y diboro de la invención dan lugar a una mayor eliminación de glucosa a niveles altos de glucosa en sangre en comparación con un nivel bajo de glucosa. Por el contrario, los controles de insulina no sensibles a la glucosa (insulina aspártica e insulina degludec) muestran la misma PK y PD en cerdos con pinzas a niveles altos y bajos de glucosa en sangre.

Aunque determinadas características de la invención se han ilustrado y descrito en la presente descripción, muchas modificaciones, sustituciones, cambios y equivalentes serán evidentes para los expertos en la técnica. Por lo tanto, debe entenderse que las reivindicaciones anexas pretenden cubrir todas esas modificaciones y cambios siempre que caigan dentro del verdadero espíritu de la invención.