

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 800**

51 Int. Cl.:

C07K 5/06 (2006.01)

A61K 38/05 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.07.2010 E 10169507 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.09.2014 EP 2292639**

54 Título: **Derivados de la tubulisina como fármacos anticancerosos**

30 Prioridad:

22.07.2009 IT MI20091296

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

12.12.2014

73 Titular/es:

**KEMOTECH S.R.L. (100.0%)
Via Roma 72
09100 Cagliari, IT**

72 Inventor/es:

**ZANDA, MATTEO;
SANI, MONICA y
LAZZARI, PAOLO**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

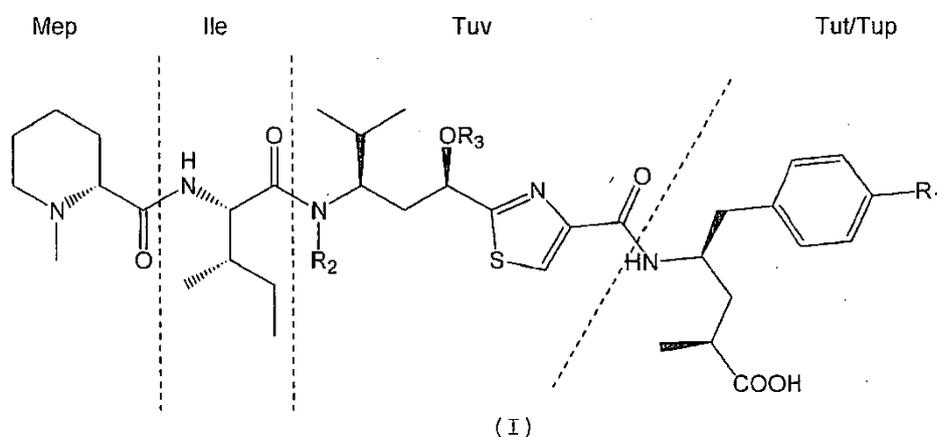
ES 2 524 800 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de la tubulicina como fármacos anticancerosos.

- 5 La presente invención se refiere a compuestos de tubulicina sintéticos que presentan una citotoxicidad elevada, con propiedades antimitóticas y/o antiangiogénicas, a los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables correspondientes, y a los compuestos para la utilización para el tratamiento de enfermedades tumorales y/o enfermedades asociadas con angiogénesis, y a un procedimiento para su preparación con rendimientos elevados.
- 10 Como es conocido, las tubulicinas son compuestos naturales obtenibles mediante fermentación de medios de cultivo de cepas de mixobacterias. Los ejemplos de mixobacterias son *Cystobacter*, *Archangium Gephyra*, *Angiococcus disciformis*, clasificada actualmente como *Pyxicoccus fallax*. Las tubulicinas se han aislado por primera vez por Höfle y Reichenbach, como se describe en el documento WO 98/13.375.
- 15 Su fórmula general es la siguiente:



en la que:

- 20 Mep = ácido N-metilpipercolínico
- Ile = isoleucina,
- 25 Tuv = tubuvalina,
- Tut/Tup = tubutirosina/tubufenilalanina.

Los compuestos naturales comprendidos en la fórmula (I) son, en particular, los siguientes:

- 30
- | | | | |
|---------------|---------------------|--|---|
| Tubulicina A: | R ₁ = OH | R ₂ = CH ₂ OC (O) -isobutilo | R ₃ = C (O)CH ₃ , |
| Tubulicina B: | R ₁ = OH | R ₂ = CH ₂ OC(O)-n-propilo | R ₃ = C (O)CH ₃ , |
| Tubulicina C: | R ₁ = OH | R ₂ = CH ₂ OC(O)-etilo | R ₃ = C (O)CH ₃ , |
| Tubulicina D: | R ₁ = H | R ₂ = CH ₂ OC (O) -isobutilo | R ₃ = C (O)CH ₃ , |
| Tubulicina E: | R ₁ = H | R ₂ = CH ₂ OC(O)-n-propilo | R ₃ = C (O)CH ₃ , |
| Tubulicina F: | R ₁ = H | R ₂ = CH ₂ OC(O)-etilo | R ₃ = C (O)CH ₃ , |
| Tubulicina U: | R ₁ = H | R ₂ = H | R ₃ = C (O)CH ₃ , |
| Tubulicina V: | R ₁ = H | R ₂ = H | R ₃ = H. |

Las tubulicinas naturales han despertado un extraordinario interés por la citotoxicidad elevada mostrada frente a un amplio espectro de estirpes celulares. Las tubulicinas se unen a tubulina, induciendo la polimerización de tubulina. En particular, estos compuestos se han encontrado eficaces inhibiendo diversas estirpes celulares que muestran valores de GI₅₀ (inhibición del crecimiento del 50%) a nivel nanomolar, incluso menor que esto. Como se describe por H.M. Peltier et al. en *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 2006, 16018-16019, las tubulicinas resultaron más eficaces inhibiendo el crecimiento celular, incluso de 20 a 1.000 veces mayor que productos antitumorales conocidos, como las hepotilonas, vinblastina y taxol. Entre las diversas tubulicinas, la tubulicina D resultó ser la más activa. Sin embargo, también la tubulicina A ha mostrado propiedades antimitóticas interesantes y efectos antiangiogénicos

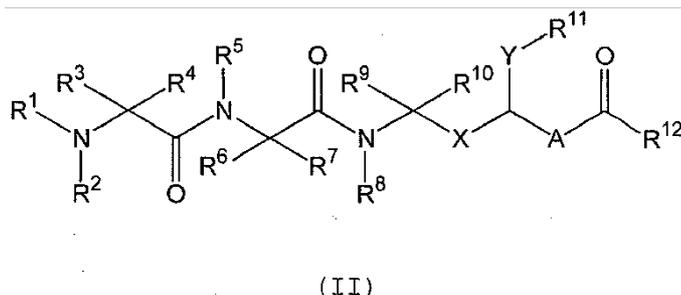
prometedores. Véanse, por ejemplo, los siguientes documentos: F. Sasse et al., *The Journal of Antibiotics*, 53, 2000, 879-885; A. Dömling et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 2006, 7235-7239; G. Kaur et al., *Biochem J.*, 396, 2006, 235-242; M.W. Khalil et al., *ChemBioChem*, 7, 2006, 678-683; H. Steinmetz et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 43, 2004, 4888-4892; B. Raghavan et al., *J. Med. Chem.*, 51, 2008, 1530-1533.

El procedimiento que conduce al aislamiento de tubulisininas naturales se basa en la fermentación, y tiene rendimientos bajos. Generalmente, las concentraciones de tubulisinina en la disolución final obtenida del procedimiento son menores que 10 mg/litro, incluso después de varias etapas de purificación cromatográfica. Véanse, por ejemplo, las publicaciones citadas por A. Dömling y B. Raghavan.

Hasta ahora, las aplicaciones clínicas de tubulisininas naturales se han limitado por lo tanto debido a la muy mala disponibilidad de estos compuestos. Los límites del procedimiento de fermentación para obtener tubulisininas han dirigido a varios grupos de investigación a estudiar procedimientos para la síntesis total de tubulisininas, con referencia particular a tubulisininas A, B, C, D, U y V y sus análogos. Las diversas estrategias de síntesis química adoptadas para la síntesis total de tubulisininas y sus análogos se han publicado recientemente en varias publicaciones. Véanse, por ejemplo, H.M. Peltier (ya mencionado), A.W. Patterson et al., *Chem. Eur. J.*, 13, 2007, 9534-9541; M. Sani et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46, 2007, 3526-3529; A.W. Patterson et al., *J. Org. Chem.*, 73, 2008, 4362-4369; P. Wipf et al., *Org. Lett.*, 9, 2007, 1605-1607; G.K. Friestad et al., *Org. Lett.*, 6, 2004, 3249-3252; P. Wipf et al., *Org. Lett.*, 6, 2004, 4057-4060; B. Raghavan et al., *J. Med. Chem.*, 52, 2009, 238-240.

Los análogos de tubulisinina y los procedimientos de síntesis para su obtención se describen en los documentos US 2005/0239.713, US 2006/0128.754, WO 2009/012.958.

El documento US 2005/0239.713 describe análogos de tubulisinina sintéticos que tienen la siguiente fórmula general (II):



en la que:

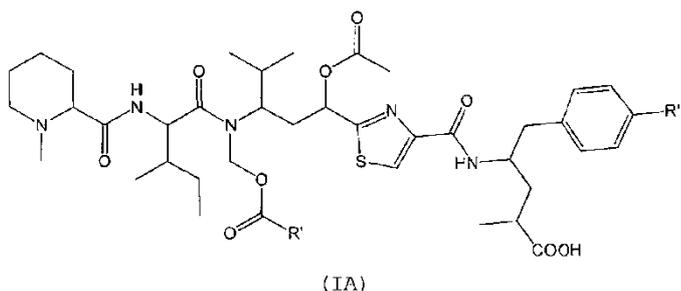
A es un sustituyente heteroarílico que tiene 5 o 6 átomos,

X es O, S o NR¹³ o CR¹⁴R¹⁵,

Y es O, S, o NR¹⁶,

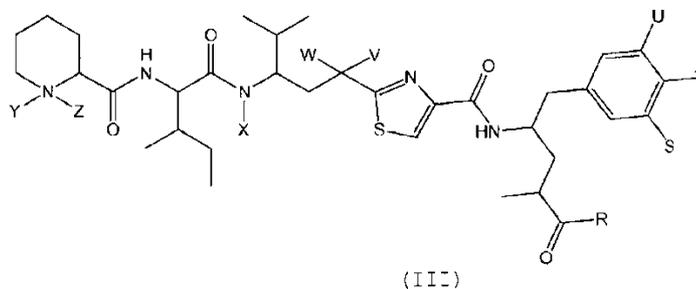
R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ tienen el significado de H, alquilo, alquenoilo, alquinoilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquilcicloalquilo, heteroalquilcicloalquilo, heterocicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo; o dos de los sustituyentes antes mencionados de R¹ a R¹⁶ son componentes de un anillo cicloalquílico o heterocicloalquílico.

En la presente solicitud de patente, los derivados de fórmula (IA) (fórmula (I) de la solicitud de patente US 2005/0239.713) se excluyen de los compuestos de fórmula (II):



en la que R' tiene el significado de H, alquilo, alquenilo, arilo, o heteroarilo, y R'' tiene el significado de H, OH, alquilo, arilo, o heteroarilo.

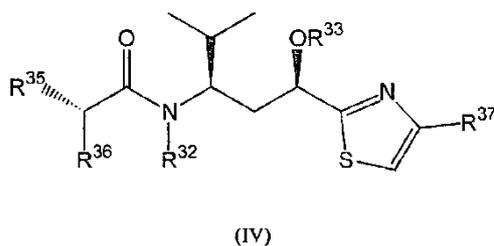
5 El documento US 2006/0128,754 describe la síntesis de derivados de tubulisina que tienen la fórmula general (III) (fórmula I de la solicitud de patente US 2006/0128.754):



en la que:

- 10 S y U tienen el significado de H, halógeno, NO₂, o NHR²³,
 T tiene el significado de H o OR²⁴,
 15 R tiene el significado de H, alquilo, arilo, OR²¹, NR²¹R²², o NH-(CH₂)₂₋₄,
 X tiene el significado de H, alquilo, alquenilo, o CH₂OR²⁹,
 20 V tiene el significado de H, OR²⁷, halógeno o, junto con W, de oxígeno,
 W tiene el significado de H, alquilo o, junto con V, de oxígeno, Y tiene el significado de oxígeno, cuando Z es CH₃, o de un doblete electrónico libre cuando Z es CH₃ o COR³¹,
 25 Z es CH₃ o COR³¹,
 R³¹ tiene el significado de alquilo, CF₃, o arilo,
 R²¹ y R²² tienen el significado de H, alquilo, o arilo,
 30 R²³ tiene el significado de H, HCO, o C₁₋₄ alquil-CO,
 R²⁴ tiene el significado de H, alquilo, arilo, COR²⁵, P(O)(OR²⁶)₂, o SO₃R²⁶,
 35 R²⁵ tiene el significado de alquilo, alquenilo, arilo, o heteroarilo, R²⁶ tiene el significado de H, alquilo, o ion metálico,
 R²⁷ tiene el significado de H, alquilo, o COR²⁸
 R²⁸ tiene el significado de alquilo, alquenilo o arilo,
 40 R²⁹ tiene el significado de H, alquilo, alquenilo, arilo o COR³⁰,
 R³⁰ tiene los mismos significados que R²⁵.

45 La solicitud de patente WO 2009/012.958 describe la síntesis de análogos de tubulisina que tienen la fórmula general (IV):



en la que:

R^{32} tiene el significado de H, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido,

R^{33} tiene los mismos significados que R^{32} y también tiene el significado de un grupo acilo ($C(O)R^{34}$),

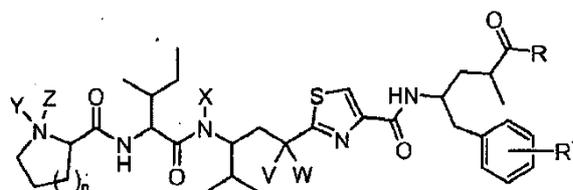
R^{34} , R^{35} , R^{36} , R^{37} tienen los significados mencionados en la solicitud de patente.

El documento US 2005/0249.740 describe compuestos conjugados que contienen tubulicina para el tratamiento de tumores, que tienen la siguiente fórmula:



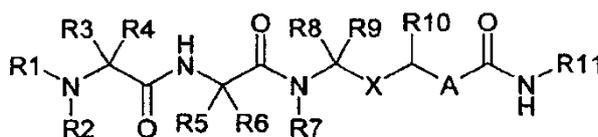
en la que U' es una tubulicina o un análogo de tubulicina de la fórmula (II) descrita anteriormente, V' es un ligador (por ejemplo un enlace directo o un alqueno), W' es un polímero (por ejemplo polietilenglicol) o una biomolécula (por ejemplo un anticuerpo). Estos compuestos conjugados muestran una elevada selectividad frente a células cancerosas. Además, son capaces de reducir, en seres humanos y en animales los efectos secundarios asociados con la administración de tubulinas como tales.

El documento WO 2009/055562 describe procedimientos para preparar tubulinas, análogos y derivados de las mismas, que tienen la siguiente fórmula general:



en la que los sustituyentes Y, Z, V, W, R^1 tienen los significados dados a conocer allí. En particular, el sustituyente X del átomo de nitrógeno tiene los siguientes significados: H, alquilo de C_{1-4} , alqueno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, o CH_2QR_9 , en el que Q es -N-, -O-, o -S-; R_9 = H, alquilo de C_{1-4} , alqueno, arilo, o $C(O)R_{10}$; y R_{10} = alquilo de C_{1-6} , alqueno, arilo, o heteroarilo.

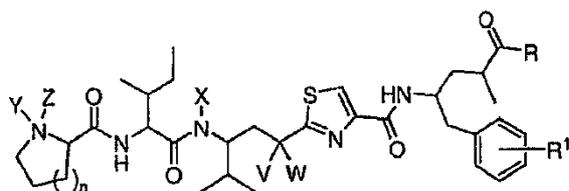
El documento WO 2008/138561 se refiere a derivados de tubulicina que tienen actividad elevada frente a estirpes de células cancerosas y propiedades fisicoquímicas personalizables, en particular solubilidad, en comparación con productos naturales citotóxicos. Los compuestos de D2 tienen la siguiente fórmula (I):



I

en la que los sustituyentes R_1 a R_{10} y de R_{12} a R_{14} (R_{12} a R_{14} , no indicados en la fórmula, son los sustituyentes de los heteroátomos comprendidos en los significados del grupo X), diferentes entre sí, tienen los siguientes significados: H, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno, alquino, heteroalquilo, especialmente acetilo u O-acetilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquilocicloalquilo, heteroalquilocicloalquilo, heterocicloalquilo, aralquilo o heteroaralquilo, o dos R, juntos, son parte de un cicloalquilo o heterocicloalquilo.

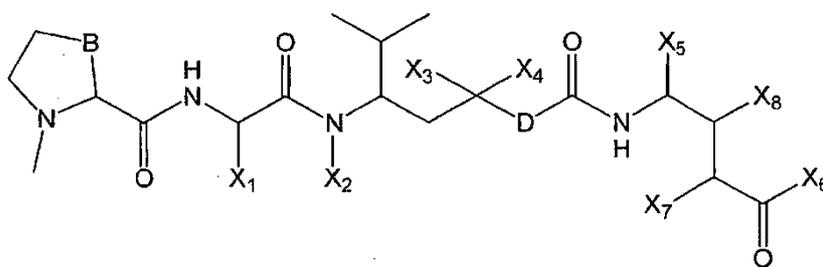
El documento WO 2008/112873 se refiere a composiciones y métodos para la utilización en el suministro de fármacos dirigido, en particular a conjugados de suministro de fármacos que se unen a receptores de la superficie celular, para la utilización en el tratamiento de estados mórbidos provocados por poblaciones de células patógenas, y a métodos y composiciones farmacéuticas que usan e incluyen tales conjugados. También se describen conjugados de tubulinas de fórmula: B-L-D, en la que B es un ligando de unión o de direccionamiento, L es un ligador liberable, y D es una tubulicina o un análogo o derivado de la misma, y en la que B y D están cada uno enlazado covalentemente a L. Las tubulinas comprendidas en estos conjugados tienen la siguiente fórmula:



en la que los sustituyentes tienen los significados dados a conocer allí.

- 5 Se sintió la necesidad de tener compuestos de tubulina disponibles, caracterizados por una citotoxicidad elevada, que sean fácilmente obtenibles mediante un procedimiento sintético con rendimientos elevados. En particular se sintió la necesidad de tener compuestos de tubulina disponibles que tengan una citotoxicidad frente a estirpes celulares tumorales, expresada como GI_{50} , menor que 10 nM ($GI_{50} < 10^{-9}$ M), preferiblemente menor que 0,1 nM.
- 10 Se ha descubierto sorprendente e inesperadamente una nueva clase de compuestos de tubulina que resuelve el problema técnico mencionado anteriormente.

Son un objeto de la presente invención los compuestos de tubulina que tienen la fórmula (A):



(A)

en la que:

- 15 B se selecciona de CH_2 , CH_2-CH_2 o $CH_2-CH_2-CH_2$,
- 20 D es un ligador aromático seleccionado de fenilo o heteroarilo con 5 ó 6 átomos en el anillo,
- X₁ es alquilo o alqueniilo,
- 25 X₂ se selecciona de los siguientes grupos:
- X_{2a}, sustituido o no sustituido, se selecciona de: arilo, heteroarilo, arilalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, o heteroarilalquilo,
- 30 X_{2b}: alquilenilo-O-alquilo, en el que alquilenilo es C_2-C_{10} ,
- X₃ tiene el significado de H, o junto con X₄ forma el grupo: =O,
- 35 X₄ se selecciona de: H, halógeno, OH, SH, alquilo, alqueniilo, $(OR_5)_n-OR_6$, $OC(O)R_7$, NR_6R_7 , o junto con X₄ forma el grupo: =O,
- R₅ es un alquilenilo,
- n es cero o un número entero de 1 a 10,
- 40 R₆ y R₇, iguales o diferentes entre sí, tienen los siguientes significados:
- z1: H, alquilo,
- 45 z2, sustituido o no sustituido, se selecciona de: arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo o heterocicloalquilalquilo,
- X₅ es z2, o tiene el significado de z3, siendo z3 alquilo o alqueniilo,

X_6 tiene el significado de H, NR_8R_9 , OR_8 , $NH-NR_8R_9$, SR_8 , R_{10} , en el que R_8 y R_9 , iguales o diferentes entre sí, tienen los mismos significados que R_6 , R_{10} tiene el mismo significado que R_6 , pero excluyendo H,

X_7 es z3 o H,

X_8 se selecciona de z3, H, halógeno, OH, SH o OCH_3 .

Los compuestos de la presente invención muestran inesperada y sorprendentemente una citotoxicidad elevada ya que muestran valores de GI_{50} frente a estirpes celulares tumorales menores que 10 nM, preferiblemente menores que 0,1 nM. Además, son obtenibles mediante un procedimiento sintético que tiene rendimientos elevados, y de este modo son muy valiosos desde un punto de vista industrial.

Los compuestos de fórmula (A) comprenden tanto isómeros geométricos, por ejemplo cis-trans, como estereoisómeros, y sus mezclas correspondientes. Por lo tanto, los compuestos de la fórmula (A) de la presente invención, dependiendo de los sustituyentes, pueden contener centros quirales en su estructura.

Además, los átomos presentes en las moléculas de los compuestos de fórmula (A) pueden estar en las formas isotópicas correspondientes.

Cuando $X_2 = X_{2a}$, uno o más átomos de hidrógeno, preferiblemente del anillo de arilo, heteroarilo, arilalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo o heteroarilalquilo, pueden estar sustituidos por uno o más grupos, iguales o diferentes entre sí, seleccionados de halógeno, OH, O-arilo, SH, OCH_2O (este sustituyente se une a dos posiciones adyacentes del anillo), alquilo de C_1-C_7 , alquiltio de C_1-C_7 , alcoxi de C_1-C_7 , haloalquilo de C_1-C_7 , haloalcoxi de C_1-C_7 , SO_2NH_2 , ciano, nitro, isotiocianato, fenilo, cicloalquilo, heterociclo saturado o insaturado, heteroarilo, amino opcionalmente mono- o bi-sustituido con una cadena de alquilo de C_1-C_7 .

Los sustituyentes fenilo, cicloalquilo, heterociclo saturado o insaturado y heteroarilo de X_{2a} están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos, iguales o diferentes entre sí, seleccionados de halógeno, OH, O-arilo, SH, OCH_2O , alquilo de C_1-C_7 , alquiltio de C_1-C_7 , alcoxi de C_1-C_7 , haloalquilo de C_1-C_7 , haloalcoxi de C_1-C_7 , SO_2NH_2 , ciano, isotiocianato, fenilo, cicloalquilo, heterociclo saturado o insaturado, heteroarilo, nitro, amino opcionalmente mono- o bi-sustituido con una cadena de alquilo de C_1-C_7 .

Cuando R_6 , R_7 , X_5 , R_8 , R_9 , R_{10} tienen el significado de z2, uno o más átomos de hidrógeno, preferiblemente del anillo de arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo o heterocicloalquilalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más grupos (sustituyentes opcionales), iguales o diferentes entre sí, seleccionados de los grupos sustituyentes opcionales de X_{2a} .

Cuando X_5 tiene el significado de Z2, uno o más átomos de hidrógeno, preferiblemente del anillo de arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo o heterocicloalquilalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más de los siguientes grupos (sustituyentes opcionales): $COOH$, $C(O)R_6$, $OC(O)R_{94}$, en los que R_6 es como se define anteriormente, y R_{94} , sustituido o no sustituido, se selecciona de alquilo, cicloalquilo, alqueno, arilo, heteroarilo.

Cuando R_{94} tiene el significado de cicloalquilo, alqueno, arilo o heteroarilo, uno o más átomos de hidrógeno pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más grupos, iguales o diferentes entre sí, seleccionados de los grupos sustituyentes de X_{2a} .

Preferentemente, los compuestos de fórmula (A) en los que contemporáneamente los sustituyentes tienen los significados dados a conocer en la presente memoria anteriormente se excluyen de los compuestos de la presente invención:

$X_2 = X_{2c}$,

$B = CH_2-CH_2$,

$X_1 = C(CH_3)(CH_2-CH_3)$,

X_3 H o, junto con X_4 , forma el grupo: $=O$,

X_4 se selecciona de H, halógeno, OH, OR_{90} , $O-C(O)-R_{91}$, o junto con X_3 forma el grupo: $=O$, en el que R_{90} tiene el significado de alquilo de C_1-C_4 o cicloalquilo de C_3-C_4 , y R_{91} se selecciona de alquilo, alqueno, arilo, cicloalquilo,

X_5 es un sustituyente bencílico, en el que el anillo aromático está sustituido en la posición para con Q_2 y en las posiciones meta con los sustituyentes Q_1 y Q_3 , siendo Q_2 hidrógeno o OR_{92} , y Q_1 y Q_3 , iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de hidrógeno, halógeno, NO_2 o NH_2 , en el que:

R₉₂ se selecciona de H, alquilo de C₁-C₇, arilo o C(O)R₉₄, siendo R₉₄ como se define anteriormente,

X₆ es H, alquilo, cicloalquilo, arilo, OR₉₇, o NR₉₇R₉₈, en el que R₉₇ y R₉₈, iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de H, alquilo, cicloalquilo o arilo,

5

X₇ = CH₃,

X₈ = H.

10 En la presente solicitud de patente, cuando no se especifique de otro modo, se mantienen las siguientes definiciones:

15 por alquilo se hace referencia a una cadena hidrocarbonada de C₁-C₂₀ saturada, lineal, ramificada cuando sea posible, sustituida o no sustituida, en la que uno o más átomos de hidrógeno pueden estar opcionalmente sustituidos por átomos de halógeno. Preferiblemente, la cadena hidrocarbonada es C₁-C₁₂, por ejemplo metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo,

20 por alquileo se hace referencia a una cadena de C₁-C₂₀ alifática bivalente, lineal o, cuando sea posible, ramificada, que tiene en cada extremo una valencia libre, sustituida o no sustituida, en la que uno o más átomos de hidrógeno puede estar opcionalmente sustituido por átomos de halógeno. Preferiblemente, la cadena alifática bivalente es C₁-C₈, por ejemplo vinilo, alilo, propen-1-ilo, propen-2-ilo, but-1-en-1-ilo, but-1-en-2-ilo, but-1-en-3-ilo, but-1-en-4-ilo, but-2-en-1-ilo, but-2-en-2-ilo, 2-metil-propen-1-ilo, 2-metil-propen-3-ilo,

25 por alqueno se hace referencia a una cadena hidrocarbonada de C₂-C₂₀ mono- o poliinsaturada, preferiblemente monoinsaturada, en la que la insaturación es un doble enlace, siendo dicha cadena una cadena lineal o, cuando sea posible, ramificada, sustituida o no sustituida, en la que uno o más átomos de hidrógeno pueden estar opcionalmente sustituidos por átomos de halógeno. Preferiblemente, la cadena hidrocarbonada es C₂-C₁₂,

30 por alqueno se hace referencia a una cadena hidrocarbonada de C₂-C₂₀ mono- o poliinsaturada bivalente, en la que la insaturación es un doble enlace, lineal o, cuando sea posible ramificada, que tiene en cada extremo una valencia libre, sustituida o no sustituida, en la que uno o más átomos de hidrógeno pueden estar opcionalmente sustituidos por átomos de halógeno, preferiblemente la cadena hidrocarbonada es C₂-C₈,

35 por alquino se hace referencia a una cadena hidrocarbonada de C₂-C₂₀ mono- o poliinsaturada, preferiblemente monoinsaturada, en la que la insaturación es un triple enlace, siendo dicha cadena lineal o, cuando sea posible ramificada, sustituida o no sustituida, en la que uno o más átomos de hidrógeno pueden estar opcionalmente sustituidos por átomos de halógeno, preferiblemente la cadena hidrocarbonada es C₂-C₁₂,

40 por alquino se hace referencia a una cadena de C₂-C₂₀ mono- o poliinsaturada bivalente, en la que la insaturación es un triple enlace, lineal o ramificada cuando sea posible, que tiene en cada extremo una valencia libre, sustituida o no sustituida, en la que uno o más átomos de hidrógeno pueden estar opcionalmente sustituidos por átomos de halógeno, preferiblemente la cadena hidrocarbonada bivalente es C₂-C₈,

45

por halógeno se hace referencia a un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo, yodo,

50 por haloalquilo se hace referencia a un alquilo como se define anteriormente, en el que uno o más átomos de hidrógeno están sustituidos por átomos de halógeno. Los ejemplos de haloalquilo son trifluorometilo, 1-bromo-n-butilo, pentacloroetilo, etc.,

55 por arilo se hace referencia a un radical monocíclico aromático, o un radical policíclico aromático condensado, que tiene de 6 a 20 átomos de carbono,

por arilalquilo se hace referencia a un alquilo como se define anteriormente, preferiblemente C₁-C₇, enlazado a un arilo como se define anteriormente. Por ejemplo, se puede mencionar bencilo,

60 por cicloalquilo se quiere decir:

- un anillo monocíclico alifático, que contiene opcionalmente una o más insaturaciones, pero con la condición de que la estructura no sea aromática, teniendo dicho anillo de 3 a 10 átomos de carbono, preferiblemente de 4 a 9 átomos de carbono, o

65 - una estructura policíclica de 7 a 19 átomos de carbono,

por heterocicloalquilo se hace referencia a un cicloalquilo como se define anteriormente en el que uno o más átomos de carbono se sustituyen por heteroátomos, iguales o diferentes entre sí, seleccionados de S, O, N. Cuando el anillo es monocíclico, preferiblemente el número de heteroátomos no es mayor que 2,

5 por heteroarilo se hace referencia a un arilo como se define anteriormente, excepto que el radical monocíclico es C₅-C₆, en el que al menos uno o más átomos de carbono están sustituidos por uno o más heteroátomos, iguales o diferentes entre sí, seleccionados de S, O, N. Cuando el radical es monocíclico, preferiblemente el número de heteroátomos no es mayor que 2,

10 por heteroarilalquilo se hace referencia a un alquilo como se define anteriormente, preferiblemente C₁-C₇, enlazado a un heteroarilo como se define anteriormente,

por cicloalquilalquilo se hace referencia a un alquilo como se define anteriormente, preferiblemente C₁-C₇, enlazado a un cicloalquilo como se define anteriormente,

15 por heterocicloalquilalquilo se hace referencia a un alquilo como se define anteriormente, preferiblemente C₁-C₇, enlazado a un heterocicloalquilo como se define anteriormente,

20 por heteroalquilenos se hace referencia a un grupo que tiene los siguientes significados: -Ra-O-Ya-, -Ra-S-Ya-, -Ra-N(Rb)-Ya-, -Ra-CO-Ya-, -Ra-O-CO-Ya-, -Ra-CO-O-Ya-, -Ra-CO-N(Rb)-Ya-, -Ra-N(Rb)-CO-Ya-, -Ra-O-CO-N(Rb)-Ya-, -Ra-N(Rb)-CO-O-Ya-, -Ra-N(Rb)-CO-N(Rc)-Ya-, -Ra-O-CO-O-Ya-, -Ra-N(Rb)-C(=NRd)-N(Rc)-Ya-, -Ra-CS-Ya-, -Ra-O-CS-Ya-, -Ra-CS-O-Ya-, -Ra-CS-N(Rb)-Ya-, -Ra-N(Rb)-CS-Ya-, -Ra-O-CS-N(Rb)-Ya-, -Ra-N(Rb)-CS-O-Ya-, -Ra-N(Rb)-CS-N(Rc)-Ya-, -Ra-O-CS-O-Ya-, -Ra-S-CO-Ya-, -Ra-CO-S-Ya-, -Ra-S-CO-N(Rb)-Ya-, -Ra-N(Rb)-CO-S-Ya-, -Ra-S-CO-O-Ya-, -Ra-O-CO-S-Ya-, -Ra-S-CO-S-Ya-, -Ra-S-CS-Ya-, -Ra-CS-S-Ya-, -Ra-S-CS-N(Rb)-Ya-, -Ra-N(Rb)-CS-S-Ya-, -Ra-S-CS-S-Ya-, -Ra-O-CS-S-Ya-,

en los que:

30 Ra es un grupo seleccionado de alquilenos de C₁-C₆, alquilenos de C₂-C₆ o alquilenos de C₂-C₆,

Rb se selecciona de un átomo de hidrógeno, un grupo seleccionado de alquilo de C₁-C₆, alquilenos de C₂-C₆ o alquilenos de C₂-C₆,

35 Rc es hidrógeno o un grupo seleccionado de alquilo de C₁-C₆, alquilenos de C₂-C₆ o alquilenos de C₂-C₆,

Rd es hidrógeno o un grupo seleccionado de alquilo de C₁-C₆, alquilenos de C₂-C₆ o alquilenos de C₂-C₆,

40 Ya es un enlace covalente o un grupo seleccionado de alquilenos de C₁-C₆, alquilenos de C₂-C₆ o alquilenos de C₂-C₆,

en el que cada grupo heteroalquilo contiene al menos un átomo de carbono, y uno o más átomos de hidrógeno pueden estar sustituidos por átomos de flúor o cloro,

45 por alquilcicloalquilo se hace referencia a un cicloalquilo como se define anteriormente, enlazado a un alquilo como se define anteriormente,

por heteroalquilcicloalquilo se hace referencia a un cicloalquilo como se define anteriormente, enlazado a un heteroalquilo como se define anteriormente,

50 por (hetero)arileno, (hetero)cicloalquilenos, arilalquilenos, (heteroaril)alquilenos, y (heteroalquil)cicloalquilenos, se hace referencia a respectivamente un arilo, un heteroarilo, un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilalquilo, un heteroarilalquilo, un alquilcicloalquilo, un heteroalquilcicloalquilo, como se definen anteriormente, en los que un átomo de hidrógeno está sustituido por un enlace sencillo,

55 por alquilenoarilalquilenos se hace referencia a un arileno con dos cadenas de alquilenos de 1 a 20 átomos de carbono, lineales o ramificadas cuando sea posible.

60 Por radical de un compuesto de la invención, o radical de un compuesto de fórmula (A), se hace referencia al compuesto de fórmula (A) que tiene una o más valencias libres, derivado de la eliminación de uno o más átomos de hidrógeno o de un grupo X_n, con formación, en el último caso, de un grupo -C(O)-. Preferiblemente, los radicales de los compuestos de fórmula (A) son monovalentes o bivalentes; todavía más preferiblemente, son monovalentes.

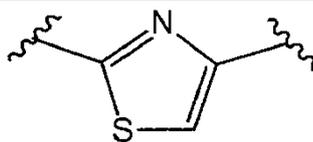
Cuando no se indique de otro modo, en la presente solicitud de patente:

65

X_2 , X_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 y R_{10} tienen los significados mencionados anteriormente, y están opcionalmente sustituidos con los grupos sustituyentes mencionados anteriormente.

5 Los compuestos preferidos de la invención son aquellos de fórmula (A) en la que B, X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , X_7 y X_8 son como se definen anteriormente, y D es un grupo heteroarilo que tiene 5 ó 6 átomos.

Los compuestos más preferidos son aquellos de fórmula (A) en la que B, X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , X_7 y X_8 son como se definen anteriormente, y D tiene el significado de la fórmula (V):



(V)

10

Los compuestos de fórmula (A) todavía más preferidos son aquellos en los que:

15

B es $\text{CH}_2\text{-CH}_2$,

D es un heteroarilo de fórmula (V),

X_1 es un alquilo de $\text{C}_1\text{-C}_6$,

20

X_2 se selecciona de los siguientes grupos:

- arilo monocíclico, heteroarilo monocíclico, arilalquilo monocíclico, cicloalquilalquilo monocíclico, heterocicloalquilalquilo monocíclico o heteroarilalquilo monocíclico,

25

- alquilen-O-alquilo, en el que el alquilen es $\text{C}_2\text{-C}_4$,

X_3 es como se define anteriormente,

30

X_4 se selecciona de alquilo de $\text{C}_1\text{-C}_6$, alqueno de $\text{C}_2\text{-C}_6$,

$(\text{OR}_5)_n\text{-OR}_6$, OC(O)R_7 , o junto con X_3 forma un grupo: $=\text{O}$,

R_5 es alqueno de $\text{C}_1\text{-C}_2$,

35

n es cero o un número entero de 1 a 4,

R_6 y R_7 , iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de H o alquilo de $\text{C}_1\text{-C}_6$,

40

X_5 se selecciona de arilalquilo monocíclico, heteroarilalquilo monocíclico, cicloalquilalquilo monocíclico, heterocicloalquilalquilo monocíclico, alquilo, o alqueno,

X_6 se selecciona de H, NR_8R_9 , OR_8 , $\text{NH-NR}_8\text{R}_9$, SR_8 o R_{10} , en el que R_8 , R_9 y R_{10} , iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo, o R_8 y R_9 son hidrógeno,

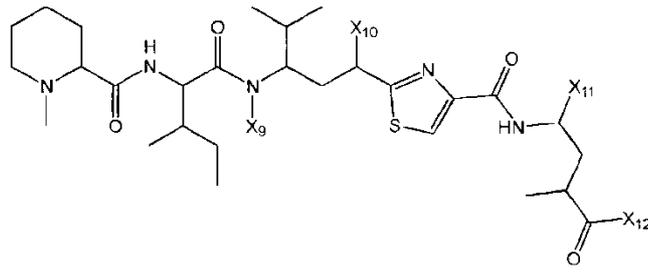
45

X_7 se selecciona de alquilo de $\text{C}_1\text{-C}_6$ o alqueno de $\text{C}_2\text{-C}_6$,

X_8 es H.

50

Los ejemplos preferidos de los compuestos de fórmula (A) son aquellos de fórmula (A1):



(A1)

en la que:

5 X₉ se selecciona de:

- arilalquilo monocíclico, cicloalquilalquilo monocíclico, heterocicloalquilalquilo monocíclico, o heteroarilalquilo monocíclico, opcionalmente sustituido con los grupos que son sustituyentes opcionales de X_{2a},

10 - CH₂-CH₂O-alquilo, en el que el alquilo es C₁-C₃, en el que C₃ es lineal o ramificado,

X₁₀ se selecciona de (OR₁₀)_m-OR₁₁ o OC(O)R₁₂,

15 R₁₀ es un alquileno de C₁-C₂,

m es cero o un número entero de 1 a 3,

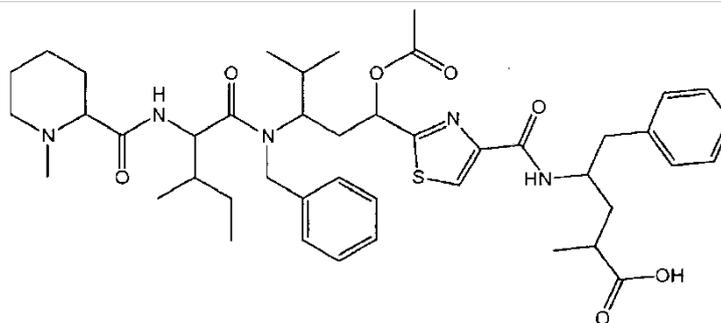
R₁₁ y R₁₂, iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de H, CH₃,

20 X₁₁ se selecciona de arilalquilo monocíclico o heteroarilalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido, opcionalmente sustituido con los grupos que son los sustituyentes opcionales de X₅, cuando X₅ = Z₂

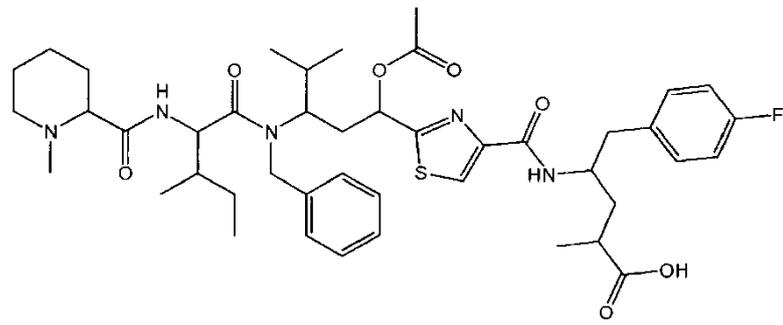
25 X₁₂ se selecciona de H, NR_{8a}R_{9a}, OR_{8a} o NH-NR_{8a}R_{9a}, en el que R_{8a} y R_{9a}, iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de H, alquilo, arilo monocíclico, heteroarilo monocíclico, cicloalquilo monocíclico, heterocicloalquilo monocíclico, en el que el arilo monocíclico, heteroarilo monocíclico, cicloalquilo monocíclico, heterocicloalquilo monocíclico están no sustituidos o están sustituidos opcionalmente con aquellos grupos que son sustituyentes opcionales de R₈ y R₉.

Los compuestos todavía más preferidos de la invención son proporcionados en la presente memoria en adelante:

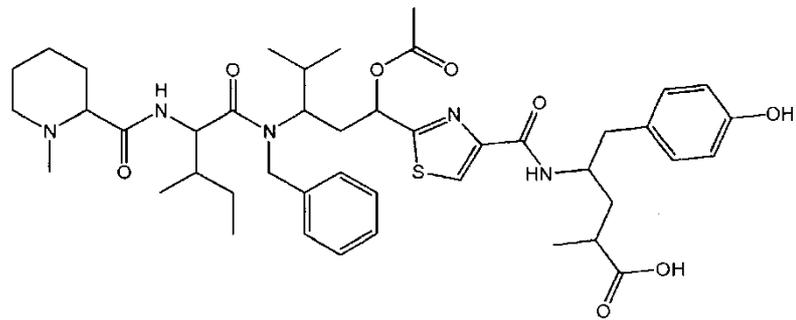
30



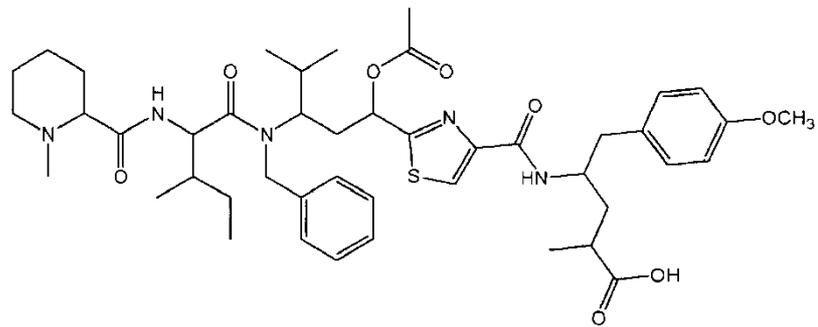
(AI)



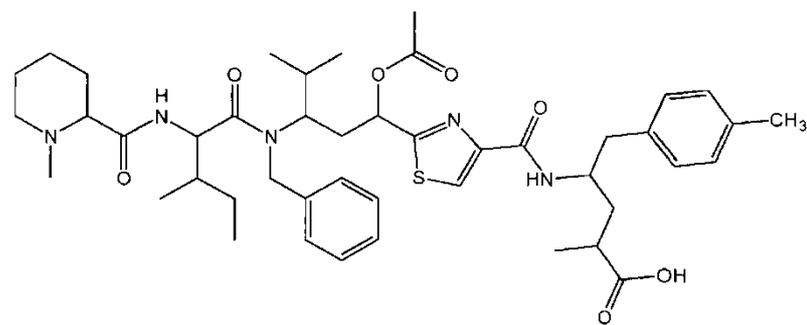
(AII)



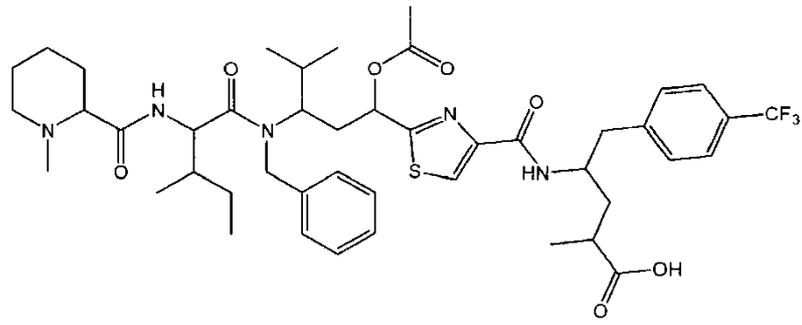
(AIII)



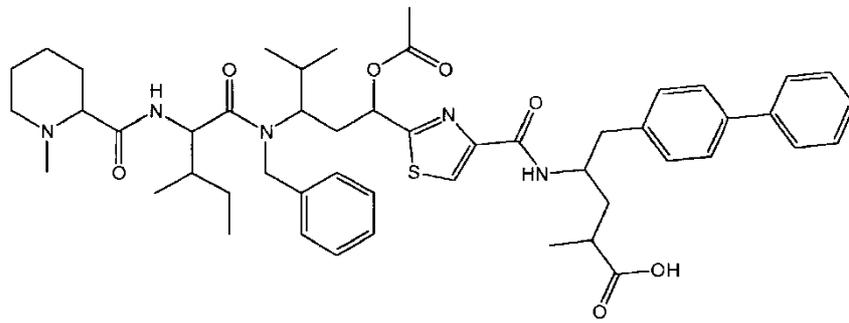
(AIV)



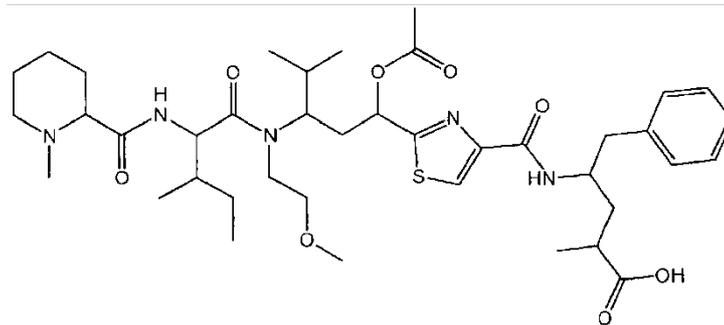
(AV)



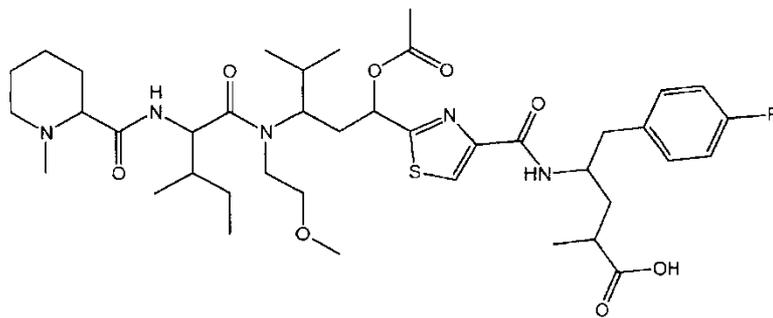
(AVI)



(AVII)

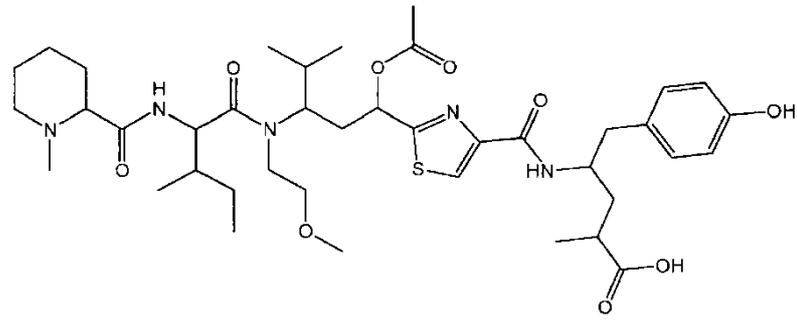


(AVIII)

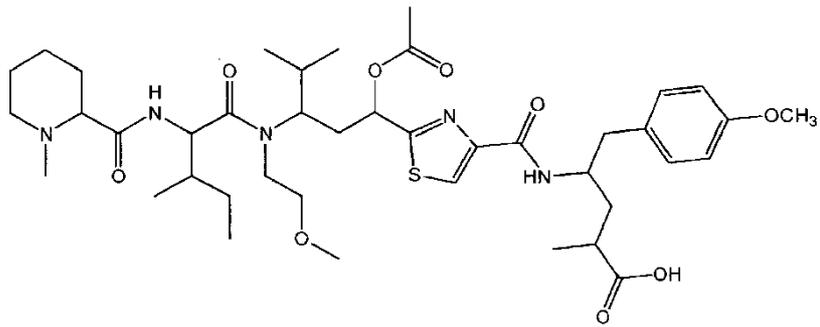


(AIX)

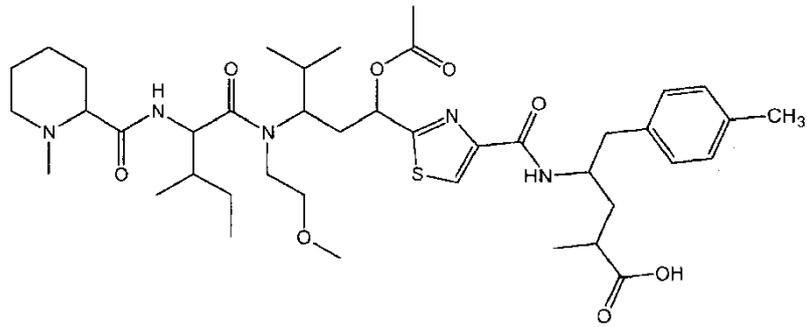
5



(AX)

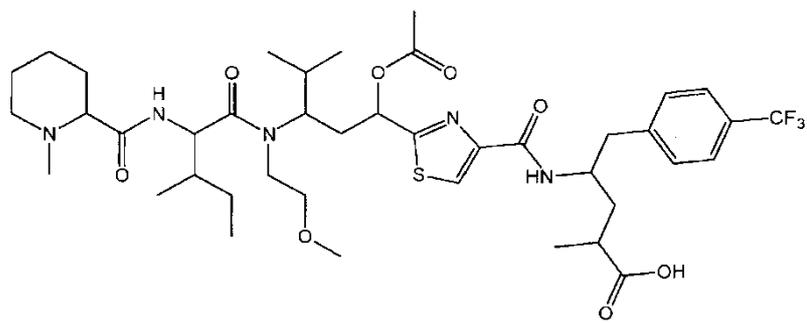


(AXI)

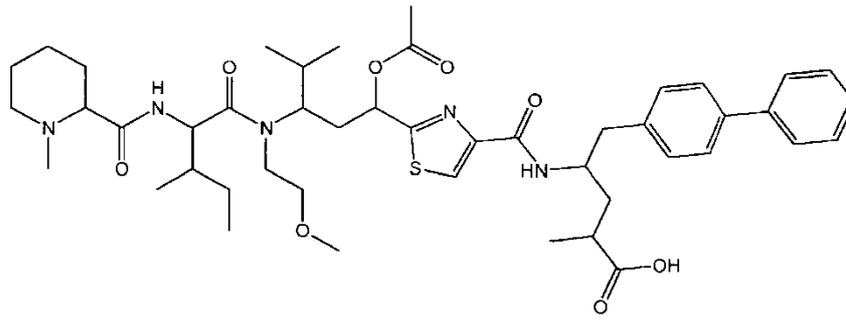


(AXII)

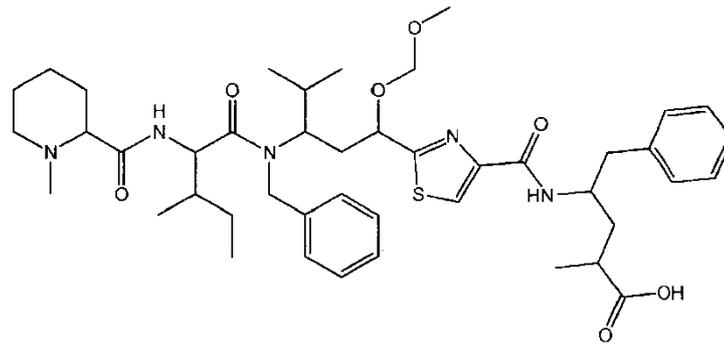
5



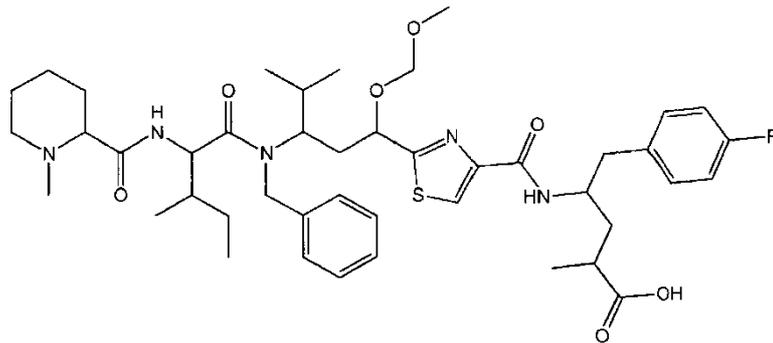
(AXIII)



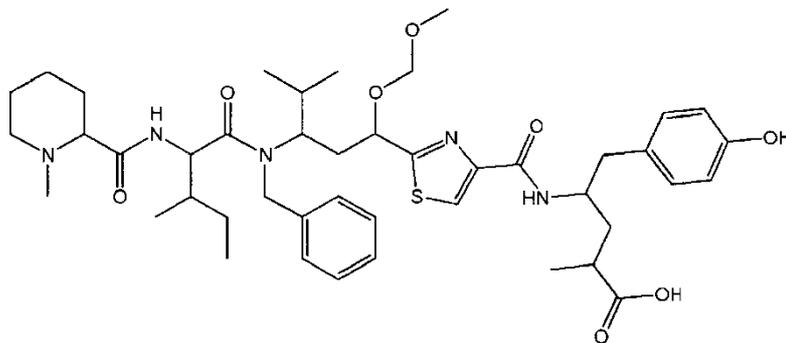
(AXIV)



(AXV)

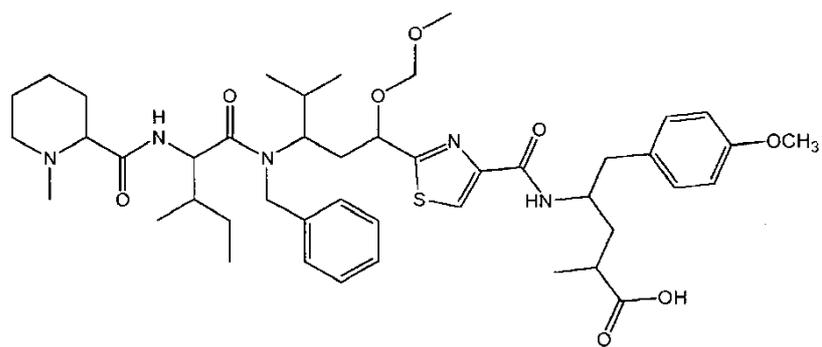


(AXVI)

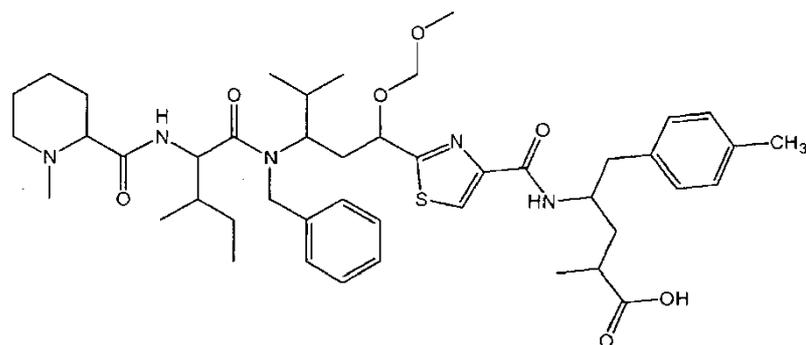


(AXVII)

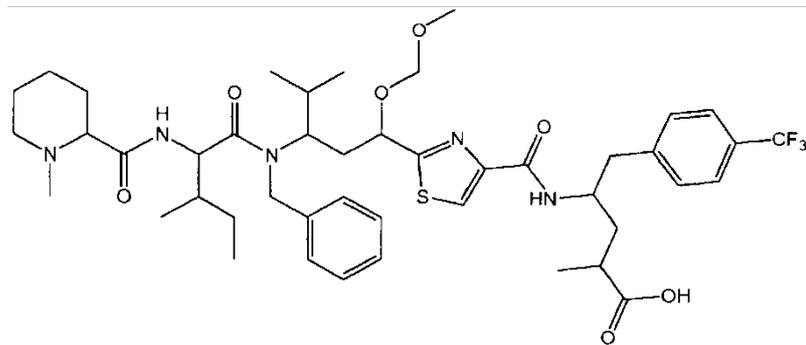
5



(AXVIII)

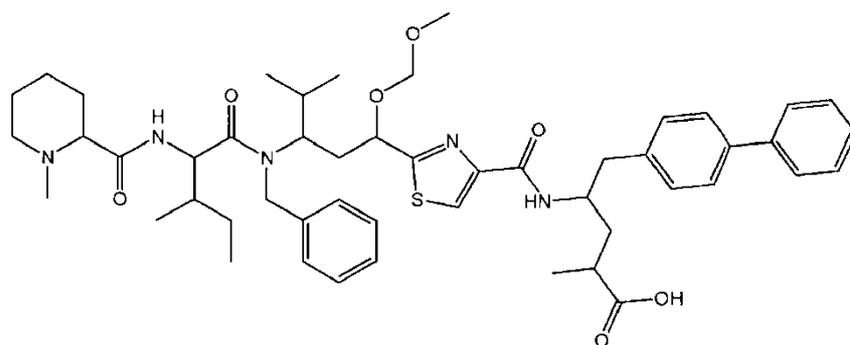


(AXIX)

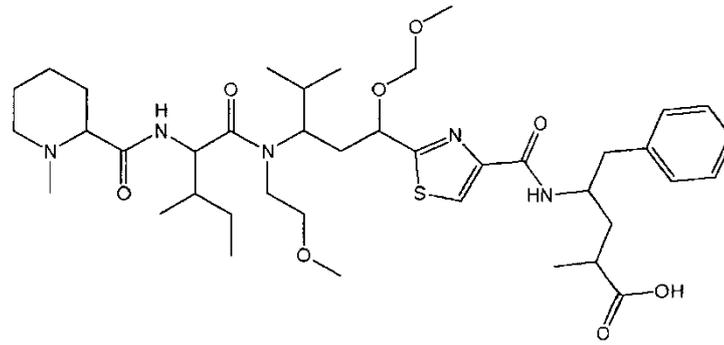


(AXX)

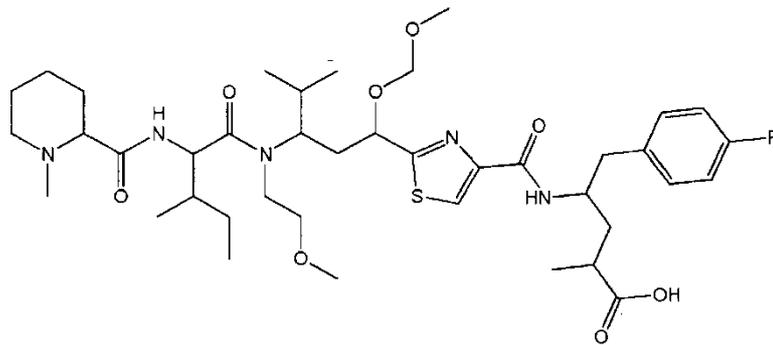
5



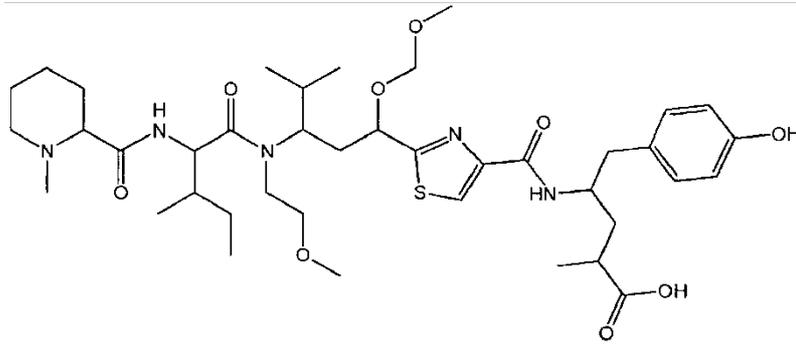
(AXXI)



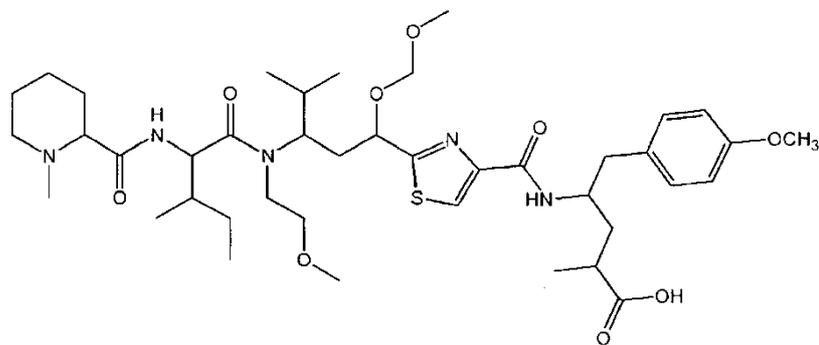
(AXXII)



(AXXIII)

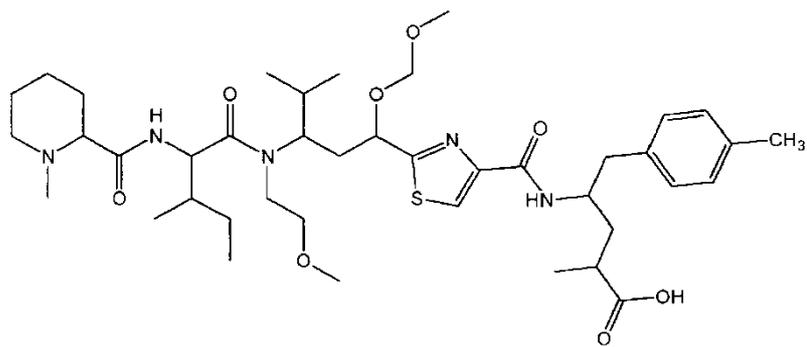


(AXXIV)

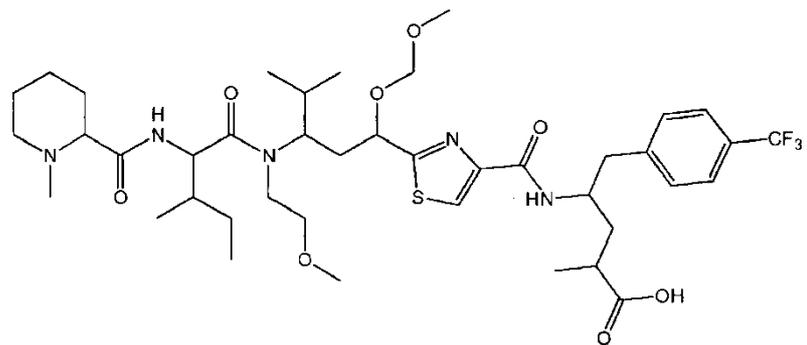


(AXXV)

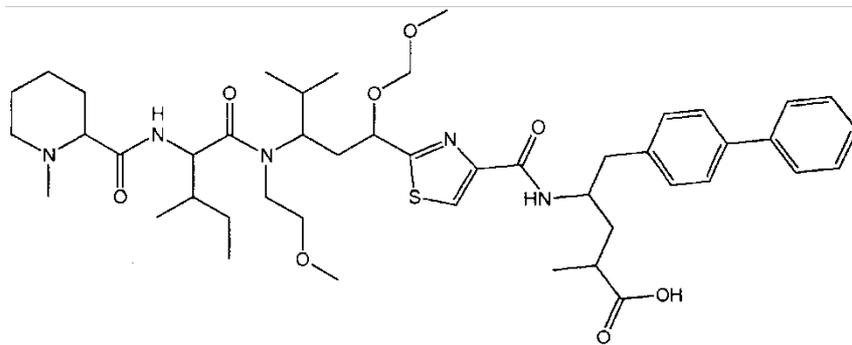
5



(AXXVI)

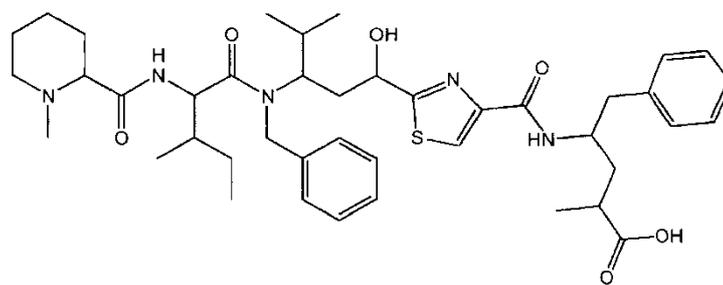


(AXXVII)

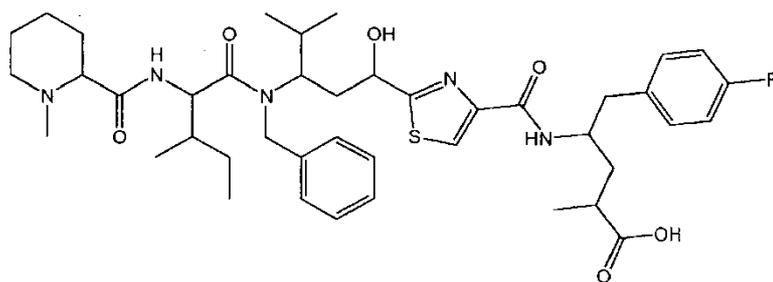


(AXXVIII)

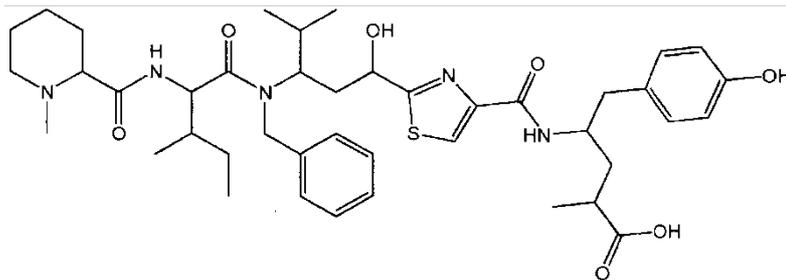
5



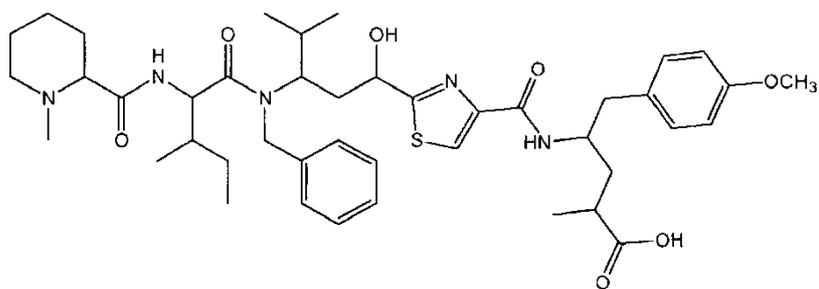
(AXXIX)



(AXXX)

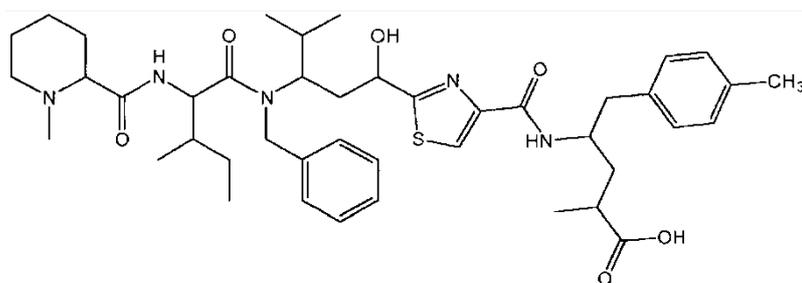


(AXXXI)

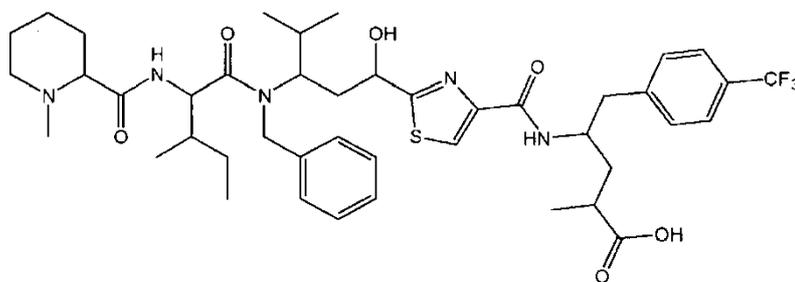


(AXXXII)

5

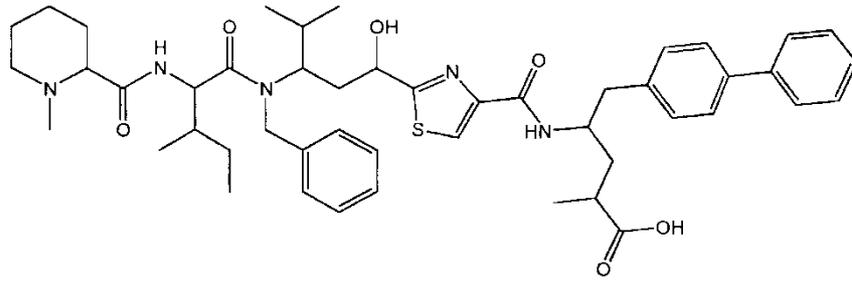


(AXXXIII)

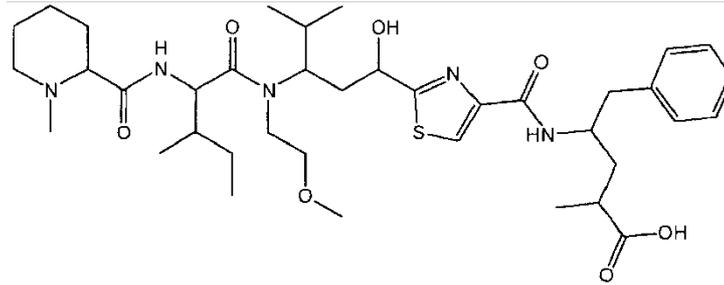


(AXXXIV)

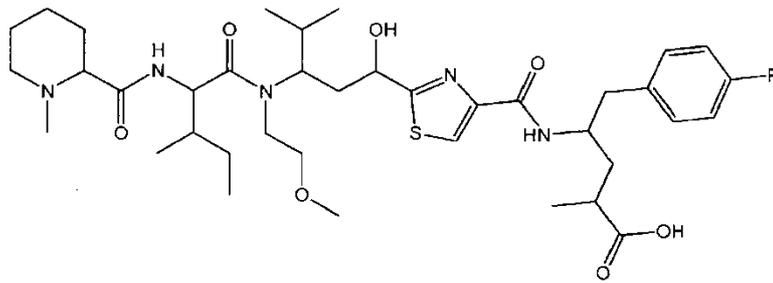
10



(AXXXV)

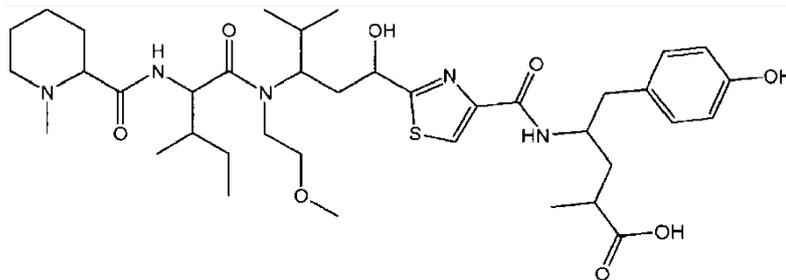


(AXXXVI)

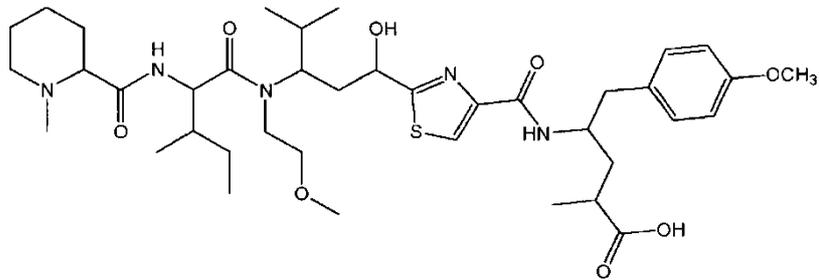


(AXXXVII)

5

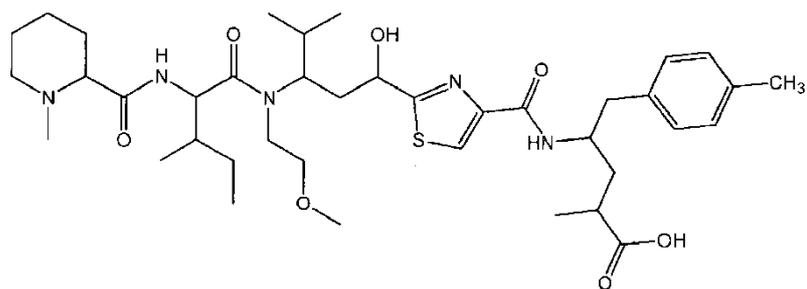


(AXXXVIII)

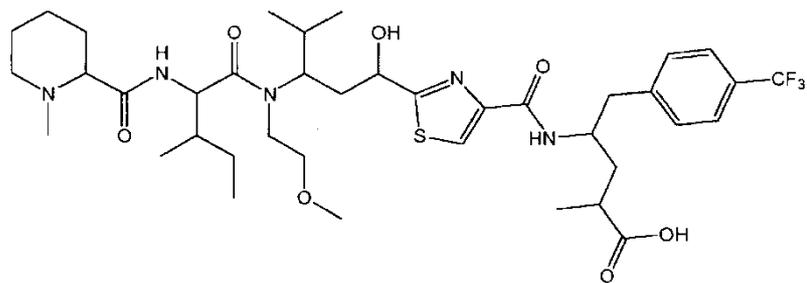


(AXXXIX)

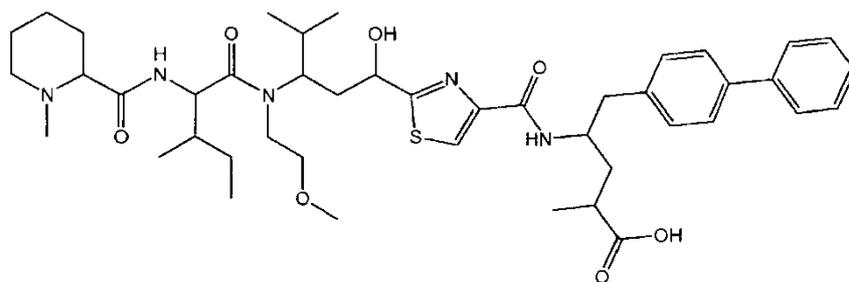
10



(AXL)

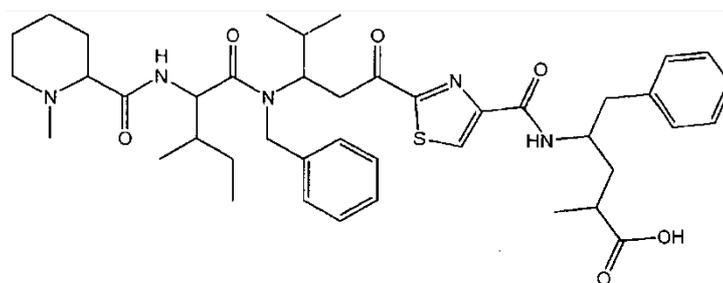


(AXLI)

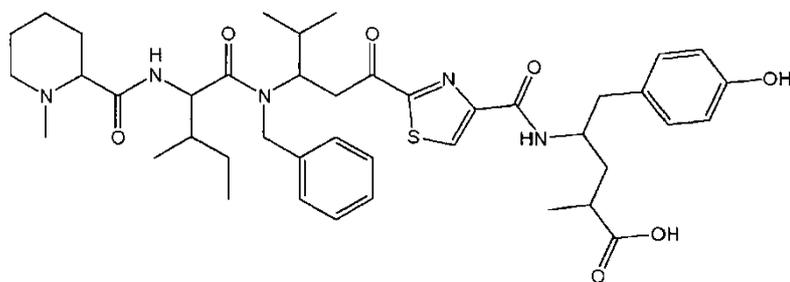


(AXLII)

5

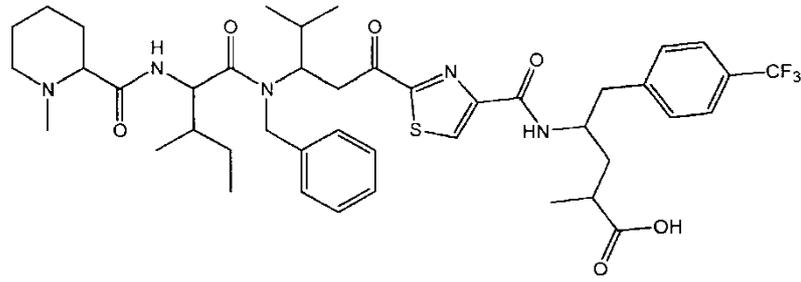


(AXLIII)

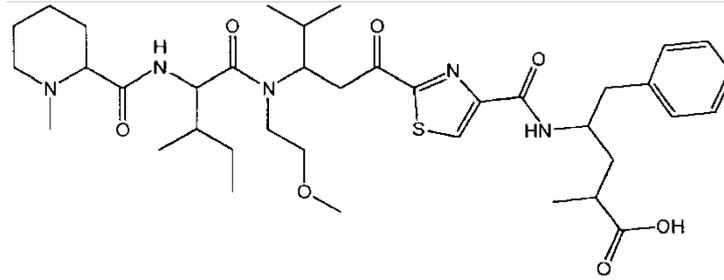


(AXLV)

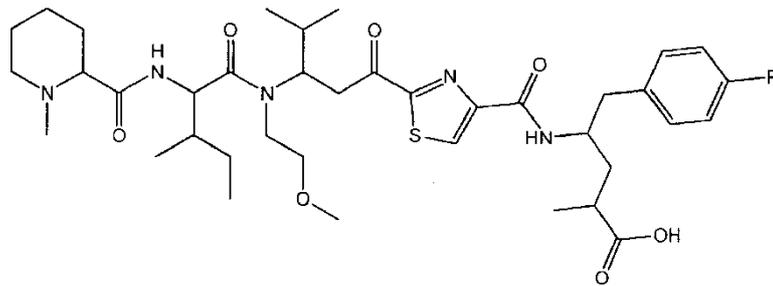
10



(AXLVIII)

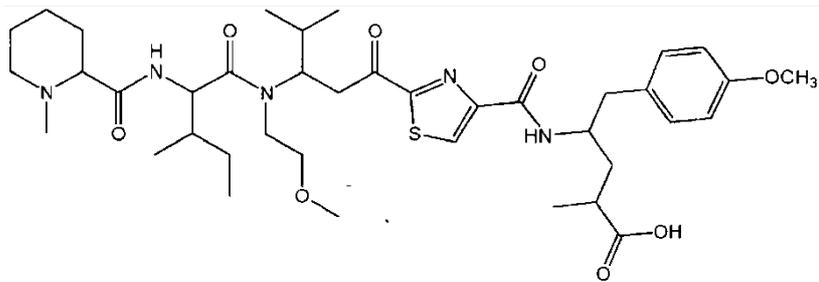


(AL)

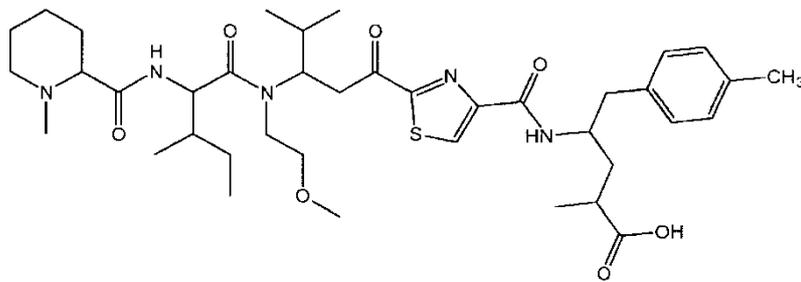


(ALI)

5

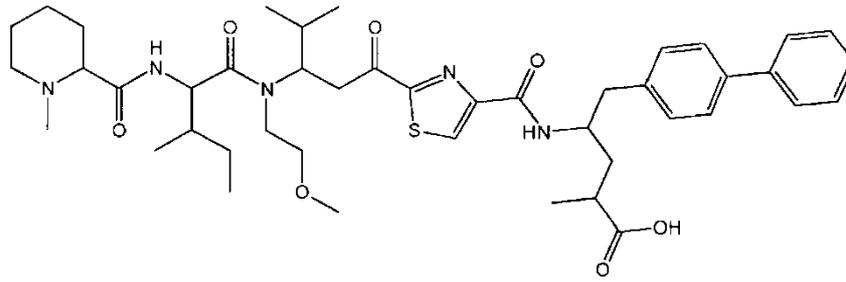


(ALIII)

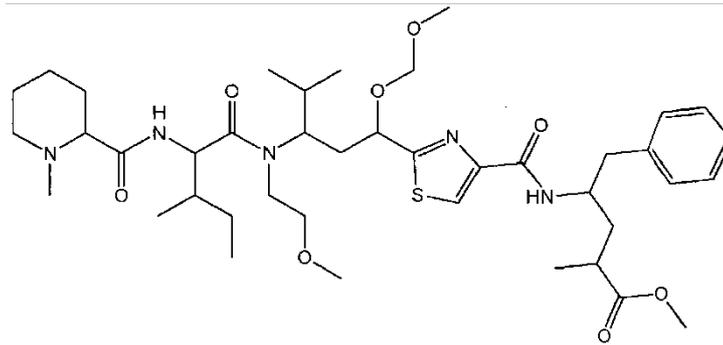


(ALIV)

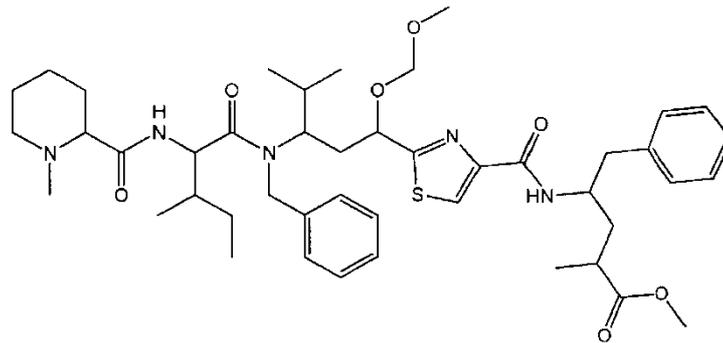
10



(ALVI)

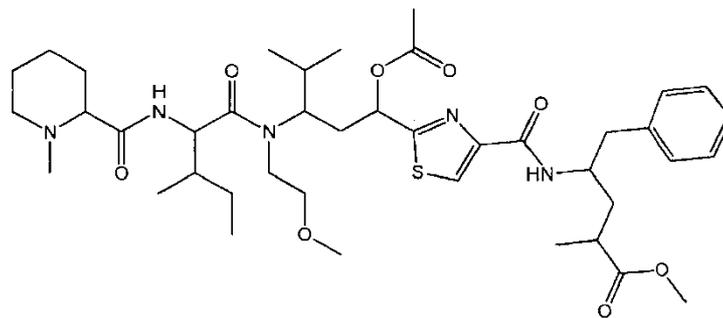


(ALVII)

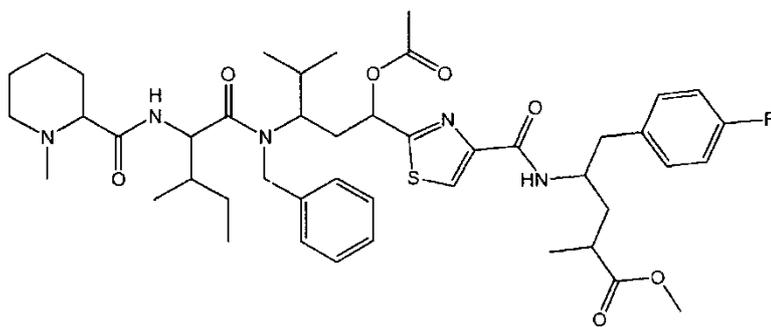


(ALVIII)

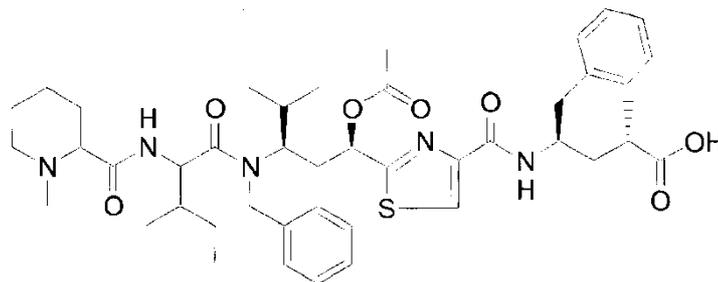
5



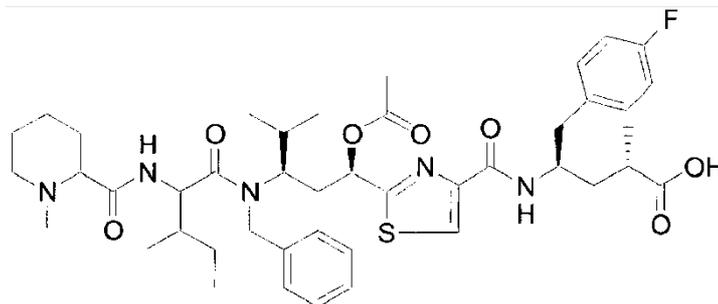
(ALIX)



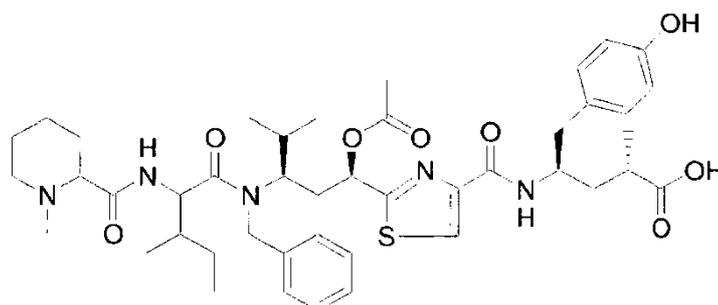
(ALX)



(ALXI)

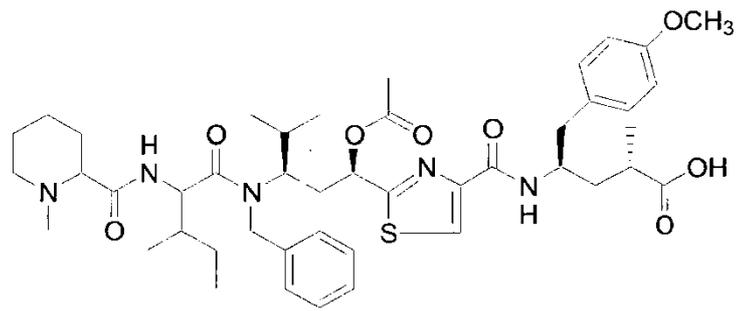


(ALXII)

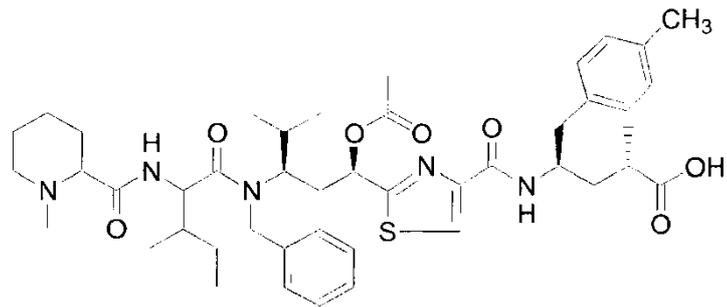


(ALXIII)

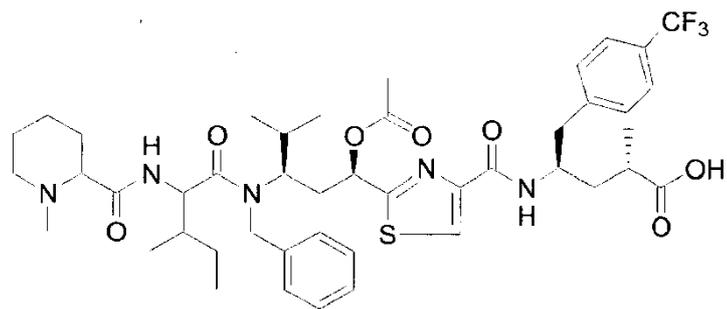
5



(ALXIV)

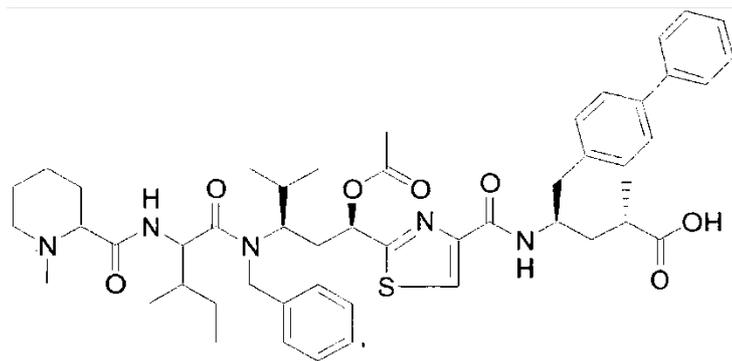


(ALXV)

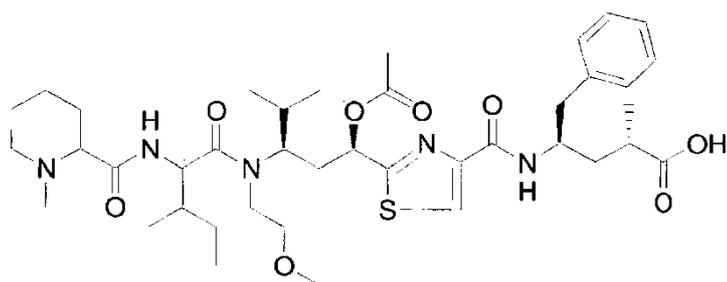


(ALXVI)

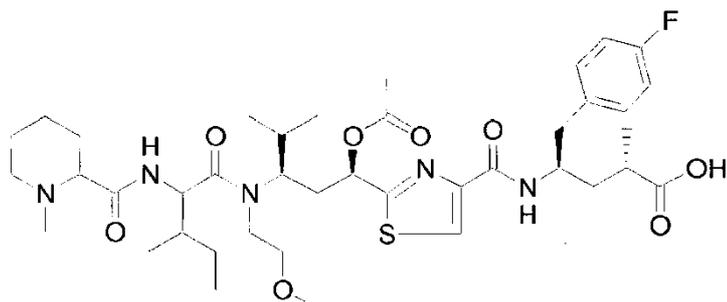
5



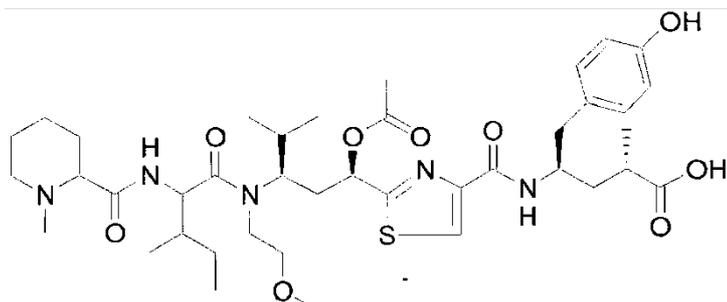
(ALXVII)



(ALXVIII)

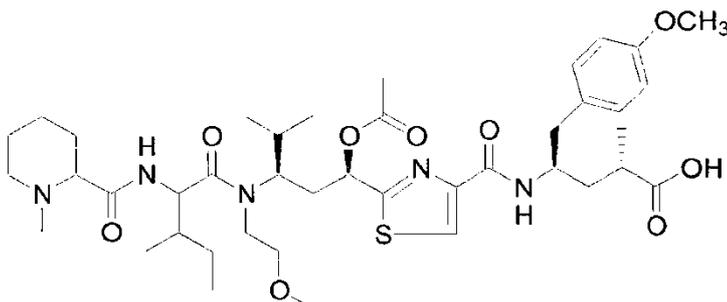


(ALXIX)

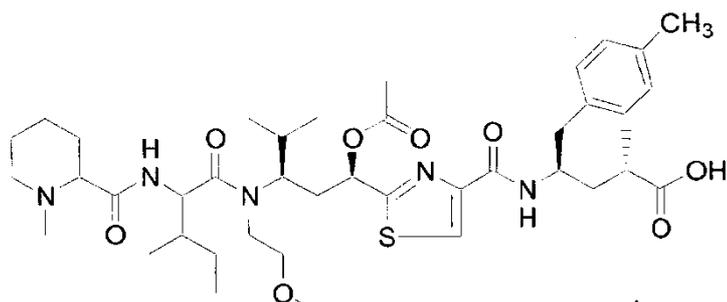


(ALXX)

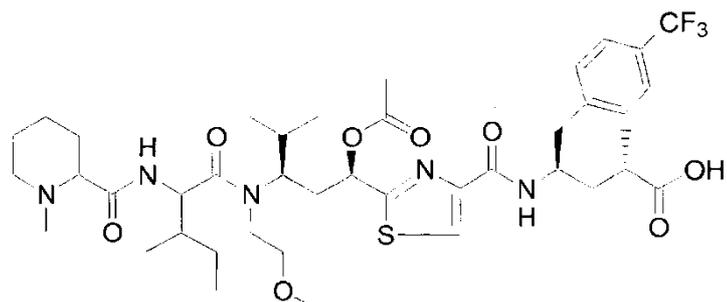
5



(ALXXI)

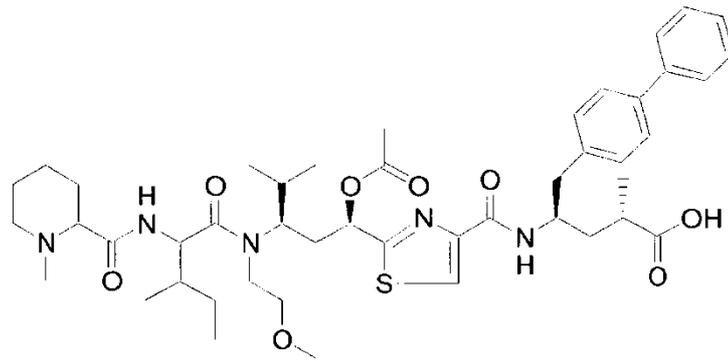


(ALXXII)

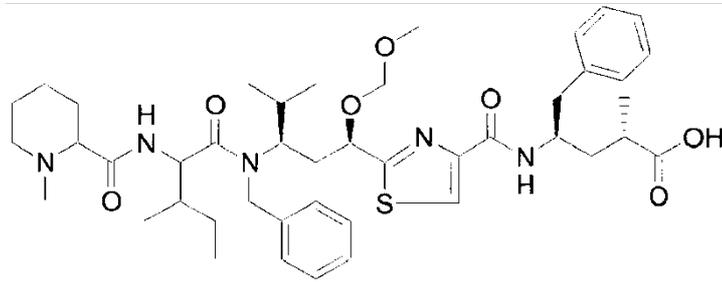


(ALXXIII)

10

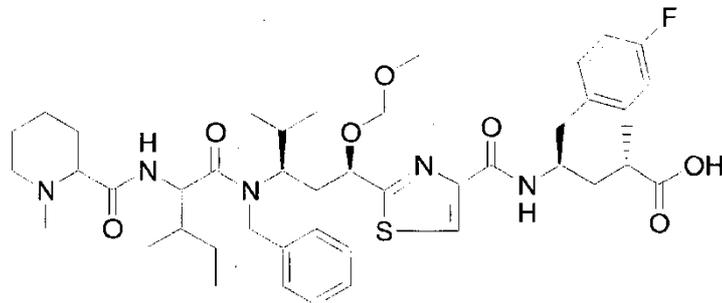


(ALXXIV)

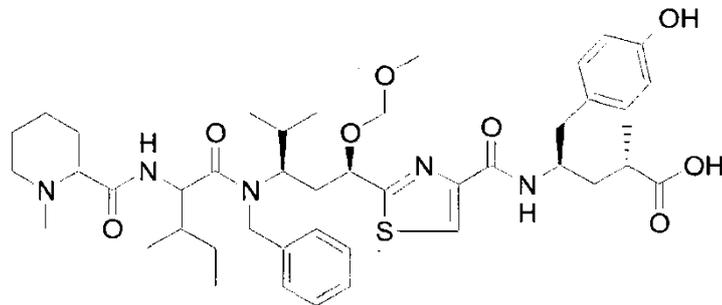


(ALXXV)

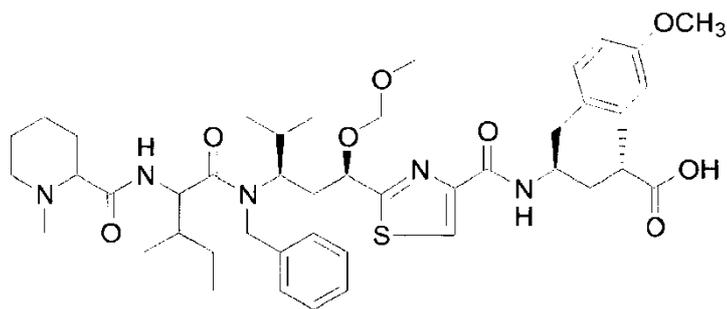
5



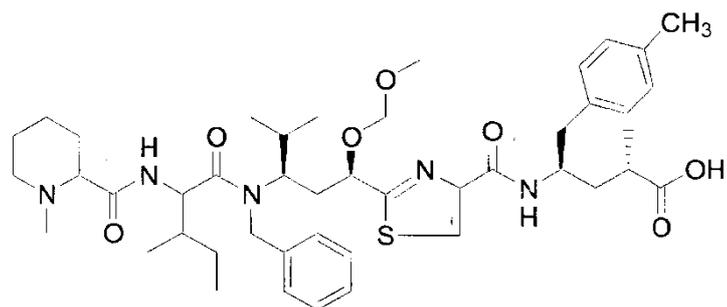
(ALXXVI)



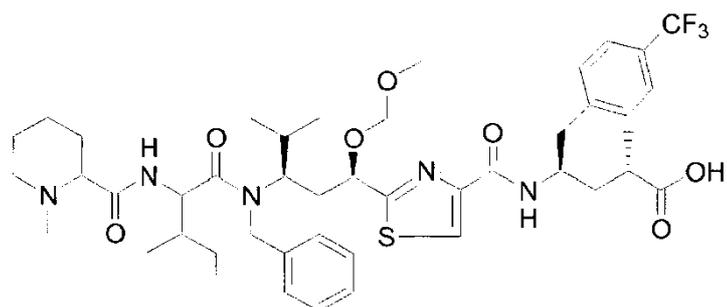
(ALXXVII)



(ALXXVIII)

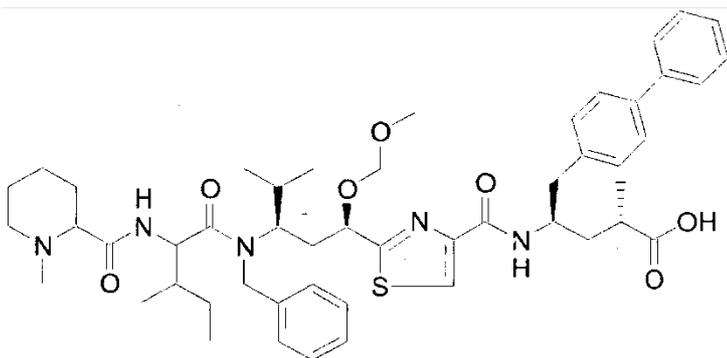


(ALXXIX)

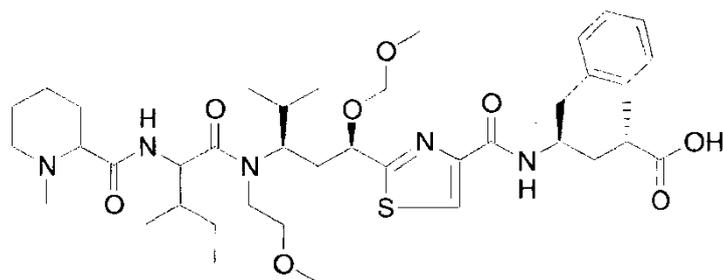


(ALXXX)

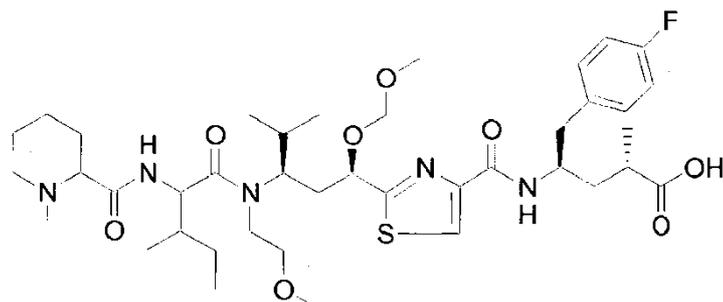
5



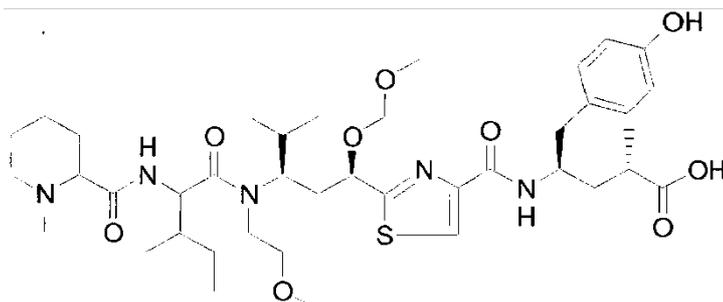
(ALXXXI)



(ALXXXII)

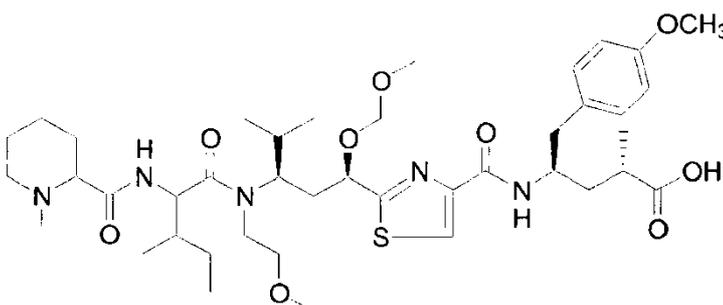


(ALXXXIII)

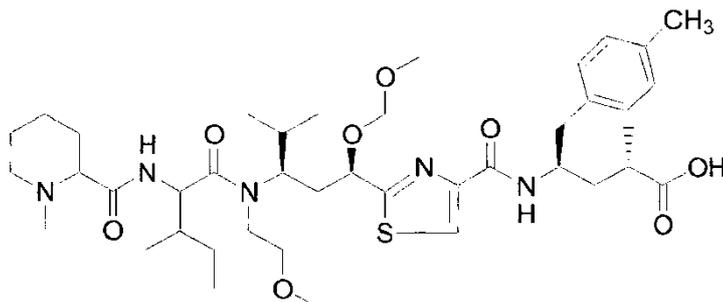


(ALXXXIV)

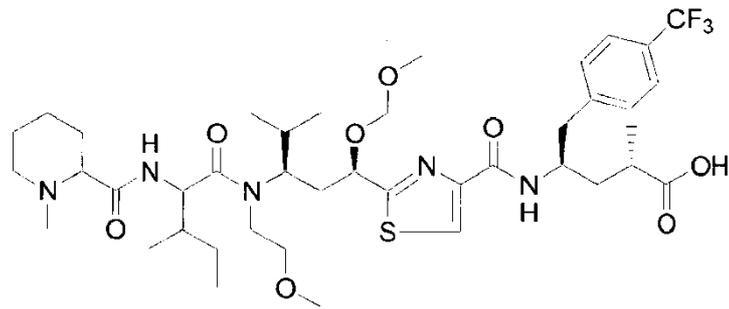
5



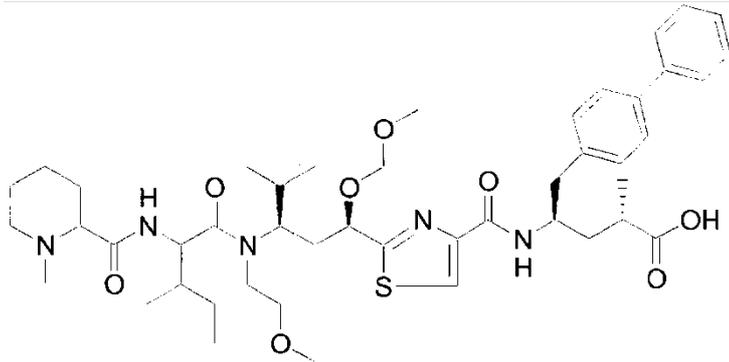
(ALXXXV)



(ALXXXVI)

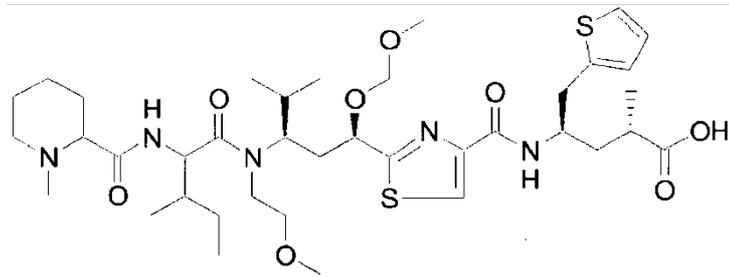


(ALXXXVII)

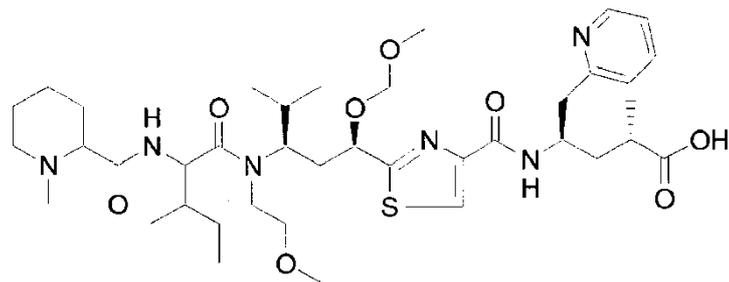


(ALXXXVIII)

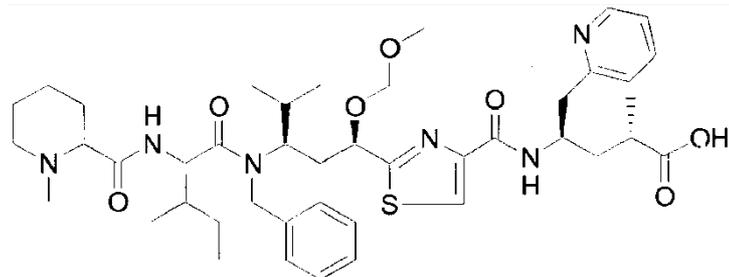
5



(AIXC)

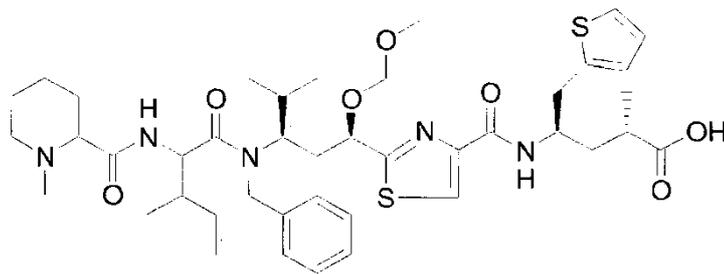


(AXC)

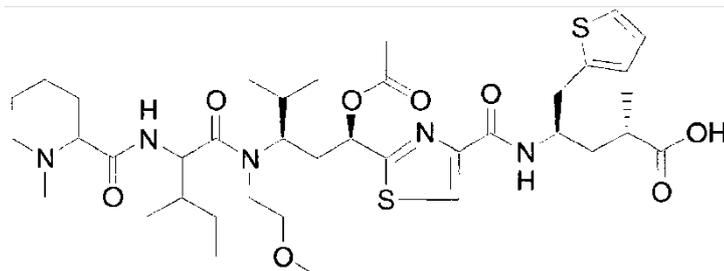


(AXCI)

10

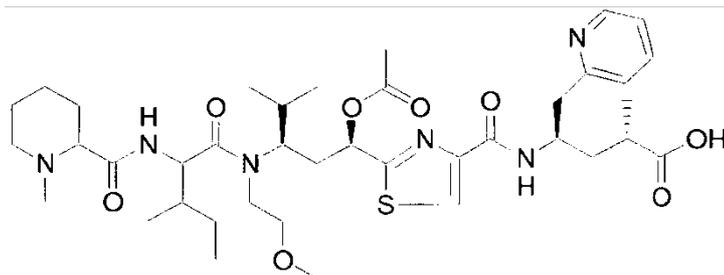


(AXCII)

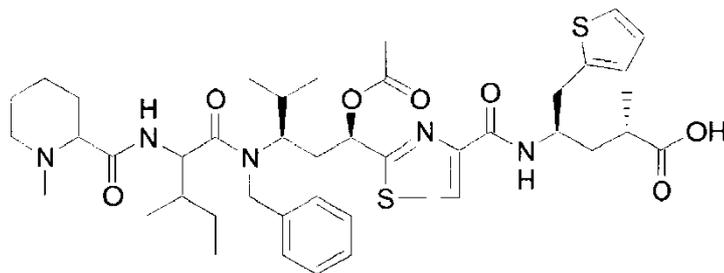


(AXCIII)

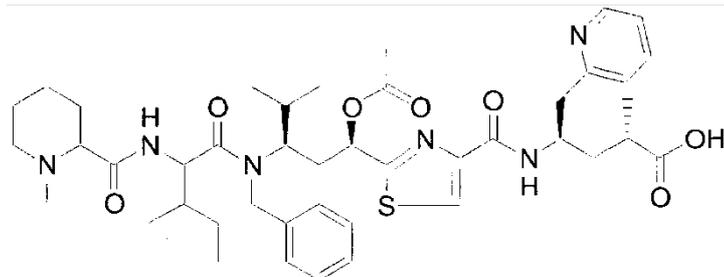
5



(AXCIV)

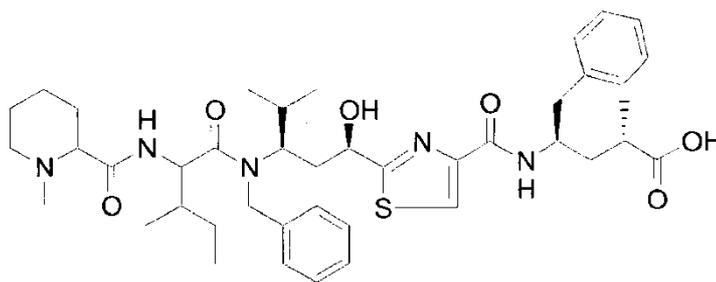


(AXCV)

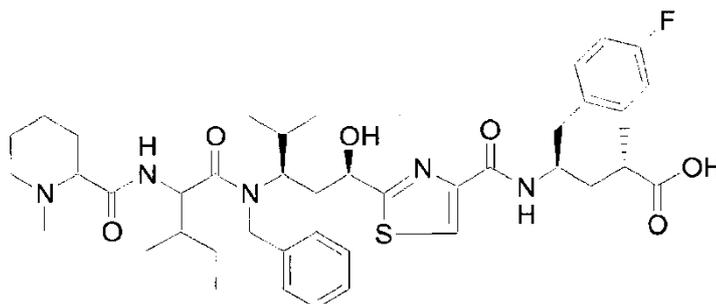


(AXCVI)

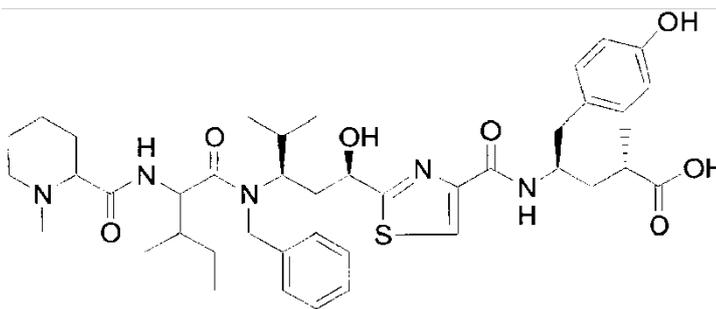
10



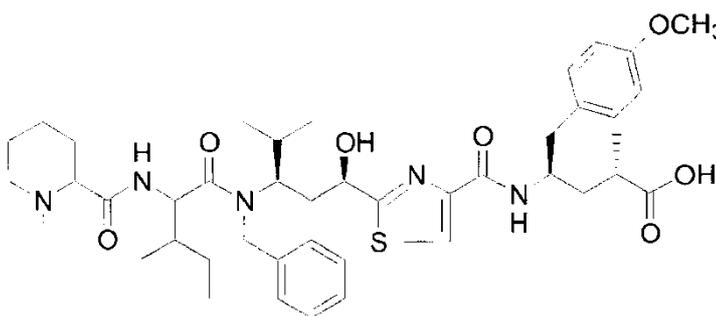
(AXCVII)



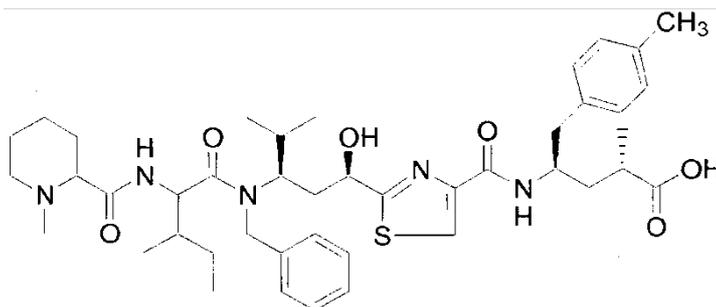
(AXCVIII)



(AIC)

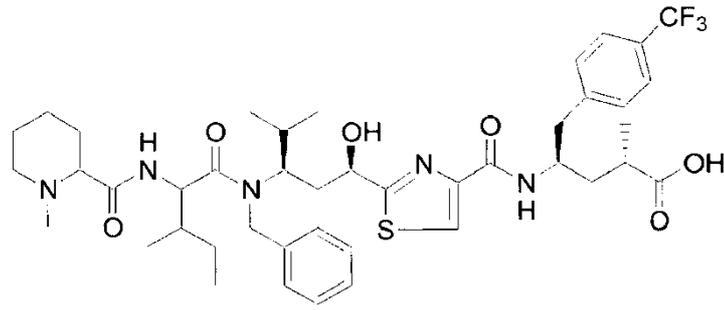


(AC)

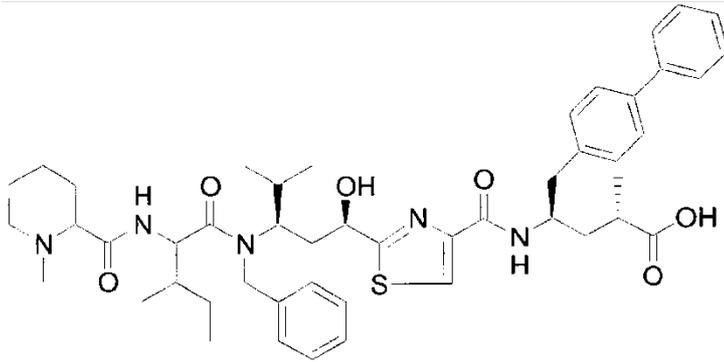


(ACI)

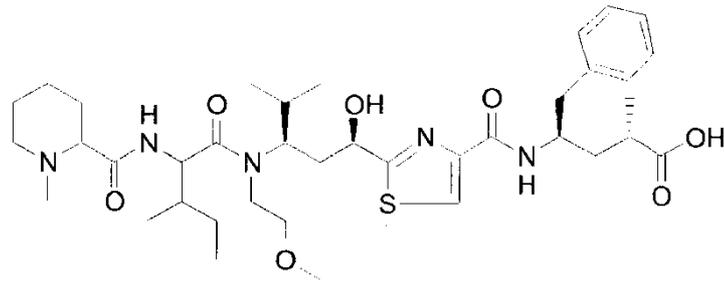
5



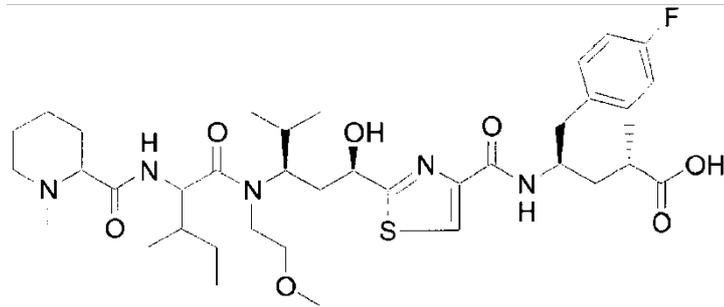
(ACII)



(ACIII)

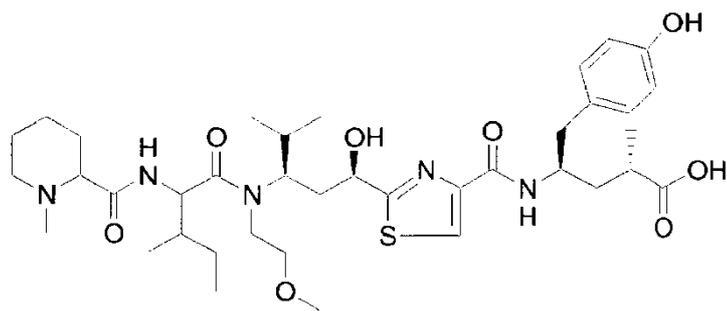


(ACIV)

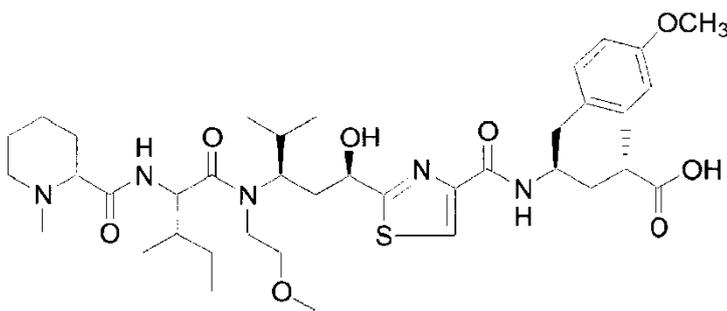


(ACV)

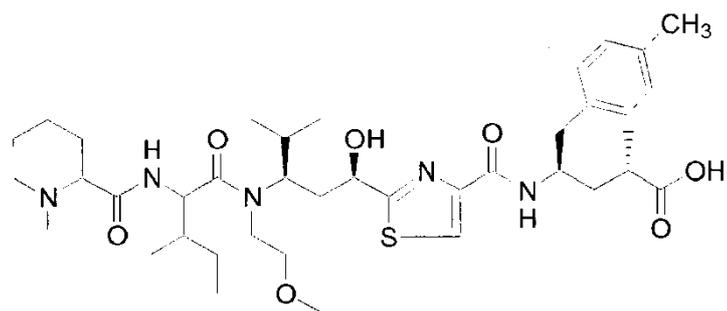
5



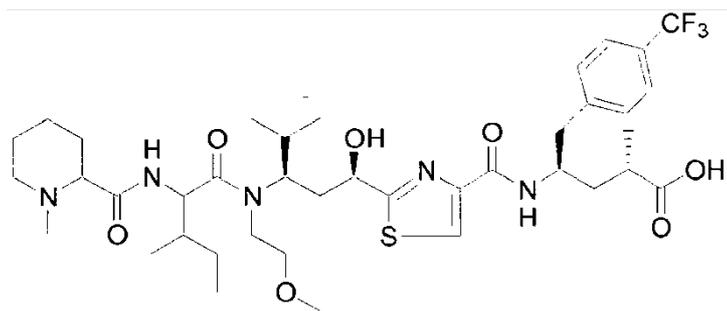
(ACVI)



(ACVII)

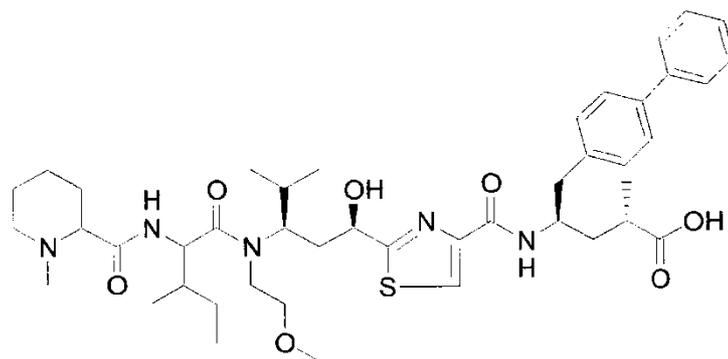


(ACVIII)

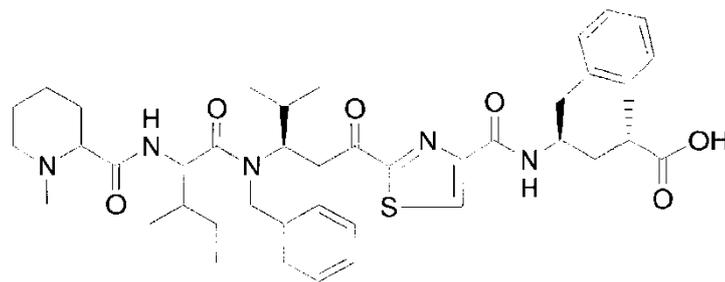


(ACIX)

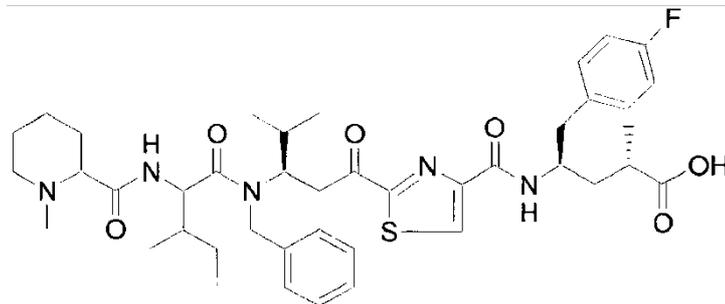
5



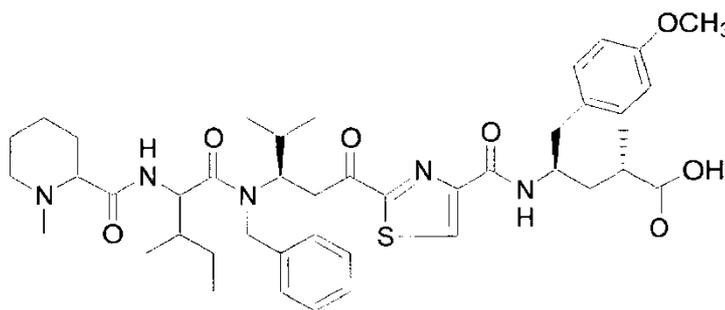
(ACX)



(ACXI)

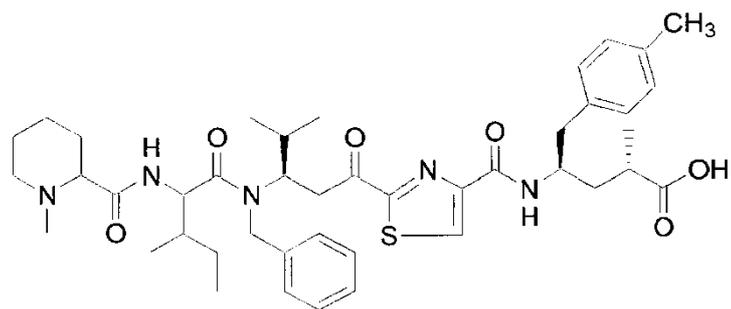


(ACXII)

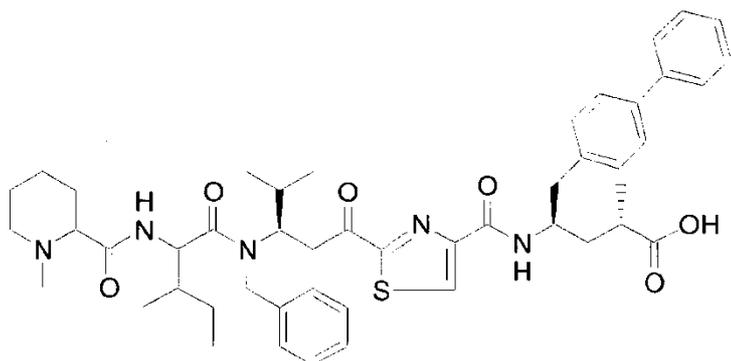


(ACXIII)

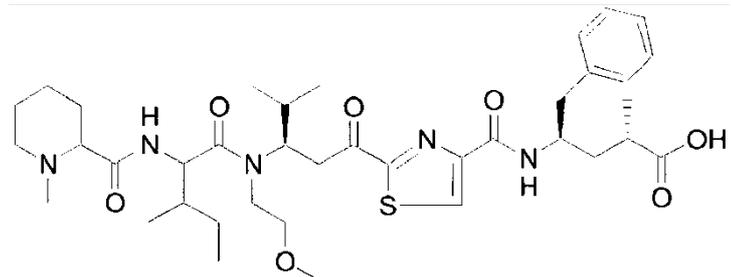
5



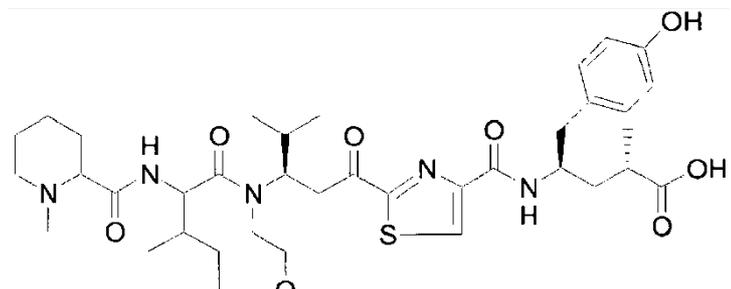
(ACXIV)



(ACXV)

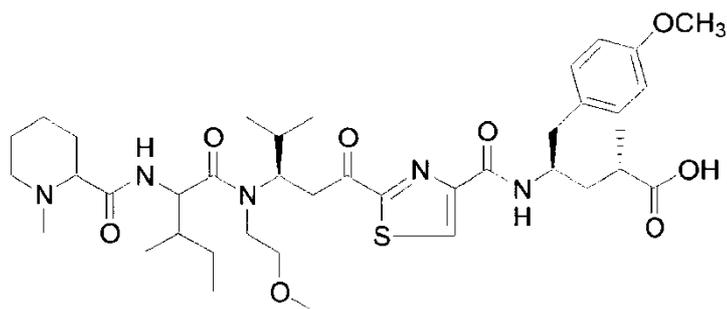


(ACXVI)

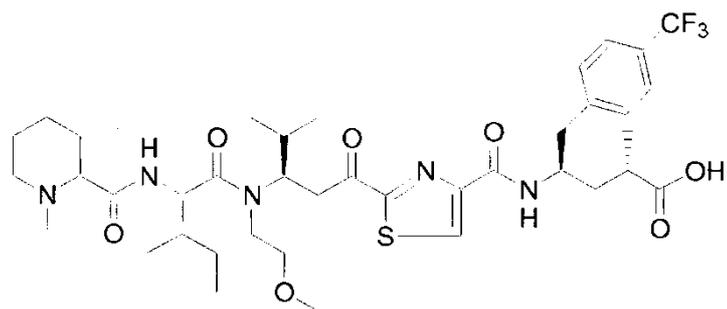


(ACXVII)

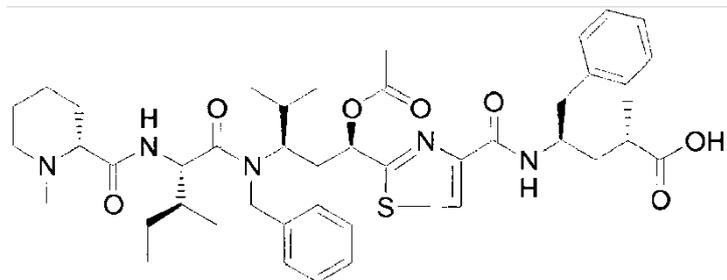
5



(ACXVIII)

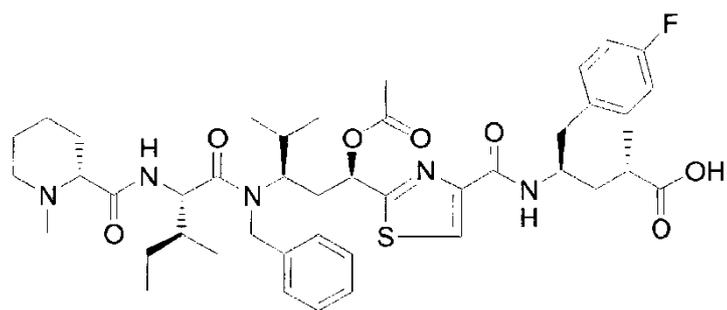


(ACXIX)

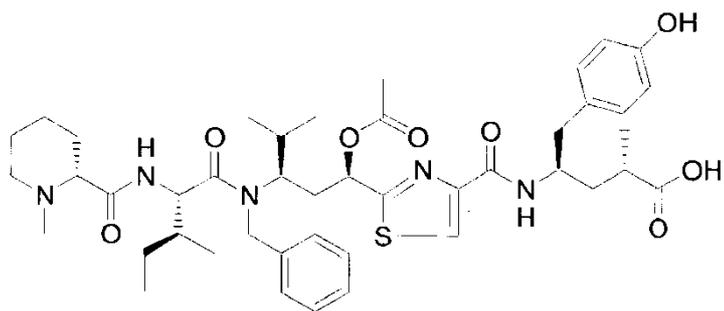


(ACXX)

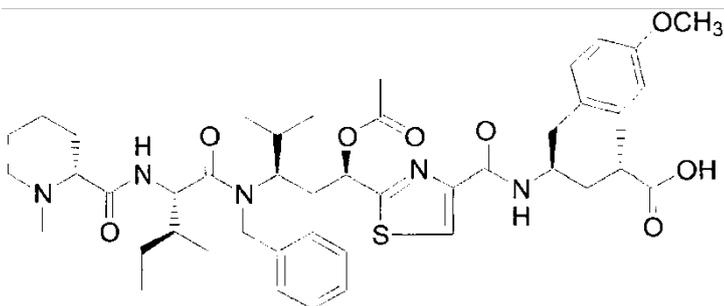
5



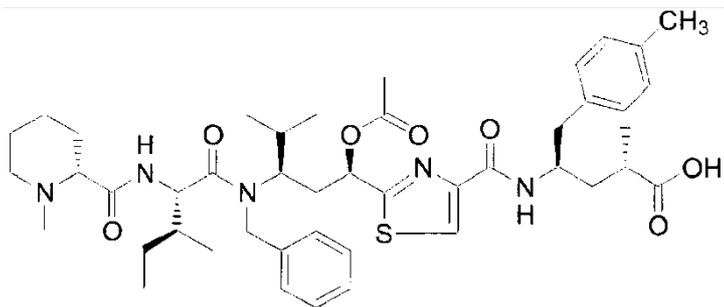
(ACXXI)



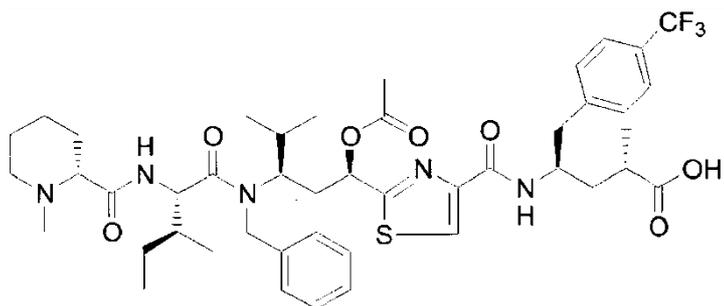
(ACXXII)



(ACXXIII)

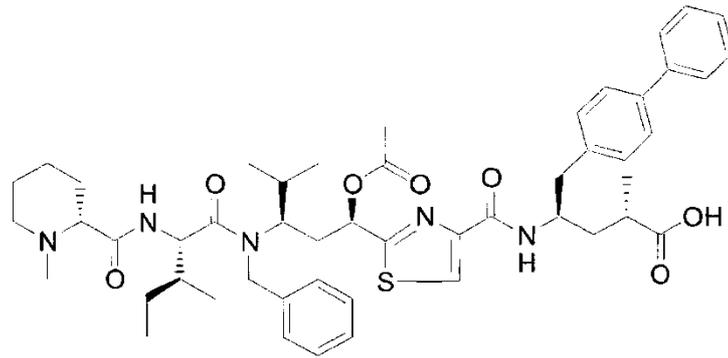


(ACXXIV)

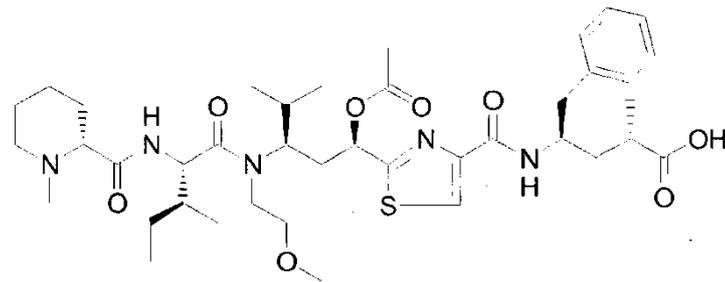


(ACXXV)

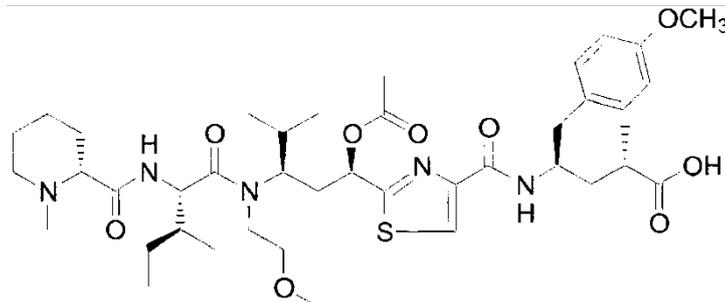
5



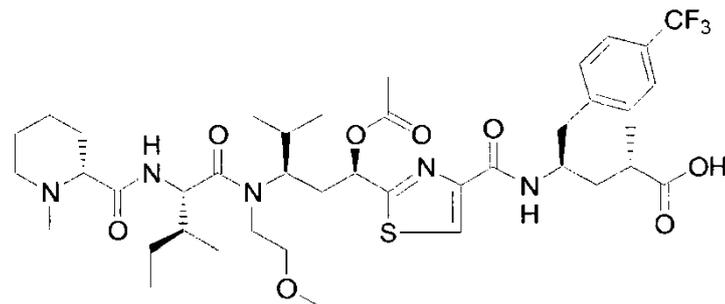
(ACXXVI)



(ACXXVII)

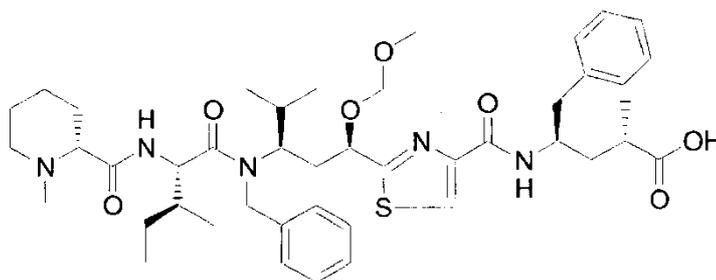


(ACXXVIII)

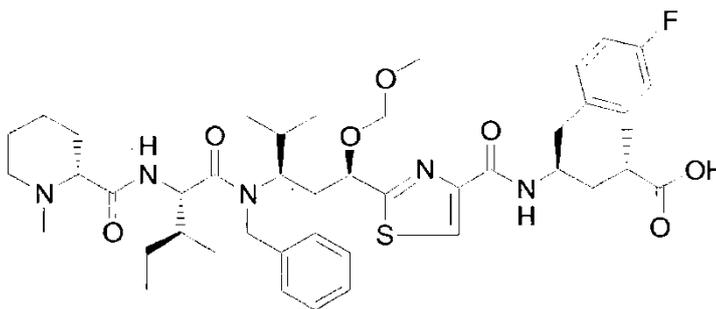


(ACXXIX)

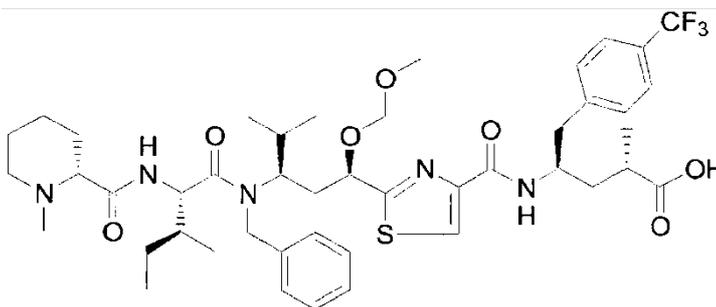
5



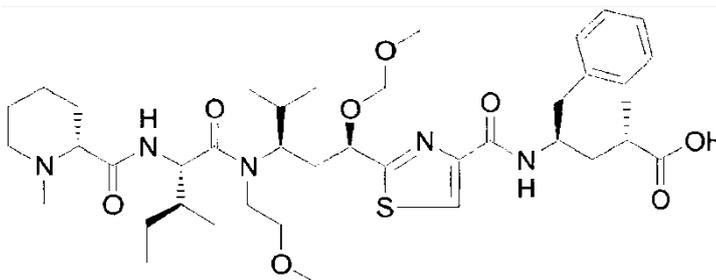
(ACXXX)



(ACXXXI)

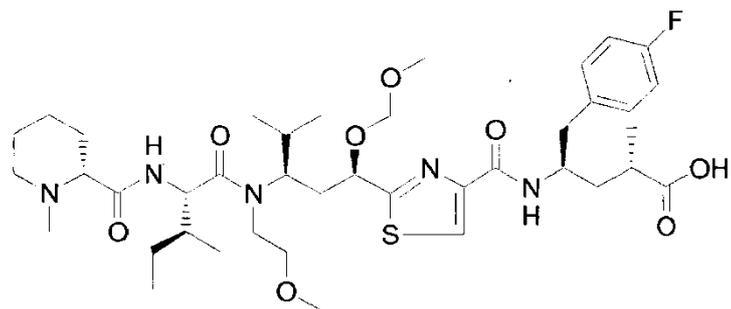


(ACXXXII)

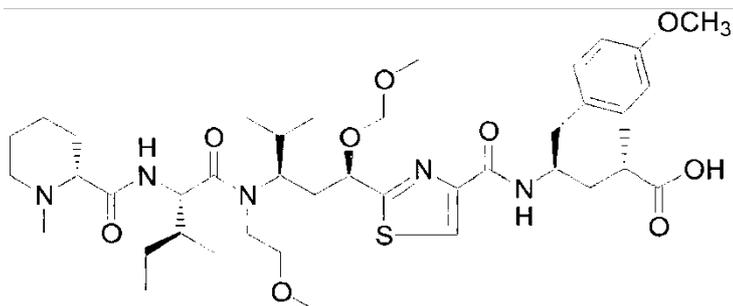


(ACXXXIII)

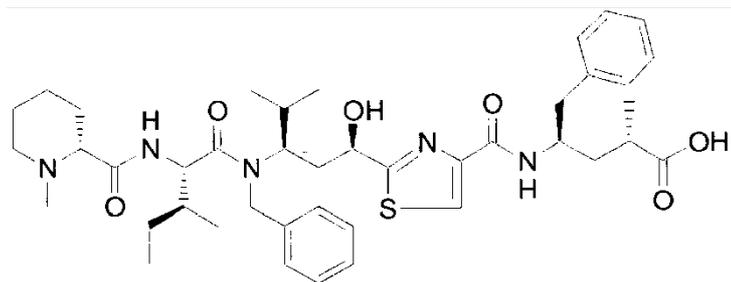
5



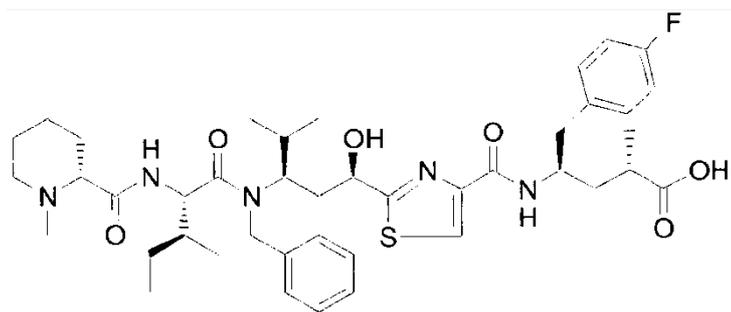
(ACXXXIV)



(ACXXXV)

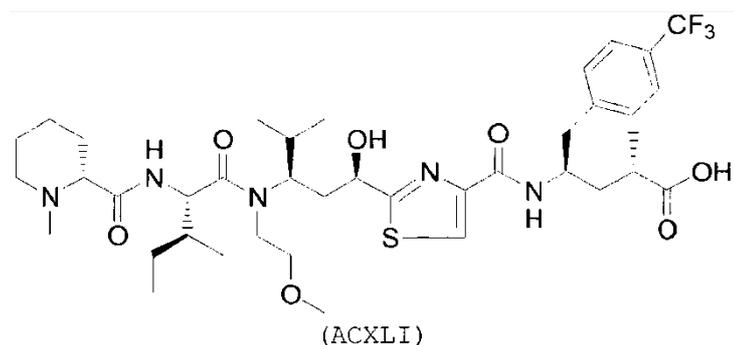
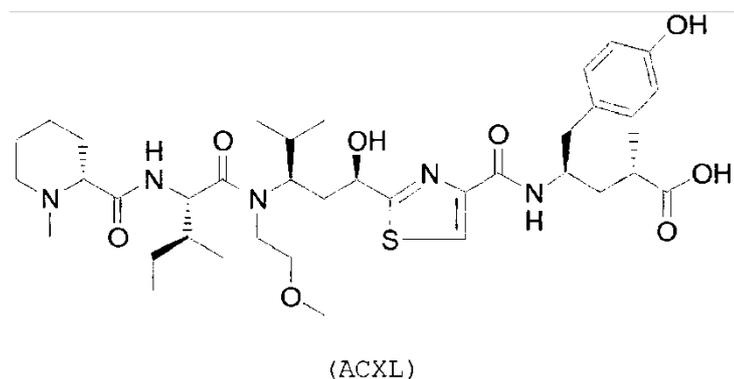
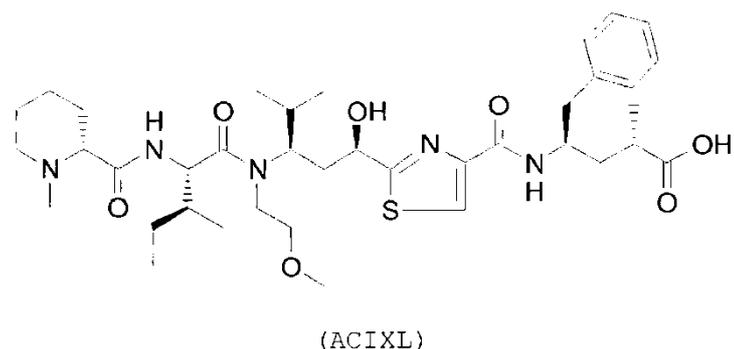
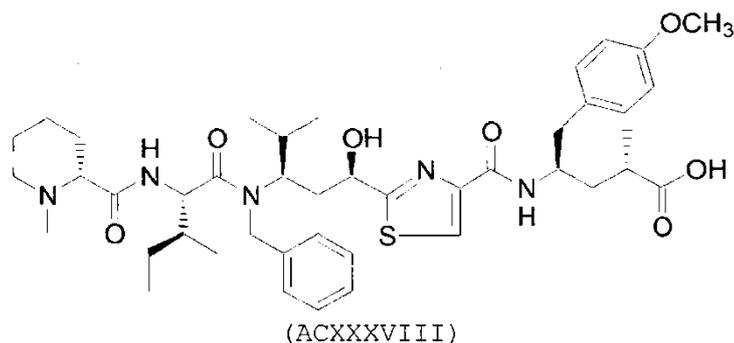


(ACXXXVI)



(ACXXXVII)

5



5

10 Los hidratos, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención, que comprenden los diversos isómeros geométricos, estereoisómeros y sus mezclas, son un objeto adicional de la presente invención.

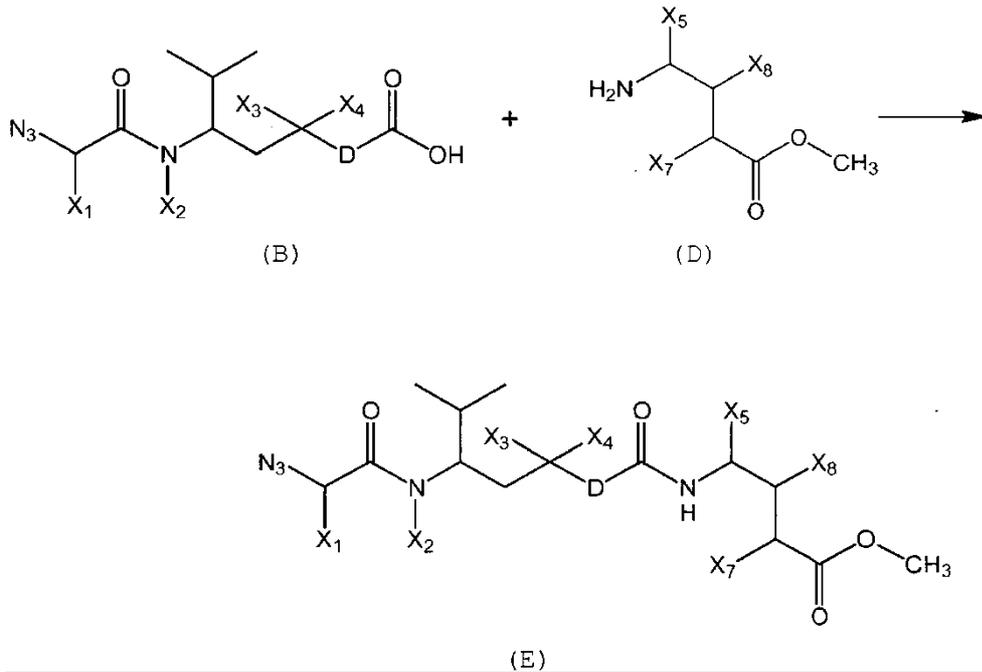
15 El significado de los términos hidrato y solvato es bien conocido por el experto en la materia. En particular, por hidrato se hace referencia al compuesto que contiene una o más moléculas de agua de hidratación, generalmente de 1 a 10. Por solvato se hace referencia a que el compuesto contiene una o más moléculas de disolvente diferente de agua. Por sales farmacéuticamente aceptables se hace referencia a todas las sales obtenidas tratando los compuestos de la invención con ácidos orgánicos o inorgánicos, o con bases orgánicas o inorgánicas, aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Por ejemplo, se pueden mencionar hidrocloruros, sulfatos, fumaratos,

oxalatos, citratos, hidrogenosulfatos, succinatos, paratoluenosulfonatos, sales de amonio cuaternario. Véase el volumen: "Remington, The Science and Practice of Pharmacy", vol. II, 1995, página 1457.

5 Un objeto adicional de la presente invención es un procedimiento para preparar los compuestos de fórmula general (A) cuando X_4 se selecciona de halógeno, NR_6R_7 , SH, $(OR_5)_n-OR_6$, alquilo o alqueniilo, que comprende las siguientes etapas:

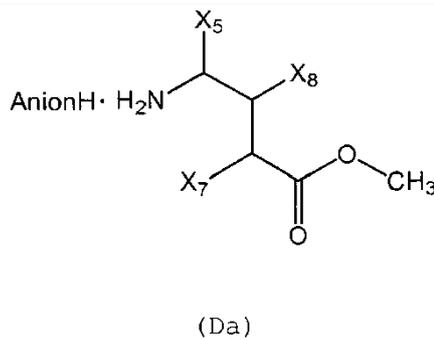
10

A-1) hacer reaccionar un ácido de fórmula (B) con un aminoéster de fórmula (D) y obtener un compuesto de fórmula (E)



15

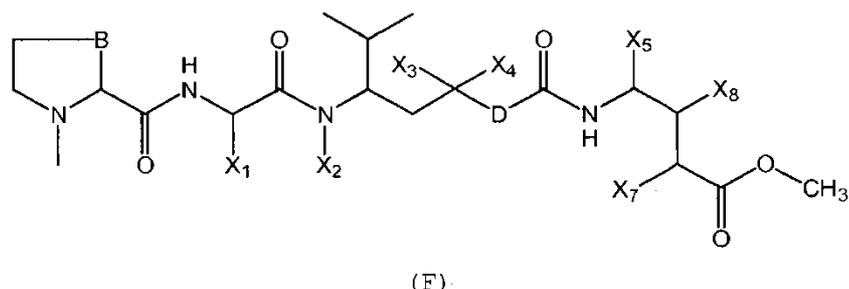
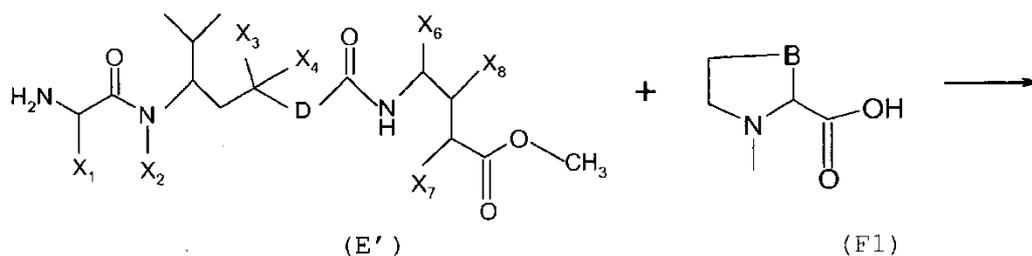
el aminoéster (D) está opcionalmente en forma de la sal correspondiente (compuesto (Da)) con un ácido orgánico o inorgánico (AnionH, en el que Anion es el anión del ácido),



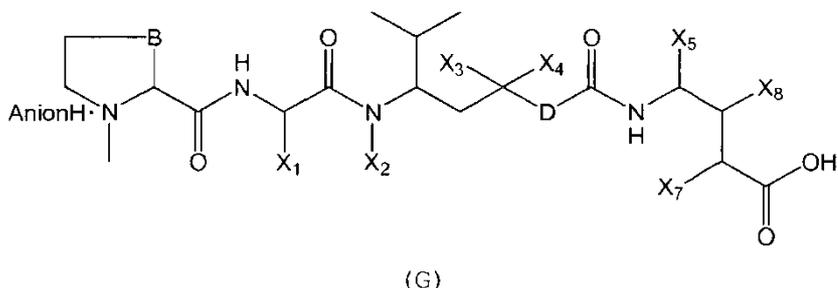
20

A-2) hidrogenar el compuesto de fórmula (E) para proporcionar el aminoéster de fórmula (E'), en el que el grupo azida terminal (N_3) se convierte en un grupo de amina primaria,

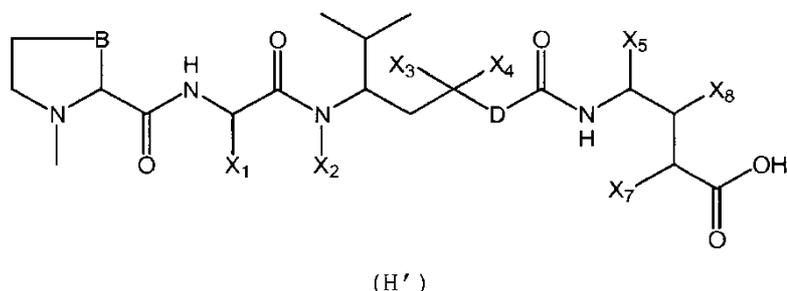
A-3) hacer reaccionar el aminoéster (E') con el ácido heterocíclico (F1) para proporcionar el éster (F),



5 A-4) hidrolizar el grupo éster situado en un extremo de la cadena del compuesto (F) y tratar subsiguientemente con un ácido orgánico o inorgánico AnionH para proporcionar el compuesto (G), que corresponde a los compuestos salificados de fórmula (A) en la que $X_6 = OH$,



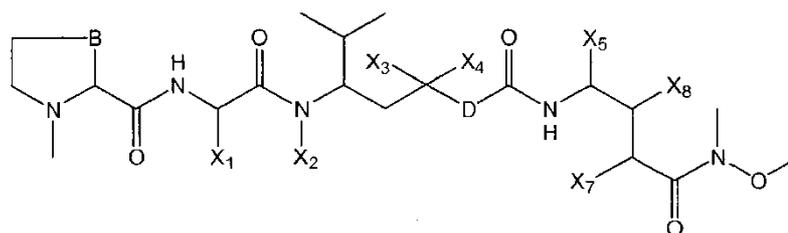
10 A-5) neutralizar el compuesto (G) con una base orgánica para proporcionar el compuesto (H'), que corresponde a los compuestos de fórmula (A) en la que $X_6 = OH$,



15 Dependiendo del significado de X_6 , se llevan a cabo las siguientes etapas A-6), A-7), A-8):

A-6) la síntesis de los compuestos de fórmula (A) en la que X_6 se selecciona de uno de los siguientes grupos: NR_8R_9 , OR_8 , $NH-NR_8R_9$ o SR_8 , mediante reacción de la función ácido carboxílico del compuesto (H') con los precursores de los grupos X_6 ,

20 A-7) en la alternativa a A-6), la síntesis de los compuestos de fórmula (A) en la que X_6 es R_{10} , haciendo reaccionar el compuesto (H') con $CH_3-O-NH-CH_3$ y $CH_3S(O)_2Cl$, en un disolvente inerte en presencia de una base orgánica, para producir el compuesto (HA1)



(HA1)

5 y la reacción subsiguiente de (HA1) con el reactivo de Grignard $R_{10}MgBr$,

A-8) para preparar los compuestos de fórmula (A) en la que X_6 es H, el grupo ácido carboxílico del compuesto (H') se reduce a un grupo aldehído.

10 La etapa A-1) se lleva a cabo añadiendo una amina (D), o la sal correspondiente con un ácido AnionH, a una disolución de un ácido de fórmula (B), previamente disuelto en un disolvente inerte y se añade un reactivo de acoplamiento de una base orgánica. Al final de la reacción, se añade agua y se lleva a cabo una extracción final con un disolvente orgánico. La disolución orgánica se recupera y se lava, en primer lugar con una disolución acuosa ácida, después con una disolución acuosa básica, y finalmente con una disolución acuosa salina. La fase orgánica se recupera y se deshidrata. El compuesto (E) se obtiene eliminando el disolvente a presión reducida.

15 El ácido AnionH con el que se puede salificar el aminoéster (D) es un ácido orgánico o inorgánico débil o fuerte, seleccionado de aquellos que no afectan a los grupos X_5 , X_7 y X_8 ni a la función éster $-COOCH_3$ del compuesto (D). Por ejemplo, se pueden mencionar los siguientes: HCl, CF_3COOH , $COOH$.

20 Un disolvente que se puede usar en la reacción es por ejemplo la dimetilformamida (DMF). El reactivo de acoplamiento se selecciona por ejemplo de DCC (diclohexilcarbodiimida), mezcla de EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida)/HOBT (1-hidroxibenzotriazol), la mezcla de HOAt (1-hidroxi-7-azabenzotriazol)/HATU (hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio-metanaminio), preferiblemente se usa HOAt/HATU. La base orgánica de utilización es por ejemplo difeniletamina (DIPEA), trietilamina, piridina, preferiblemente trietilamina.

25 El tiempo de reacción está comprendido generalmente en el intervalo 1-5 horas. Preferiblemente, el disolvente orgánico que se puede usar para la extracción de la mezcla de reacción es por ejemplo éter etílico. Los lavados de la fase orgánica se llevan a cabo por ejemplo secuencialmente con una disolución acuosa 1N de HCl, con una disolución saturada acuosa de $NaHCO_3$, y con una disolución saturada acuosa de NaCl.

30 La etapa A-2) se lleva a cabo usando un catalizador, preferiblemente Pd/C, en una atmósfera de hidrógeno. Como disolvente, se puede usar un alcohol, por ejemplo metanol. El tiempo de reacción está generalmente en el intervalo de 8-20 horas.

35 La etapa A-3) se lleva a cabo usando como reactivo de acoplamiento y base orgánica, respectivamente, los compuestos que se han dado a conocer en la etapa A-1). Preferiblemente, como reactivo de acoplamiento, se usa HOAt/HATU, y, como base, se usa trietilamina.

40 La etapa A-4) se lleva a cabo añadiendo a una disolución del éster metílico (F) en un disolvente orgánico inerte una disolución acuosa de una base inorgánica. Al final de la reacción, la mezcla se acidifica a valores de pH menores que 3 con un ácido AnionH inorgánico u orgánico, y el producto de la reacción se extrae con un disolvente orgánico inerte, que se separa y después se elimina a presión reducida produciendo el compuesto (G). En la etapa A-4), como disolvente, se puede usar THF, y como base inorgánica, LiOH. Al final de la reacción, la mezcla se acidifica a un pH menor que 3, preferiblemente a pH igual a o menor que 2, por ejemplo con ácido trifluoroacético. Como disolvente de extracción, se puede usar acetato de etilo.

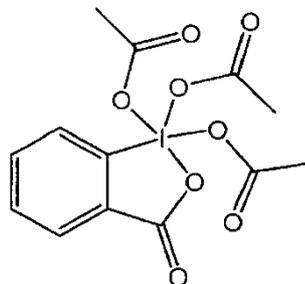
La etapa de neutralización A-5) se lleva a cabo usando una base orgánica, por ejemplo trietilamina o piridina.

50 En la etapa A-6), el compuesto (H') se hace reaccionar con un reactivo de acoplamiento y una base orgánica, seleccionados respectivamente de aquellos mencionados anteriormente en la etapa A-1). Los precursores del sustituyente X_6 que se usan son los siguientes compuestos: NHR_8R_9 , HOR_8 , $NH_2-NR_8R_9$, HSR_8 . Como disolvente, se puede usar diclorometano, el reactivo de acoplamiento es una mezcla de HOAt/HATU, la base orgánica es por ejemplo trietilamina.

55 La etapa A-8) se puede llevar a cabo mediante reducción directa de la función carboxílica del compuesto (H') a aldehído, por ejemplo usando hidruro de diisobutilaluminio, $NaAlH_4$, hidruro de litio y t-butoxialuminio, Pd/ $BaSO_4$, en

una atmósfera de hidrógeno. Alternativamente, en una primera etapa, el ácido se reduce a un alcohol primario, por ejemplo usando LiAlH_4 , diborano, complejo de $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$. En una etapa posterior, el alcohol primario se oxida a aldehído, por ejemplo usando la mezcla de cloruro de oxalilo/dimetilsulfóxido (DMSO)/trietilamina, o peryodinano de Dess-Martin (DMPER).

5

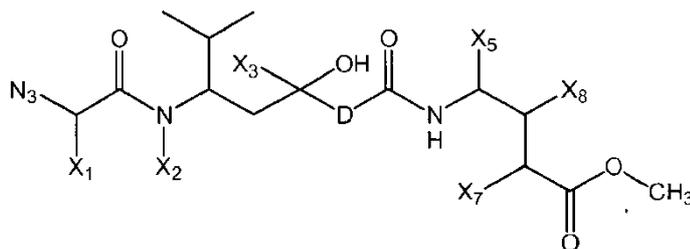


(DMPER)

Preferiblemente en la reducción directa de ácido a alcohol, el ácido se usa en la forma activada, por ejemplo como un éster, preferiblemente un éster metílico o etílico, o como un cloruro de ácido. Cuando X_4 se selecciona de OH o de OC(O)R_7 , el procedimiento para obtener los compuestos de fórmula (A) comprende las siguientes en sucesión:

10

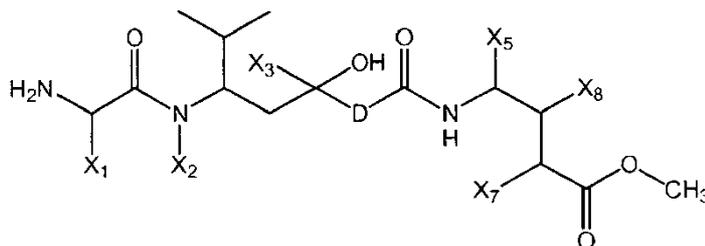
A-1') lo mismo que a-1), pero usando (B) en el que $X_4 = \text{OH}$, y obteniendo un compuesto de fórmula (E^I)



(E^I)

15

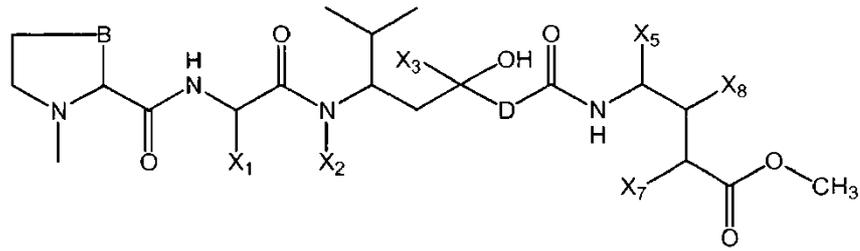
A-2') lo mismo que A-2), pero usando (E^I), para proporcionar el aminoéster de fórmula (E^{II})



(E^{II})

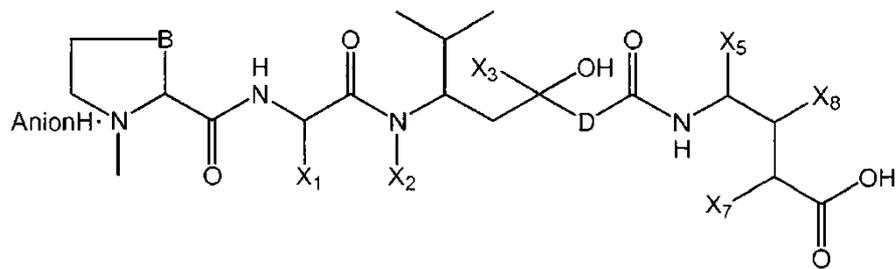
20

A-3') lo mismo que A-3), pero usando (E^{II}) para proporcionar el éster (F^I)



(F^I)

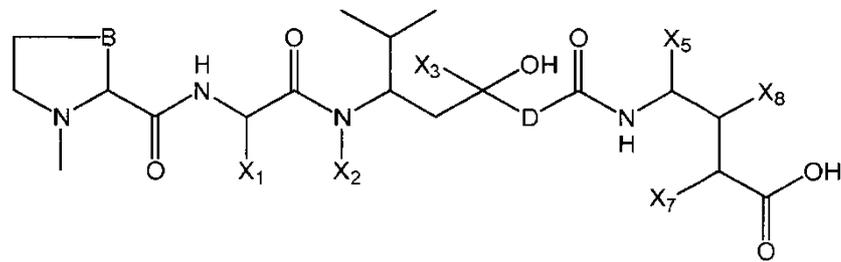
A-4') lo mismo que a-4), pero usando el compuesto (F^I) para obtener el compuesto (G')



(G')

5

A-5') lo mismo que A-5), pero usando el compuesto (G') para obtener el compuesto (G^A)



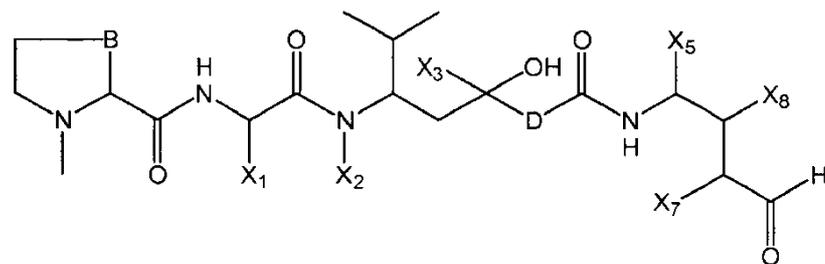
(G^A)

10

dicho ácido (G^A) corresponde a los compuestos de fórmula (A) en la que X₄ y X₆ tienen el significado de OH,

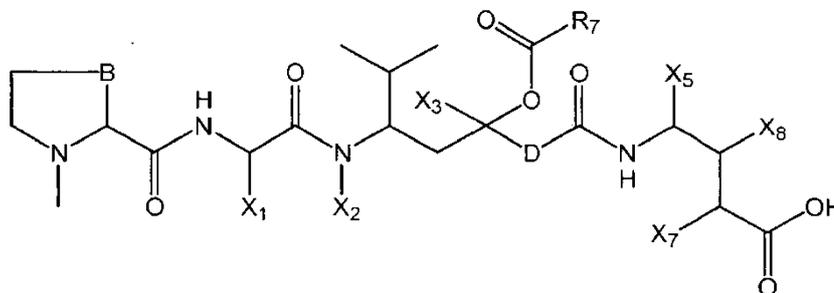
- etapa A-7') se repite la etapa A-8), pero usando (G^A) como el compuesto de partida para obtener (G''), que corresponde a los compuestos (A) en la que X₄ = OH y X₆ = H

15



(G'')

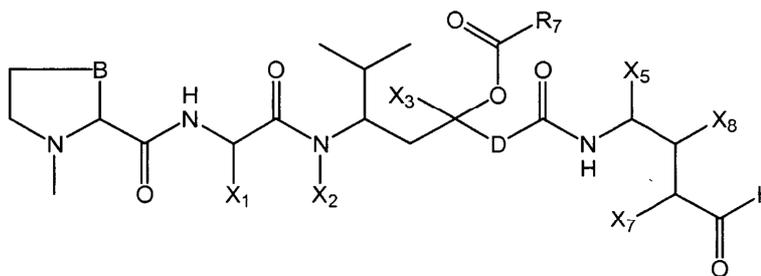
- etapa A-8') la acilación del hidroxilo del compuesto (G'), o del grupo hidroxilo correspondiente en el compuesto (G^A), con un ácido de fórmula R₇C(O)OH, obteniendo el compuesto (H), que corresponde a los compuestos de fórmula (A) en la que X₄ = OC(O)R₇ y X₆ es OH,



(H)

5

A-8'') se repite la etapa A-8'), pero usando como compuesto de partida (G''), para obtener el compuesto (H'') que corresponde a los compuestos de fórmula (A) en la que X₄ = OC(O)R₇ y X₆ es H,



(H'')

10

- repetición de la etapa A-6), pero usando el compuesto (H) o (H''), obteniendo los compuestos de fórmula (A) en la que X₆ tiene el significado como en la etapa A-6) y X₄= OC(O)R₇.

15

- Repetición de la etapa A-6), pero usando el compuesto (H) o (H''), y obteniendo los compuestos de fórmula (A) en la que X₆ es R₁₀ y X₄= OC(O)R₇.

En las etapas A-8') y A-8''), la acilación se lleva a cabo usando un derivado activo del ácido de fórmula R₇C(O)OH, seleccionado del grupo siguiente: cloruros de acilo, anhídridos, anhídridos mixtos, imidazolidas, aductos de éster-amida, ésteres alquílicos de C₁-C₄ lineales o ramificados cuando sea posible. La reacción se lleva a cabo generalmente en presencia de una base orgánica, seleccionada por ejemplo de aquellas usadas en la etapa A-1). Al final, el producto de reacción se extrae de la mezcla de reacción usando un disolvente orgánico inerte, que se elimina después a presión reducida, produciendo el compuesto de fórmula (H) y (H''), respectivamente. Preferiblemente, el derivado activo del ácido es el anhídrido correspondiente [R₇C(O)]₂O, y la base es piridina. Generalmente, el tiempo de reacción está en el intervalo de 8-24 horas. El producto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida.

El ácido de fórmula (B) usado en la etapa A-1) se prepara mediante un procedimiento de síntesis que comprende las siguientes etapas (véase el Esquema 1):

s1-a) la reacción de un ácido de fórmula (B0) con una amina de fórmula X₂-NH₂, obteniendo el compuesto (B01),

s1-b) la reacción del compuesto (B01) con la inona de fórmula (B2) para proporcionar el compuesto (B1).

Después, dependiendo de los diversos significados de X₄ en el compuesto de fórmula (A), se llevan a cabo las etapas descritas en la presente memoria en adelante:

- cuando X₄ junto con X₃ forma el grupo =O, se lleva a cabo la hidrólisis de la etapa s1-c) del grupo éster terminal de (B1),

40

- cuando $X_3 = H$ y X_4 tiene los significados de alquilo, alquenilo o NR_6R_7 , se llevan a cabo secuencialmente las siguientes etapas:

5 s1-d) la reacción del grupo cetona de (B1) con el precursor del grupo X_4 , y de este modo se obtiene (B4),

s1-d') la hidrólisis del grupo éster terminal de (B4), obteniendo el compuesto (B),

- cuando $X_3 = H$ y $X_4 = OH$, se llevan a cabo secuencialmente las siguientes etapas:

10 s1-e) reducción del grupo cetona de (B1), obteniendo el compuesto (B3),

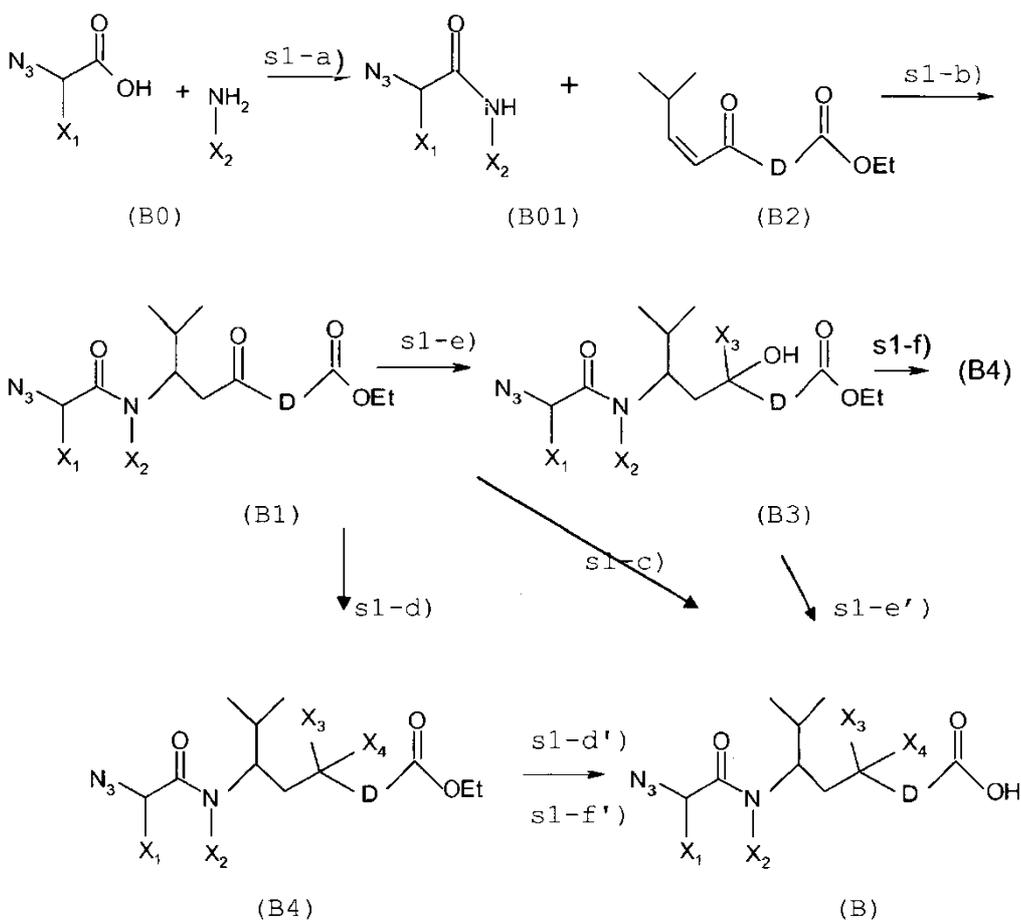
s1-e') la hidrólisis del grupo éster terminal de (B3), obteniendo el compuesto (B),

- cuando $X_3 = H$ y X_4 se selecciona de: halógeno, SH, $(OR_5)_n-OR_6$, se llevan a cabo secuencialmente las siguientes etapas:

15 s1-f) la reacción del hidroxilo de (B3) en la posición D con los precursores correspondientes de los grupos X_4 mencionados anteriormente, obteniendo el compuesto (B4),

20 s1-f') la hidrólisis del grupo éster terminal de (B4), obteniendo el compuesto (B).

ESQUEMA 1



25 En el Esquema 1:

cuando (B4) se obtiene a partir de (B1), $X_4 =$ alquilo, alquenilo, NR_6R_7 ;

30

cuando (B4) se obtiene a partir de (B3), X_4 = halógeno, SH, $(OR_5)_n-OR_6$;

cuando (B4) se obtiene a partir de (B1), X_3 junto con X_4 forma el grupo =O.

5 La etapa s1-a) se lleva a cabo preferiblemente haciendo reaccionar la amina con un derivado activo del ácido (B0) en un disolvente, inerte en las condiciones de reacción. Los compuestos que se pueden usar como derivados activos del ácido (B0) pertenecen al mismo grupo dado a conocer para los derivados activos del ácido $R_7C(O)OH$ en la etapa (A-8'). El ácido (b0) se puede preparar según procedimientos conocidos; véase, por ejemplo, J. Am. Chem. Soc., 128, 2006, 16018-16019. La reacción tiene lugar en presencia de una base orgánica. El producto de la
10 reacción se recupera de la mezcla de reacción, por ejemplo, añadiendo una disolución acuosa ácida de una sal inorgánica y extrayendo subsiguientemente con un disolvente orgánico, por ejemplo diclorometano. La base orgánica se puede seleccionar entre aquellas usadas en la etapa A-1), preferiblemente DIPEA. La disolución acuosa ácida añadida de una sal inorgánica es, por ejemplo, una disolución ácida de cloruro de amonio. El tiempo de reacción está generalmente en el intervalo de 20 minutos a cuatro horas. Las temperaturas de reacción están comprendidas preferiblemente entre 0°C y 10°C.

La etapa s1-b) se lleva a cabo disolviendo el compuesto (B01) en un disolvente inerte, y añadiendo entonces una base orgánica no nucleófila, por ejemplo LiHMDS (hexametildisilazuro de litio) o NaHMDS o KHMDS. Después, se añade una disolución que contiene la enona de fórmula (B2). La enona se puede sintetizar como se describe en
20 Angew. Chem. Int. Ed., 16, 2007, 3526-3529. Al final de la reacción, se añade una disolución acuosa ácida de una sal inorgánica, y el compuesto (B1) se recupera mediante extracción con un disolvente orgánico, por ejemplo tetrahidrofurano anhidro (THF). La base orgánica no nucleófila es preferiblemente KHMDS, y la sal inorgánica en la disolución acuosa ácida puede ser, por ejemplo, cloruro de amonio.

25 La reacción se lleva a cabo a temperaturas menores que 0°C, preferiblemente comprendidas entre -80°C y -20°C, aún más preferiblemente entre -80°C y -60°C. El tiempo de reacción oscila generalmente de 30 minutos a 5 horas. El producto de reacción se purifica mediante cromatografía en columna.

La etapa s1-c) se lleva a cabo dispersando el compuesto (B1) en una mezcla de agua con un disolvente orgánico, y añadiendo entonces una base inorgánica. El producto de la reacción se aísla añadiendo a la mezcla de reacción un disolvente orgánico, y recuperando entonces y acidificando la fase acuosa. El disolvente orgánico usado para la dispersión de partida de (B1) se selecciona por ejemplo de dioxano, metanol, THF, más preferiblemente es THF. La base inorgánica se selecciona de Na(OH), K(OH), Li(OH), más preferiblemente Li(OH). El disolvente orgánico añadido al final de la reacción es por ejemplo acetato de etilo, y el ácido usado para acidificar la fase acuosa puede
35 ser por ejemplo ácido clorhídrico. El pH final es menor que 3, preferiblemente igual o menor que 2. La etapa s1-d) se lleva a cabo haciendo reaccionar el compuesto (B1) con los iluros de fósforo de fórmula $Ph_3P=C(R_{50})H$ o $Ph_3P=C(R_{50})R_{51}$, en la que Ph es fenilo y R_{50} y R_{51} , iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de H, alquilo de C_1-C_{19} , alqueno de C_1-C_{19} . Después, se lleva a cabo una reducción selectiva del doble enlace formado, por ejemplo usando hidrógeno en presencia de Pd/C.

40 La etapa s1-d') se lleva a cabo como se describe en s1-c).

La etapa S1-e) se lleva a cabo añadiendo en primer lugar a una disolución del catalizador en un disolvente inerte un agente reductor, compuesto (B1) obtenido en S1-b), y después un disolvente prótico orgánico. Se obtiene el compuesto de fórmula (B3). El catalizador es preferiblemente un catalizador quiral, más preferiblemente es (S)-CBS, en el que CBS es el agente reaccionante derivado quiral CBS de borohidruro desarrollado por Corey, Bakshi y Shibita (J. Am. Chem. Soc., 109, 1987, 5551-5553; J. Am. Chem. Soc., 109, 1987, 7925-7926). El disolvente inerte es por ejemplo THF, el agente reductor es preferiblemente borano complejo con sulfuro de dimetilo. El disolvente prótico orgánico es por ejemplo metanol. El producto de reacción se purifica preferiblemente mediante cromatografía en columna. La reacción se lleva a cabo a temperaturas comprendidas entre -10°C y 40°C, preferiblemente entre
50 0°C y 25°C. El tiempo de reacción está generalmente en el intervalo de 4 a 16 horas.

La etapa s1-e') se lleva a cabo como se describe en s1-c).

55 La etapa s1-f) se lleva a cabo con diferentes reacciones, dependiendo del significado de X_4 del compuesto (B), como se indica en la presente memoria en adelante:

Cuando X_4 es bromo o cloro, el compuesto (B3) se hace reaccionar con trifenilfosfina y con tetrabromuro de carbono o tetracloruro de carbono, respectivamente.

60 Cuando X_4 es flúor, el compuesto (B3) se hace reaccionar con trifluoruro de bis(2-metoxietil)aminoazufre (reactivo de desoxo-flúor) a temperaturas en el intervalo de -80°C - -20°C, preferiblemente a temperaturas a -80°C - -60°C, lo más preferible -80°C - -70°C. Cuando X_4 es yodo, el compuesto (B3) se hace reaccionar con aminoazodicarboxilato de dietilo (DEAD), trifenilfosfina y yoduro de metilo.

65

Cuando X_4 es el grupo $(OR_5)_nOR_6$ y $n = 0$, el compuesto (B3) se hace reaccionar con R_6Br y un hidruro metálico, preferiblemente NaH; cuando n es diferente de cero, el compuesto (B3) se hace reaccionar con $BrR_5(OR_5)_{n-1}OR_6$.

5 Cuando X_4 es SH, el compuesto (B3) se hace reaccionar con DEAD, trifenilfosfina y $CH_3C(O)SH$.

La etapa s1-f) se lleva a cabo como se describe en s1-c).

10 La síntesis del compuesto (D) usado en la etapa A-1) se lleva a cabo con diferentes procedimientos, dependiendo de los significados de X_8 en la fórmula (A).

Cuando $X_8 = H$, el procedimiento comprende las siguientes etapas (véase el Esquema 2):

15 preparación del compuesto (D1),

preparación del compuesto de fórmula (D2), cuando $X_7 = H$ en la fórmula (A); cuando X_7 en la fórmula (A) es diferente de H, se prepara el compuesto (D3),

20 preparación del compuesto de fórmula (D5),

síntesis de (D6) mediante reacción respectivamente de (D2) o de (D3) con (D5),

conversión de (D6) en (D7),

25 reacción de (D7) para producir (D).

Cuando X_8 es diferente de H, y se selecciona de halógeno, OH, SH, alquilo, alqueno, OCH_3 , el compuesto (D) se prepara partiendo del compuesto (D5) mediante el procedimiento descrito más tarde (Esquema 3).

30 Más particularmente, se describe el Esquema 2. El procedimiento comprende, en secuencia, las siguientes etapas:

s2-a) la reacción de un alcohol de fórmula $X_{15}-OH$, en la que X_{15} se selecciona de alquilo o cicloalquilo, con bromuro de bromoacetilo, produciendo el compuesto (D1).

35 Dependiendo de X_7 en el compuesto de fórmula (A), tienen lugar las siguientes etapas.

- cuando $X_7 = H$, se llevan a cabo secuencialmente las siguientes etapas:

40 s2-b) la reacción de (D1) con trifenilfosfina, que produce el compuesto (D2),

s2-c) la oxidación de un aminoalcohol de fórmula (D4), en la que el grupo amina tiene un grupo protector X_{17} , a aminoaldehído (D5),

45 s2-d) la reacción del compuesto (D2) con (D5), produciendo el aminoéster insaturado (D6),

s2-e) la reducción del doble enlace $C=C$ del compuesto ($D6=$), produciendo el compuesto (D7),

50 s2-f) la eliminación del grupo protector X_{17} del grupo amina de (D7) usando un ácido fuerte y la reacción de metilación subsiguiente del grupo carboxílico, produciendo el compuesto (D) en el que $X_8 = H$.

- Cuando en (D) X_7 se selecciona de alquilo o alqueno, se obtiene un compuesto (D) al llevar a cabo la reacción de la etapa s2-b) de (D1) con trifenilfosfina para proporcionar (D2), seguido entonces, por orden, de las siguientes etapas:

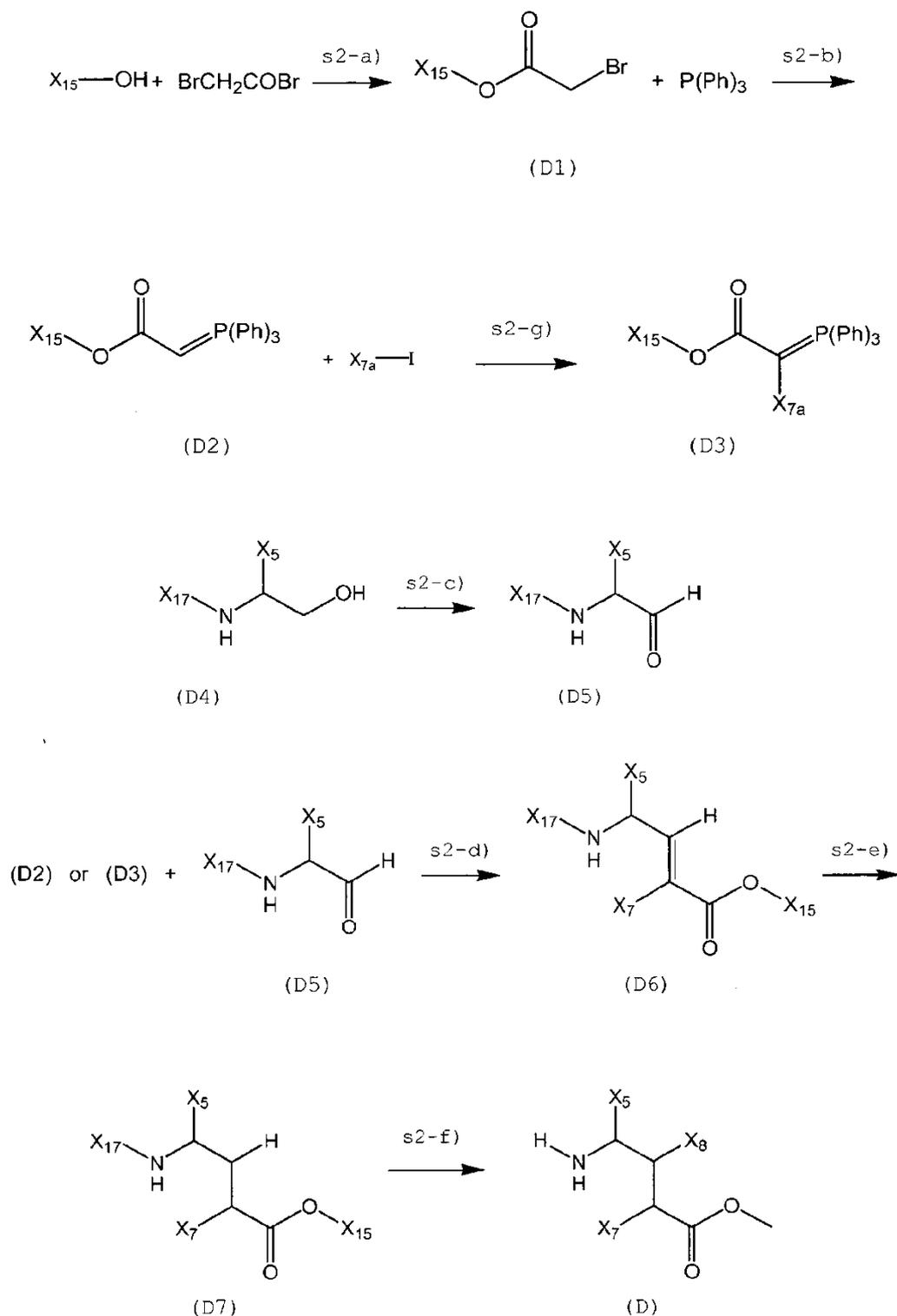
55 etapa s2-g) la reacción de (D2) con un yoduro alifático de fórmula $X_{7a}-I$, en la que X_{7a} es alquilo o alqueno, produciendo el compuesto (D3),

60 etapa s2-c) la oxidación de un aminoalcohol (D4) a aminoaldehído (D5),

etapa s2-d), en la que (D5) se hace reaccionar con compuesto (D3) para proporcionar (D6),

entonces las etapas s2-e) y s2-f) para obtener el compuesto (D).

ESQUEMA 2



5

Con mayor detalle, la etapa s2-a) se lleva a cabo añadiendo una base amínica y después bromuro de bromoacetilo a una disolución en un disolvente inerte de un alcohol de fórmula $X_{15}-OH$. El compuesto (D1) se aísla de la mezcla de reacción acidificando con una disolución acuosa de un ácido inorgánico fuerte y extrayendo entonces la fase orgánica con un disolvente orgánico, recuperando las fases orgánicas y lavando con una disolución acuosa salina saturada y después deshidratando. El disolvente se elimina entonces produciendo el compuesto (D1). La base

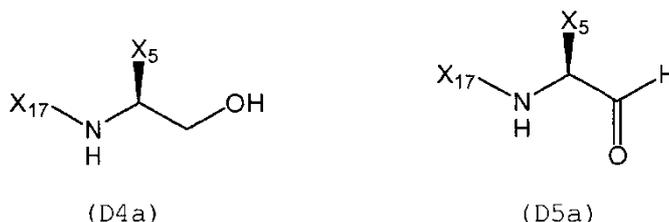
10

amínica usada en la reacción se puede seleccionar de aquellas usadas en la etapa (A-1), preferiblemente se usa trietilamina. El alcohol de fórmula X_{15} -OH es por ejemplo (-)-mentol. Como disolvente inerte adecuado, se puede usar THF. Como disolución acuosa de un ácido inorgánico a añadir al final de la reacción, se puede usar una disolución de HCl diluida. La mezcla de reacción se puede extraer por ejemplo con acetato de etilo. La fase orgánica extraída se lava con una disolución acuosa saturada de NaCl. El producto bruto obtenido tras la eliminación del disolvente se purifica mediante cromatografía ultrarrápida. La temperatura de la reacción oscila desde -10°C hasta 40°C , preferiblemente desde 0°C hasta 30°C . El tiempo de reacción oscila generalmente desde una a cinco horas.

En la etapa s2-b), (D1) se hace reaccionar con trifetilfosfina (PPh_3) en un disolvente orgánico inerte, que se elimina al final de la reacción. El sólido obtenido se disuelve en un disolvente orgánico, al que entonces se añade una disolución acuosa de una base inorgánica fuerte. Al final de la reacción, se recupera la fase orgánica. Después de la deshidratación y evaporación del disolvente, se obtiene el compuesto (D2). Un disolvente orgánico inerte adecuado es por ejemplo THF. La reacción se lleva a cabo a la temperatura de reflujo del disolvente durante un tiempo comprendido generalmente entre una y cinco horas. Un disolvente adecuado para disolver el residuo sólido es por ejemplo tolueno. Como base inorgánica fuerte, se puede usar por ejemplo $\text{Na}(\text{OH})$. El compuesto se hace reaccionar en presencia de la base durante un tiempo generalmente comprendido entre 30 minutos y 3 horas. La temperatura de la reacción está en el intervalo 15°C - 35°C .

En la etapa s2-c), el grupo protector X_{17} de (D4) se selecciona de aquellos estables en condiciones reductoras. La reacción se lleva a cabo partiendo del compuesto de aminoalcohol (D4), que se oxida a aldehído (D5) en un disolvente orgánico inerte, usando un agente oxidante que no afecte a la estabilidad del aldehído. Por ejemplo, se selecciona un agente oxidante adecuado a partir de la mezcla de cloruro de oxalilo/dimetilsulfóxido (DMSO)/trietilamina, peryodinano de Dess-Martin (DMPER).

Al final de la reacción, se añade una disolución acuosa salina a la mezcla de reacción, que se extrae con un disolvente orgánico inerte. La fase orgánica obtenida se deshidrata, y el disolvente se elimina subsiguientemente obteniendo el aldehído (D5). En la etapa s2-c), preferiblemente el compuesto reaccionante (D4) se usa en la forma isómera correspondiente (D4a), para obtener el compuesto isómero (D5a) de (D5):



Los compuestos (D4) y (D4a) están disponibles en el mercado, o se pueden sintetizar según métodos bien conocidos para el experto en la materia. Véase, por ejemplo, el método sintético dado a conocer en los ejemplos.

Preferiblemente, X_{17} es BOC (derivado de terc-butiloxicarbonilo). Preferiblemente, el agente oxidante es peryodinano de Dess-Martin (DMPER).

Un disolvente adecuado de la reacción es el diclorometano. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente. Se añade NaHCO_3 a la mezcla de reacción. El tiempo de reacción oscila generalmente de 1 a 5 horas. La disolución acuosa salina añadida al final de la reacción puede ser por ejemplo una disolución saturada de $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Un disolvente adecuado para la extracción final es diclorometano.

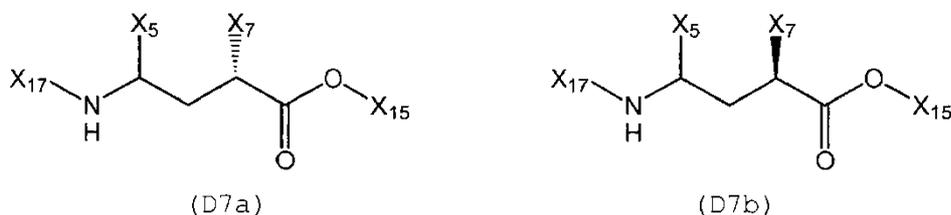
En la etapa s2-d), (D3) o (D2) se hace reaccionar con el compuesto (D5) en un disolvente orgánico inerte. Al final de la reacción se añade una disolución acuosa salina, se recupera la fase orgánica, se lava con una disolución acuosa salina, se deshidrata y se evapora para proporcionar compuesto (D6).

Un disolvente orgánico adecuado para la reacción es por ejemplo diclorometano. La temperatura de la reacción oscila generalmente de 0°C a 40°C . El tiempo de reacción oscila generalmente de 1 a 5 horas. Al final de la reacción, se añade preferiblemente una disolución acuosa de NaHSO_4 . Un disolvente adecuado para la extracción final es por ejemplo diclorometano. El producto de la reacción se purifica mediante cromatografía ultrarrápida.

En la etapa s2-e), el compuesto (D6) se solubiliza en un disolvente orgánico inerte, y el doble enlace $\text{C}=\text{C}$ se reduce con un agente reductor. Al final, la mezcla de reacción se filtra, la fase orgánica se recupera, y el disolvente se evapora obteniendo el compuesto de fórmula (D7). Un disolvente orgánico inerte adecuado es preferiblemente acetato de etilo. La reacción de reducción se lleva a cabo preferiblemente usando Pd/C en una atmósfera de hidrógeno. El tiempo de reacción está comprendido generalmente entre una y cinco horas.

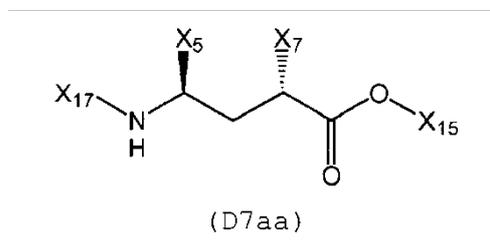
El compuesto (D7) que se obtiene en esta etapa es una mezcla de diastereoisómeros. Preferiblemente, de la mezcla de estereoisómeros (D7), se separan mediante cromatografía ultrarrápida los diastereoisómeros (D7a) y (D7b). Preferiblemente, para las etapas subsiguientes del procedimiento, se usa (D7a). La cromatografía ultrarrápida se lleva a cabo, por ejemplo, usando una mezcla de n-hexano/acetato de etilo, por ejemplo en una relación 4:1 v/v.

5



Más preferiblemente, mediante cromatografía ultrarrápida, (D7aa) se aísla del isómero (D7a), cuando en s2-c) se usa la forma isómera (D4a)

10



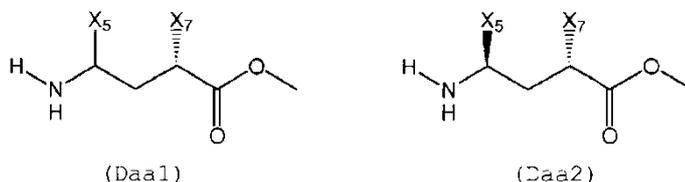
Más preferiblemente para las etapas subsiguientes del procedimiento para obtener el compuesto (D), se usa (D7aa).

15 En la etapa s2-f) el grupo protector X_{17} se elimina suspendiendo el compuesto (D7), o los isómeros correspondientes, en una disolución acuosa de un ácido fuerte. El ácido también se puede usar concentrado. Al final de la reacción, se añade un disolvente orgánico, por ejemplo acetato de etilo, la fase acuosa se recupera y se concentra a presión reducida. El residuo se solubiliza en un disolvente orgánico y se somete a una reacción de metilación. Al final de la reacción, el disolvente se elimina a presión reducida, produciendo el compuesto de fórmula (D) en la que $X_8 = H$.

20

Un ácido adecuado es, por ejemplo, HCl, por ejemplo HCl 6N. Un disolvente orgánico adecuado es por ejemplo acetato de etilo. La reacción se lleva a cabo a la temperatura de reflujo del disolvente. El tiempo de reacción puede oscilar de 1 a 14 horas. Un disolvente adecuado para solubilizar el residuo, después de la eliminación del grupo protector, es por ejemplo metanol. La metilación se puede llevar a cabo, por ejemplo, con 2,2-dimetoxipropano y HCl concentrado (37% p/p). La reacción se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 40°C y 70°C. El tiempo de la reacción de metilación está comprendido generalmente entre 8 y 20 horas. En la etapa s2-f), preferiblemente se obtienen los isómeros (Daa1) mediante cromatografía ultrarrápida de la mezcla de reacción, en particular se aísla preferiblemente el isómero (Daa2).

25



30 Opcionalmente, al final de la etapa s2-f), el compuesto (D) o los isómeros correspondientes se obtienen en forma salificada con AnionH.

35 En la etapa s2-g), (D2) se disuelve en un disolvente orgánico inerte, por ejemplo diclorometano, y se hace reaccionar con un yoduro alifático de fórmula $X_{7a}-I$. La temperatura de la reacción está comprendida entre -10°C y 40°C. Generalmente, el tiempo de reacción está en el intervalo 10-20 horas. Al final, el disolvente se evapora, el residuo se solubiliza en un disolvente orgánico inerte, por ejemplo tolueno, y se trata con una disolución acuosa de una base inorgánica fuerte, por ejemplo NaOH. La fase orgánica se separa entonces, se deshidrata, y se evapora produciendo el compuesto (D3).

40

Quando X_8 es diferente de H y tiene los significados indicados en (A), la síntesis del compuesto (D) se lleva a cabo llevando a cabo la etapa s2-c) para obtener el compuesto (D5), y el compuesto (D) se obtiene entonces llevando a cabo las siguientes etapas, dependiendo del significado de X_8 ; véase el Esquema 3.

Cuando $X_8 = OH$, se llevan a cabo las siguientes etapas:

5 s2'-b) la reacción del compuesto (D5) con un compuesto de fórmula (DX), produciendo el compuesto (D1'). En el compuesto (DX), X_7 es como se define en la fórmula (A), y X_{19} es un alqueno opcionalmente sustituido con un alquilo lineal o ramificado,

s2'-c) el compuesto (D1') se desacetila, produciendo el aminoácido de fórmula (D2'),

10 s2'-d) el grupo protector X_{17} y la metilación subsiguiente del grupo hidroxilo se llevan a cabo para producir el compuesto (D).

Cuando X_8 tiene el significado de halógeno, SH, OCH_3 , se lleva a cabo la etapa s2'-b) y, secuencialmente, las siguientes etapas:

15 s2'-e) la reacción del grupo hidroxilo del compuesto (D1') con el precursor correspondiente de los grupos halógeno, SH, OCH_3 , obteniendo los compuestos (D1'a),

se repiten las etapas s2'-c) y s2'-d), pero usando (D1'a).

20 Cuando X_8 tiene el significado de alquilo, alqueno, después de la etapa s2'-b) se llevan a cabo secuencialmente las siguientes etapas:

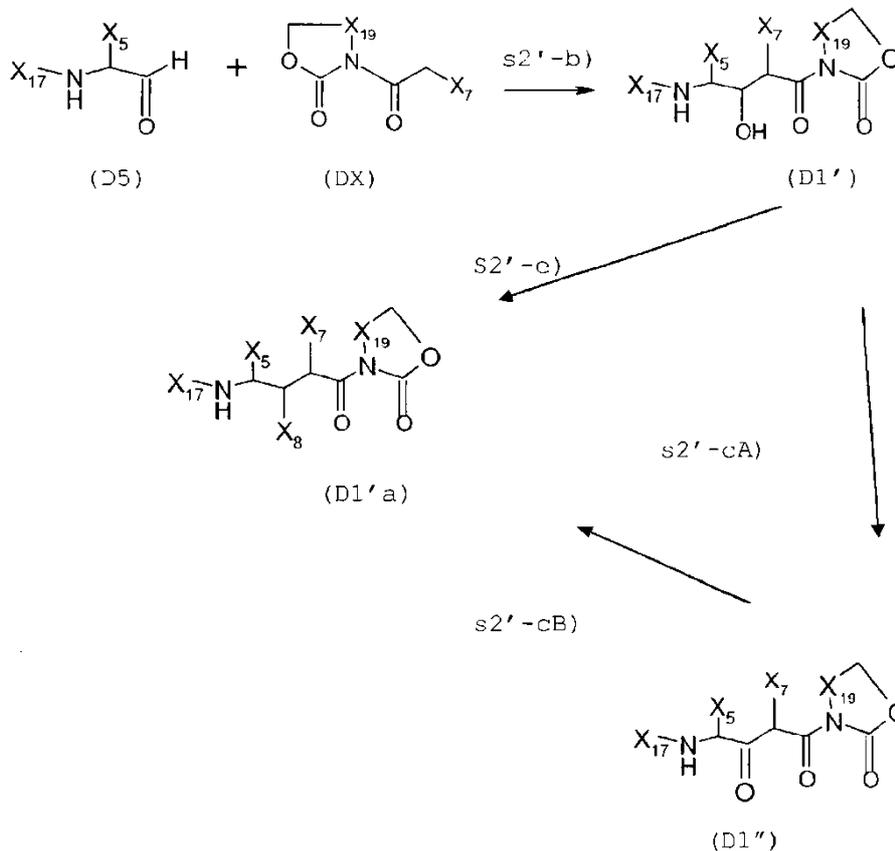
25 s2'-cA) la oxidación del grupo hidroxilo del compuesto (D1') a un grupo ceto, obteniendo el compuesto (D1''), después

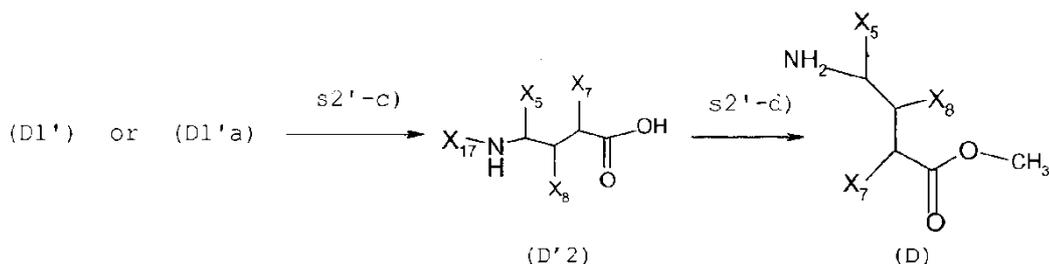
s2'-cB) obteniendo (D1'a),

después se procede como se indica anteriormente.

30

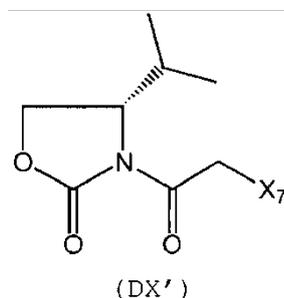
ESQUEMA 3





5 Cuando (D1'a) se obtiene a partir de (D1'), X₈ = halógeno, SH y OCH₃;

cuando (D1'a) se obtiene de (D1''), X₈ = alquilo, alquenoilo. En la etapa s2'-b), un disolvente orgánico adecuado que se puede usar es por ejemplo THF anhidro, preferiblemente en presencia de diisopropilamido de litio (LDA). La reacción se lleva a cabo a temperaturas en el intervalo -80°C - -20°C, más preferiblemente entre -80°C - -60°C, más preferiblemente -80°C - -70°C. Preferiblemente, el compuesto de fórmula (DX) tiene la siguiente fórmula (DX'):



15 En la etapa s2'-e), la sustitución del grupo hidroxilo por, respectivamente, halógeno, SH u OCH₃, se lleva a cabo usando las mismas condiciones de reacción descritas en la etapa s1-f).

En la etapa s2'-cA), los agentes oxidantes adecuados son, por ejemplo, una mezcla de cloruro de oxalilo/DMSO/trietilamina, o una mezcla de clorocromato de piridinio en H₂SO₄/CrO₃.

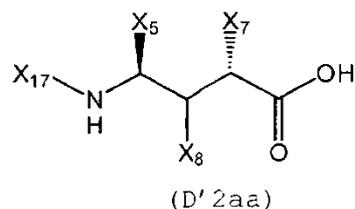
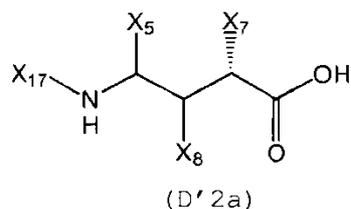
20 En la etapa s2'-cB), el grupo ceto del compuesto (D1'') se convierte en alquilo o alquenoilo usando las reacciones descritas en la etapa s1-d).

En la etapa s2'-c), la desacetilación se puede llevar a cabo usando, por ejemplo, una mezcla de THF y agua. La reacción se lleva a cabo preferiblemente usando una base fuerte, por ejemplo Li(OH), opcionalmente en presencia de peróxido de hidrógeno.

25 La etapa s2'-d) se lleva a cabo sometiendo a una hidrólisis ácida el grupo X₁₇-NH- del compuesto (D'2), por ejemplo usando una disolución concentrada acuosa de HCl o usando CF₃COOH en diclorometano, seguido de la metilación del grupo -C(O)OH mediante un agente metilante, por ejemplo 2,2-dimetoxipropano en metanol y HCl concentrado.

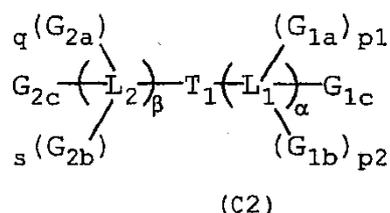
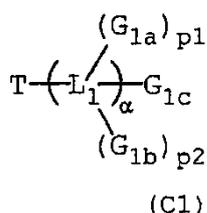
30 El compuesto (D) se puede obtener a partir del compuesto (D1') o (D1'a) mediante tratamiento con una disolución acuosa de ácido fuerte concentrada, por ejemplo usando como ácido HCl, a la temperatura de reflujo, y la metilación subsiguiente del grupo carboxílico mediante un agente metilante, por ejemplo 2,2-dimetoxipropano en metanol y HCl concentrado.

35 Preferiblemente, en la síntesis del compuesto (D), cuando X₈ es diferente de H, para obtener el compuesto (D5) se usa la forma isómera (D4a) del compuesto (D4) (etapa s2-c) del Esquema 2). En la etapa s2'-c), el isómero (D'2a) de (D'2) se obtiene preferiblemente mediante cromatografía ultrarrápida; más preferiblemente, el isómero adicional (D'2aa) de (D'2) se obtiene mediante cromatografía ultrarrápida (véanse los ejemplos). Estos isómeros se hacen reaccionar preferiblemente en la etapa s2'-d) para obtener el compuesto (D).



Como se ha mencionado, el procedimiento de la presente invención permite obtener sorprendente e inesperadamente los compuestos de fórmula (A) con rendimientos elevados.

Es un objeto adicional de la presente invención compuestos conjugados que comprenden los compuestos de fórmula (A) y polímeros y/o biomoléculas farmacéuticamente aceptables, que tienen las siguientes fórmulas:



en las que:

los índices p1, p2, q y s, iguales o diferentes entre sí, son números enteros iguales a 0 ó 1,

T es un radical monovalente de los compuestos de fórmula (A),

T₁ es un radical bivalente de los compuestos de fórmula (A),

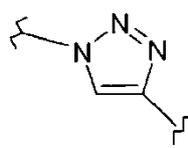
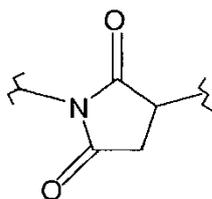
G_{1a}, G_{1b}, G_{1c}, G_{2a}, G_{2b}, G_{2c}, iguales o diferentes entre sí, son polímeros o biomoléculas farmacéuticamente aceptables,

L₁ y L₂, iguales o diferentes entre sí, son ligadores que unen el radical T, o el radical T₁ del compuesto de fórmula (A), a G_{1a}, G_{1b}, G_{1c}, G_{2a}, G_{2b}, G_{2c}, respectivamente.

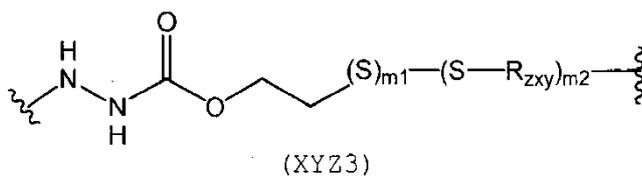
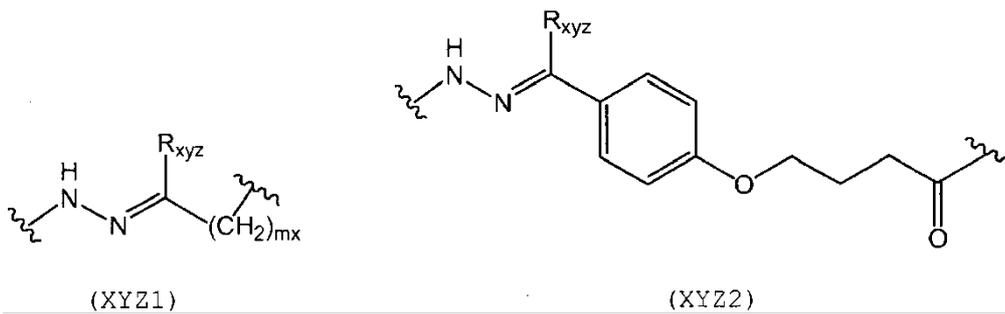
α y β son números enteros iguales a cero o 1, con la condición de que cuando α = β = 0, p1, p2, q y s son iguales a cero; cuando α y/o β = 1, la parte de L₁ y/o L₂ unida a los grupos Gi (i = 1a, 1s, 1b, 2a, 2b, 2c) puede ser monovalente, bivalente o trivalente, dependiendo de los valores de p1, p2, s y q.

Los ligadores que se pueden usar según la presente invención son aquellos estables en fluidos biológicos tales como plasma sanguíneo, y que sean farmacéuticamente aceptables. Preferiblemente, dichos ligadores son escindibles metabólicamente.

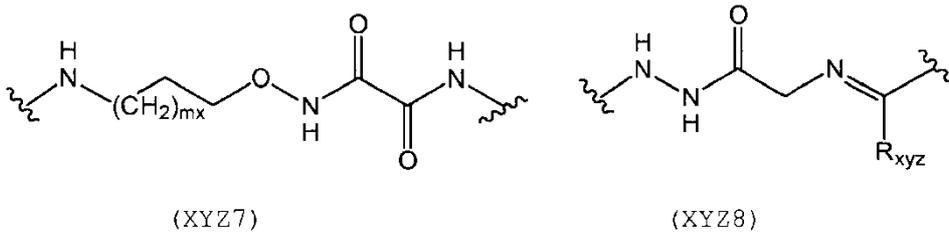
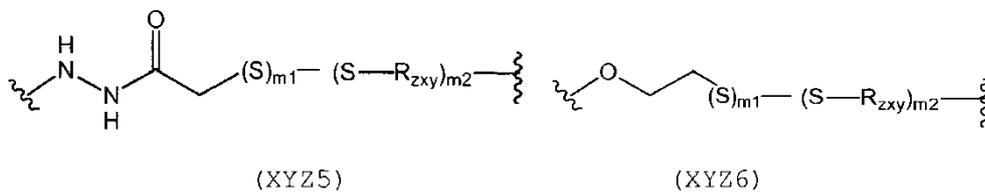
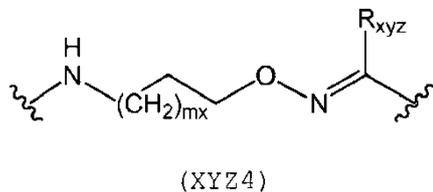
Como ligadores preferidos L₁, L₂, iguales o diferentes entre sí, se pueden mencionar los siguientes: alquileno, alquenileno, alquinileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, cicloalquileno, alquilocicloalquileno, heteroalquilocicloalquileno, heterocicloalquileno, alquilenoarilo, arilalquileno, alquilenoarilalquileno, heteroarilalquileno, alquilenoheteroarilo como se definen anteriormente, que contienen opcionalmente enlaces S-S y/o enlaces N-N, y/o los ligadores bivalentes de fórmula (DXI) y/o (DXII) (fórmulas dadas a conocer aquí más abajo), cadenas peptídicas, que contienen opcionalmente enlaces S-S y/o enlaces N-N, y/o los ligadores bivalentes de fórmula (DXI) y/o (DXII).



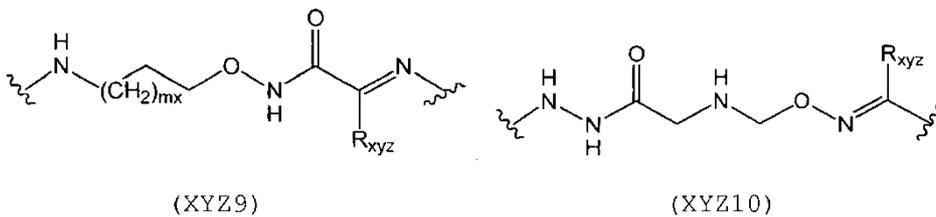
Los ejemplos de ligadores preferidos son aquellos dados a conocer en la presente memoria en adelante (fórmulas de (XYZ1) a (XYZ22)):

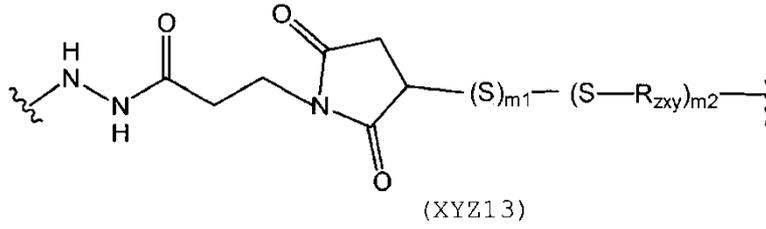
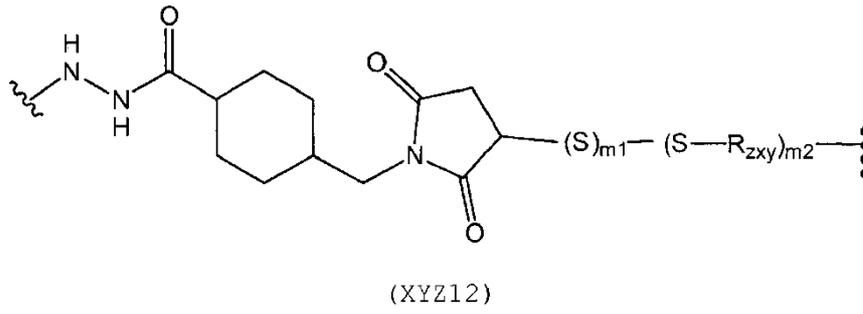
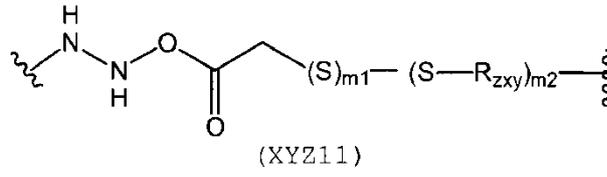


5

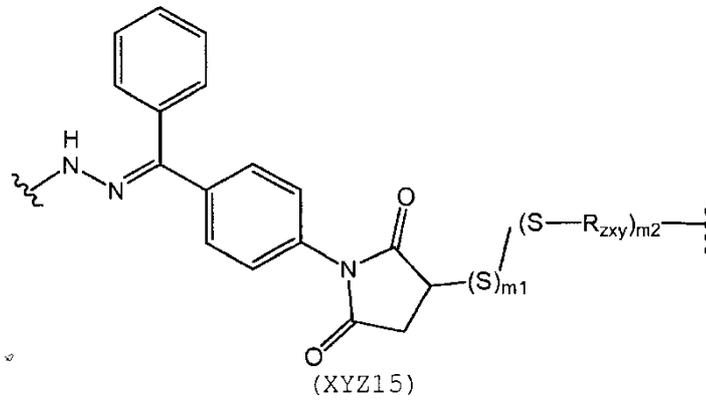
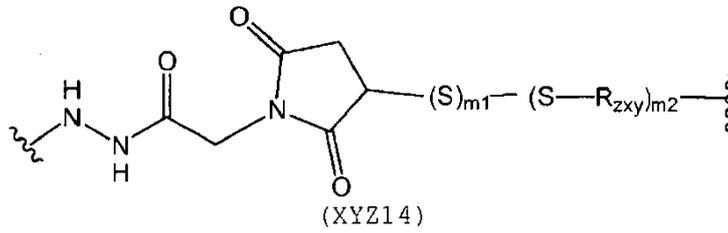


10

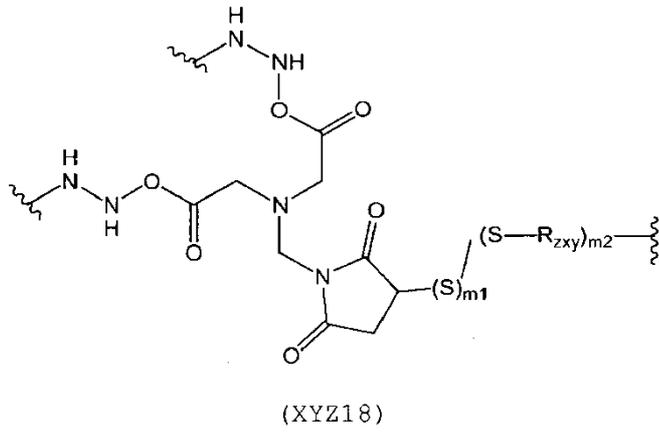
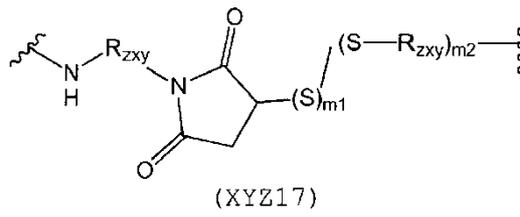
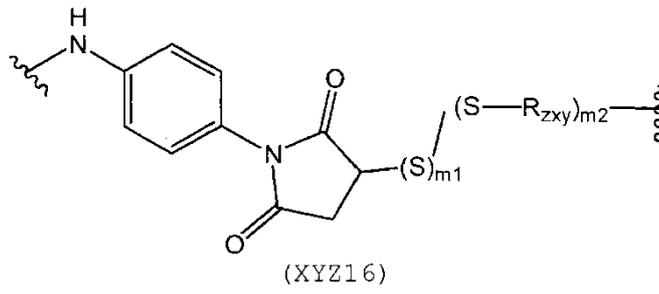




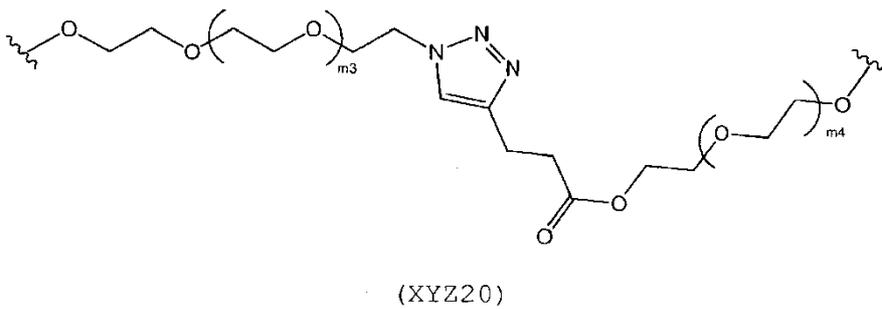
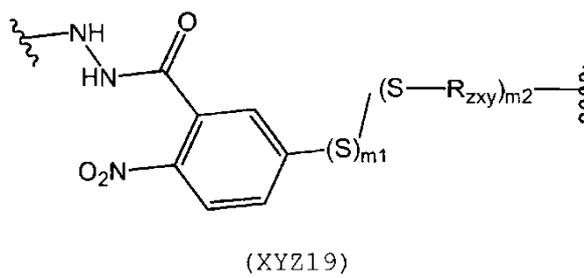
5



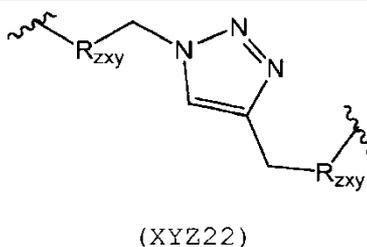
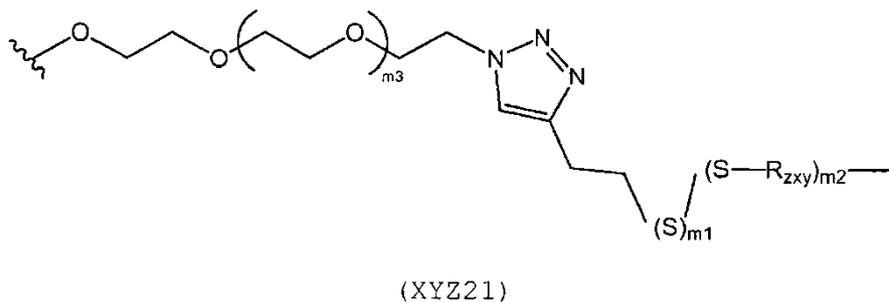
10



5



10



5 en las que:

la valencia libre presente en el extremo, preferiblemente en el lado derecho de la fórmula del ligador, está enlazada a G_{1a} , G_{1b} , G_{1c} , G_{2a} , G_{2b} , G_{2c} ,

10 m_x es un número entero de 0 a 20, preferiblemente entre 0 y 6,

m_1 y m_2 , iguales o diferentes entre sí, son cero o 1,

15 m_3 y m_4 , iguales o diferentes entre sí, son un número entero de 0 a 200, preferiblemente de 0 a 50, más preferiblemente de 0 a 10,

R_{xyz} se selecciona de H o alquilo, en el que alquilo es preferiblemente un alquilo de C_1 - C_5 lineal o, cuando sea posible, ramificado,

20 R_{zxy} se selecciona de alquileno, alquenileno, alquinileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, cicloalquileno, alquilcicloalquileno, heteroalquilcicloalquileno, heterocicloalquileno, arilalquileno o heteroarilalquileno.

25 Los polímeros y las biomoléculas farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en los compuestos conjugados de la invención se seleccionan preferiblemente de los siguientes:

30 proteínas, como albúmina, glicoproteínas, lipoproteínas, factor de crecimiento epidérmico (EGF), lectina, transferrina, opcionalmente pegiladas mediante funcionalización con compuestos que tienen cadenas de polietilenglicol (PEG),

hormonas

35 aptámeros, como por ejemplo los dados a conocer en Expert Opin. Drug Deliv. 2009, 6(3) 285-304, por ejemplo: MUC-1, aptámero PSMA (A9, A10), A30, AS-1411, aptámero CTLA-4, Clon 5, TTA1, aptámero PDGF-r, III.1, PEGAPTANIB,

40 polisacáridos, como por ejemplo quitosano, dextrano, amida y derivados como por ejemplo hidroxietilalmidón (HES), anticuerpos o sus fragmentos, tales como los dados a conocer en Expert Opin. Drug Deliv. 2009, 6(3) 285-304; News Physiol. Sci., 2001, 16, 191-194; British Journal of Cancer, 2007, 96, 1862-1870; preferiblemente los anticuerpos son capaces de enlazarse a marcadores angiogénicos, como por ejemplo los que pueden enlazarse selectivamente a marcadores de la neovasculatura, tales como aquellos que se unen a integrinas, con referencia particular a integrinas $\alpha v \beta 3$ y $\alpha v \beta 5$,

endoglina,

45 factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF),

receptores de VEGF,

antígenos expresados en el cáncer de próstata (PSMA: antígeno de membrana específico de la próstata; véase, por ejemplo, S.A: Kularatne et al. Molecular Pharmaceutics vol. 6, n. 3, 780-789, 2009),

receptor de CD44 de la adhesión celular,

extradominio B (ED-B) de fibronectina (FN),

tenascina C,

más preferiblemente, anticuerpos selectivos para el dominio ED-B de fibronectina conocido como L19, tal como L19-SIP, anticuerpos monoclonales tales como Trastuzumab (Herceptin®), Rituximab (Rituxan®), Alemtuzumab (Campath®), Gemtuzumab ozogamicin (Milotarg®), Ibritumomab tiuxetan (Zevalin®), Tositumomab (Bexxar®), Gefitinib (Iressa®), Cetuximab (Erbix®), Bevacizumab (Avastin®), Panitumumab (vectibix®).

Las cadenas peptídicas o péptidos, tales como los descritos en el artículo dado a conocer anteriormente de Expert Opinion Drug Delivery of 2009 y aquellos descritos en la solicitud de patente WO 2006/067.633, también se pueden usar como G_i, en el que i es 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c. Por ejemplo, péptidos de VEGF, péptidos intestinales vasoactivos (VIP: péptido intestinal vasoactivo), péptidos de somatostatina, péptidos que comprenden productos de desaminación de péptidos que comprenden una secuencia de asparagina-glicina-arginina (NGR) (motivo NGR), o una secuencia DGR (motivo DGR), que comprende _DAsp (_DD) y/o _LisoAsp (_LisoD) o una mezcla de las mismas y que pueden comprender además _LAsp (_LD) y _DisoAsp (_DisoD). Los términos isoAsp y Asp son ácido isoaspártico y ácido aspártico, respectivamente. Entre los péptidos de desaminación, se pueden mencionar, por ejemplo, los productos de desaminación de proteínas de la matriz extracelular, tal como fibronectina, vitronectina, colágeno o laminina. Dichos péptidos se modifican opcionalmente con grupos terminales GVR_Y. Preferiblemente, los productos de desaminación opcionalmente modificados comprenden las siguientes secuencias (Seq):

X_ANGRX_B, en la que X_A es un grupo que comprende uno o más de los siguientes aminoácidos: L, V, A, C, G, Y, P, H, K, Q, I y X_B es un grupo que comprende uno o más de los siguientes aminoácidos: C, G, H, L, E, T, Q, R, S, P, V, Y,

CNGRCVSGCAGRC, NGRAHA, GNGRG, CVLNGRMEC, CNGRC, CNGRCG, LNGRE, YNGRT,

LQCICTGNGRGEWKCE, LQCICTGNGRGEWKCE, CICTGNGRGEWKC, CISTGNGRGEWKC, MRCTCVGNGRGEWTCI, MRCTSVGNGRGEWTCI, CTCVGNGRGEWTC, CTSVGNGRGEWTC,

CNGRCGVR_Y

cicloCVLNGRMEC, CNGRC lineal, cicloCNGRC, CNGRCG lineal, cicloCNGRCG,

las secuencias (Seq) mencionadas anteriormente, en las que NGR está sustituida por DGR,

las secuencias (Seq) mencionadas anteriormente, en las que NGR está sustituida por isoDGR,

las secuencias (Seq) mencionadas anteriormente, en las que NGR está sustituida por _LisoDGR,

las secuencias (Seq) mencionadas anteriormente, en las que NGR está sustituida por _DDGR.

Como biomoléculas farmacéuticamente aceptables en los compuestos conjugados de fórmula (c1) y (c2), también se pueden usar las siguientes:

vitaminas, tales como biotina, folato, vitamina B12, tiamina, avidina, estreptavidina,

polietilenglicoles (PEG), preferiblemente con pesos moleculares promedio de 200 a 100.000 Da, más preferiblemente de 10.000 y 50.000,

polímeros naturales,

dendrimeros, tales como los descritos por Woo-Dong Jang et al. en Progress in Polymer Science 34, 2009, 1-23,

nanotubos de carbono,

ciclodextrinas, por ejemplo alfa, beta, gamma ciclodextrinas, ciclodextrinas modificadas, por ejemplo por cadenas alquílicas o cadenas que contienen grupos polioxietylénicos, estando dichas cadenas enlazadas a las ciclodextrinas mediante enlaces formados de grupos funcionales, por ejemplo enlaces de amida, éster, éter, tioéter,

5 ciclodextrinas polimerizadas, tales como polímeros de beta-ciclodextrina, opcionalmente enlazadas a cadenas de PEG, véase por ejemplo el artículo de T. Schlupe et al. Clin. Cancer Res. 15, 2009, 181-189, polímeros sintéticos tales como poliorganofosfocenos, polianhídridos, poliamidas, poliortoésteres, policianoacrilatos de alquilo, poliésteres como polilactato (PLA) y los polímeros de polilactato/poliglicolato (PLA/PLGA), polihidroxiácidos, polilactonas, poliesteramidas, poliaminoácidos, polianhídridos, policarbonatos, polifosfazinas, polifosfoésteres, polioésteres.

15 En adelante, el término Pol-A se usa para hacer referencia a cada una de las siguientes clases de polímeros y biomoléculas farmacéuticamente aceptables, que están comprendidos en los compuestos conjugados de la invención de fórmula (C1) y C2): proteínas, polisacáridos, polímeros naturales, ciclodextrinas polimerizadas y polímeros sintéticos como se definen anteriormente.

Pol-A se puede usar opcionalmente en forma de micro- o nanopartículas.

20 Pol-A puede estar opcionalmente modificado. La modificación de Pol-A se puede llevar a cabo mediante adsorción quimicofísica (por ejemplo fuerzas de Van Der Waals) de uno o más modificadores de la superficie, y mediante funcionalización química de Pol-A con uno o más modificadores específicos. En este último caso, los modificadores se enlazan con enlaces covalentes a Pol-A, por ejemplo mediante injerto. Véase, por ejemplo, E. Garcia et Al., "Colloidal carriers y blood-brain barrier (BBB) translocation: A way to deliver drugs to the brain", Int. J. of Pharmaceutics 298 (2005), 274-292.

Entre los modificadores de Pol-A, se pueden mencionar, por ejemplo, los siguientes:

30 compuestos que comprenden cadenas polioxietylénicas o pegiladas (a base de PEG), tales como Tween 80; véanse, por ejemplo, J. Kreuter, "Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs", Advanced Drug Delivery Reviews, 47, 2001, 65-81, M.T. Peracchia et al., "Synthesis of a Novel Poly(MePEG cyanoacrylate-co-alkyl cyanoacrylate) amphiphilic copolymer for nanoparticle technology", Macromolecules, 30, 1997, 846-851,

35 proteínas, tales como proteínas plasmáticas, apolipoproteínas, véase el documento US 2004/0131692, proteínas que pueden estar opcionalmente pegiladas,

anticuerpos, tales como los definidos anteriormente,

40 péptidos, tales como los definidos anteriormente,

45 compuestos reconocidos por receptores específicos expresados en barreras fisiológicas, tales como compuestos peptídicos, proteínas, compuestos sintéticos o compuestos naturales que tienen una estructura diferente de un péptido. Véanse, por ejemplo, L. Costantino et al., "Peptide-derivatized biodegradable nanoparticles able to cross the blood-brain barrier", Journal of Controlled Release, 108, 2005, 84-96, B. Stella et al., "Design of folic acid-conjugated nanoparticles for drug targeting", J. of Pharmaceutical Sciences 89 11, Nov. 2000 1452-1464

50 Los modificadores de Pol-A se pueden enlazar directamente a la cadena principal de Pol-A, como por ejemplo en el caso de cadenas de PEG de las partículas de poli(PEG cianoacrilato de Me-co-cianoacrilato de alquilo) descritas en M.T. Peracchia et al., "Synthesis of a Novel Poly(MePEG cyanoacrylate-co-alkyl cyanoacrylate) amphiphilic copolymer for nanoparticle technology", Macromolecules, 30, 1997, 846-851.

55 Los modificadores de Pol-A también se pueden enlazar covalentemente a Pol-A mediante ligadores. Los ligadores unidos a Pol-A y a los modificadores de la superficie son los mismos mencionados anteriormente para L₁ y L₂ anteriores. Los polímeros y/o biomoléculas farmacéuticamente aceptables G_{1a}, G_{1b}, G_{1c}, G_{2a}, G_{2b}, G_{2c}, son aquellos que permiten que los compuestos conjugados de la invención pasen fácilmente a través de las barreras fisiológicas, tales como la barrera hematoencefálica, y/o que incrementan el tiempo de permanencia de los compuestos conjugados de la invención en el sistema sanguíneo, y/o que mejoran el direccionamiento selectivo hacia células o tejidos tumorales por los compuestos conjugados de la invención.

60 Los compuestos conjugados preferidos de la invención son aquellos de fórmula (C1); todavía más preferidos son los compuestos conjugados de fórmula (C1) en los que la valencia T unida al ligador deriva de la eliminación o del grupo X₆, o de un átomo de hidrógeno del grupo X₆ de los compuestos (A). Los compuestos conjugados de fórmula (C1) son todavía más preferidos, en los que p₁ = p₂ = 0, y la valencia T que se une al ligador deriva de la eliminación de los compuestos de fórmula (A) del grupo X₆ o de un átomo de hidrógeno del grupo X₆.

5 Cuando el precursor de los ligadores L₁ o L₂ es un péptido preparado mediante síntesis en fase sólida en una resina, como por ejemplo en una resina de poliestireno funcionalizada, en el procedimiento de la presente invención dicho precursor de los ligadores se puede usar todavía unido a la resina mediante uno de los dos grupos reactivos. El segundo grupo funcional del péptido se hace reaccionar con el compuesto de fórmula (A). La reacción se lleva a cabo en presencia de un activador, por ejemplo tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU), y de una base orgánica, por ejemplo difeniletilamina(DIPEA).

10 A partir de los compuestos T-L₁-resina o resina-L₂-T₁-L₁-resina, (C1) o (C2), se obtienen los compuestos (C1a) o (C2a), por ejemplo mediante tratamiento con hexafluoropropanol.

15 En la etapa Con-2), la reacción entre el grupo funcional del ligador y los grupos funcionales reactivos de los polímeros o de las biomoléculas tiene lugar en las mismas condiciones indicadas para la etapa Con-1).

Los grupos funcionales reactivos de los polímeros o de las biomoléculas son, por ejemplo, OH, SH, alquenilo, éster, amino, amido, azida, COOH.

Los grupos funcionales reactivos de los ligadores L₁ y L₂ son los mismos que los mencionados anteriormente en la etapa Con-1).

20 Cuando el grupo reactivo de los polímeros o biomoléculas es un grupo COOH, se activa previamente convirtiéndolo en uno de los grupos reactivos de grupo COOH indicados en la etapa Con-1).

25 Cuando G_{1a}, G_{1b}, G_{1c}, G_{2a}, G_{2b}, G_{2c} son péptidos sintetizados en fase sólida sobre resina, unidos de este modo con un grupo del extremo de la cadena a la resina, la etapa Con-2) se puede llevar a cabo haciendo reaccionar el grupo terminal de los péptidos no enlazado a la resina con los compuestos de fórmula (C1a) o (C2a), obteniendo los precursores de los compuestos de fórmula (C1) o (C2). Los compuestos (C1) o (C2) se obtienen mediante tratamiento con hexafluoropropanol.

30 Un procedimiento alternativo es el siguiente, que comprende las siguientes etapas:

Con-3) la reacción entre los polímeros o biomoléculas G_{1a}, G_{1b}, G_{1c}, G_{2a}, G_{2b}, G_{2c} y los precursores de ligadores L₁ y L₂ según los métodos y en las condiciones de reacción descritas en Con-2), obteniendo los compuestos de fórmula (C1b) o (C2b):



35 en las que G₁, G₂, G_{1a}, G_{1b}, G_{1c}, G_{2a}, G_{2b}, G_{2c}, p₁, p₂, q, s, L₁ y L₂ son como se definen anteriormente,

40 Con-4) la reacción entre el compuesto de fórmula (A) y los compuestos de fórmula (C1b) y/o (C2b), obteniendo los compuestos que tienen la fórmula (C1) o (C2), usando los métodos y condiciones de reacción dados a conocer en Con-1).

45 Opcionalmente, los compuestos obtenidos en cada una de las etapas Con-1), Con-2), Con-3), Con-4) se pueden purificar, por ejemplo mediante cromatografía preparativa, o HPLC preparativa, o extracción líquido/líquido, o sólido/líquido, o cristalización.

50 Es un objeto adicional de la presente invención un compuesto obtenible haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) de la invención con al menos un precursor de los ligadores L₁ o L₂. Estos compuestos se pueden usar para los mismos usos de los compuestos de fórmula (A) de la invención, y tienen las fórmulas (C1a) y (C2a) definidas anteriormente.

55 Un objeto adicional de la presente invención está representado por composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos y/o los compuestos conjugados de la invención y/o compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de ligadores L₁ o L₂.

Por composiciones farmacéuticas, se hace referencia a preparaciones en las que los compuestos y/o compuestos conjugados y/o los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un

precursor de los ligadores L₁ o L₂ se mezclan con excipientes, vehículos, materias colorantes, conservantes, aromas, y otros aditivos, cuyo uso en el campo farmacéutico es conocido.

5 Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar mediante la vía oral, subcutánea, sublingual, intramuscular, intravenosa, tópica, transdérmica, rectal, oftálmica, intranasal. Dichas composiciones farmacéuticas comprenden, por ejemplo, dispersiones, disoluciones, emulsiones, microemulsiones, polvos, micropartículas, nanopartículas, liposomas, cápsulas, aerosoles, supositorios, comprimidos, jarabes, elixires, cremas, geles, ungüentos, emplastos.

10 Se pueden obtener según procedimientos conocidos de la tecnología farmacéutica, por ejemplo son obtenibles partiendo de emulsiones y microemulsiones, en las que los compuestos o compuestos conjugados de la invención se mezclan con una fase acuosa y opcionalmente con una fase oleosa en presencia de tensioactivos y otros aditivos.

15 Son un objeto adicional de la presente invención formulaciones farmacéuticas formadas de microemulsiones o emulsiones, o que comprenden microemulsiones o emulsiones, que comprenden los siguientes componentes (% en peso):

S) de 0,01 a 95% de uno o más compuestos farmacéuticamente aceptables, seleccionados de las siguientes clases:

- 20
- tensioactivos seleccionados de no iónicos, aniónicos, catiónicos, y anfóteros, opcionalmente que contienen átomos de flúor,
 - polímeros (Pol) que forman estructuras organizadas tales como agregados, micelas, cristales líquidos, vesículas, en el líquido en el que se solubilizan,
- 25

O) de 0 a 95% de uno o más aceites seleccionados de las siguientes clases de compuestos farmacéuticamente aceptables:

- 30
- ésteres de ácidos carboxílicos de C₄-C₃₂, que contienen opcionalmente una o más insaturaciones de tipo etilénico,
 - ácidos carboxílicos de C₄-C₃₂ que contienen opcionalmente una o más insaturaciones de tipo etilénico, utilizables cuando la composición final tiene un pH comprendido entre 3 y 5,
- 35

PA) de 0,001 a 90% de compuestos de fórmula (A) y/o de compuestos conjugados de la invención, y/o de los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de los ligadores L₁ o L₂,

40 AD) de 0 a 60% en peso de uno o más compuestos seleccionados de las siguientes clases:

- modificadores de la polaridad del agua y/o del aceite,
 - modificadores de la curvatura de película del componente S),
 - cotensioactivos,
- 45

WA) de 0,001 a 99,9% de agua o de una disolución acuosa salina, opcionalmente tamponada,

50 siendo la suma de los componentes 100%.

Las composiciones de la invención en forma de microemulsiones son lípidas y transparentes, preferiblemente líquidas. Cuando la viscosidad es muy elevada, las microemulsiones de la invención están en forma de gel, opcionalmente formadas de cristales líquidos.

55 En el componente S) los tensioactivos que contienen átomos de flúor pueden tener cadenas (per)fluoradas, por ejemplo cadenas de (per)fluoro-poliéter.

60 Los líquidos en los que los polímeros del componente (S) se solubilizan o disuelven para formar las estructuras organizadas son agua y/o aceite. Los aceites utilizables son proporcionados en la presente memoria a continuación, y pueden ser tanto de origen natural como sintético.

65 Por microemulsión se hace referencia a un sistema formado de dos o más fases inmiscibles entre sí, que es transparente, isotópico, que comprende al menos una fase acuosa y al menos una fase oleosa, en el que las diversas fases se estabilizan mediante el componente S), opcionalmente en presencia de uno o más compuestos AD), por ejemplo cotensioactivos. Véase, por ejemplo, R.K. Mitra, Physicochemical investigations of

microemulsification of eucalyptus oil and water using mixed surfactants (AOT + Brij-35) and butanol, J. Colloid and Interface Science, 283 (2005) 565-577. Algunas veces, la fase oleosa en las microemulsiones para uso farmacéutico está formada solamente por el principio activo, cuando es lipófilo y de este modo insoluble en agua o en una fase acuosa.

5 Por emulsión se hace referencia a un sistema formado por los mismos componentes de la microemulsión pero de un aspecto opalescente o lechoso, o está en forma de una crema.

10 Los procedimientos para preparar las microemulsiones de la invención o las emulsiones de la invención se describen en la presente memoria en adelante.

Las microemulsiones o emulsiones preferidas según la presente invención tienen la siguiente composición (% en peso):

- 15 - de 0,01 a 90% de componente S) como se define anteriormente,
- de 0 a 90% de uno o más aceites de componente O),
- 20 - de 0,001 a 50% de componente PA) de los compuestos,
- de 0 a 30% de componente AD),
- de 0,1 a 99,9% de componente WA),

25 siendo la suma de los componentes 100%.

Las microemulsiones o emulsiones más preferidas tienen la siguiente composición (% en peso):

- 30 - de 0,01 a 80% de componente S),
- de 0 a 70% de uno o más aceites de componente O),
- de 0,005 a 40% de componente PA) de los compuestos,
- 35 - de 0 a 20% de componente AD),
- de 10 a 99,9% de componente WA),

40 siendo la suma de los componentes 100%.

Las microemulsiones o emulsiones aún más preferidas tienen la siguiente composición (% en peso):

- de 0,01 a 70% de componente S),
- 45 - de 0 a 50% de uno o más aceites de componente O),
- de 0,05 a 30% de componente PA) de los compuestos,
- de 0 a 15% de componente AD),
- 50 - de 20 a 99,9% de componente WA),

siendo la suma de los componentes 100%.

55 Preferiblemente, el aceite en las microemulsiones/emulsiones no es menor que 0,001%.

Los tensioactivos preferidos, componente S), son los no iónicos y los aniónicos. Entre los tensioactivos no iónicos, los más preferidos son aquellos que contienen cadenas polioxialquilénicas, preferiblemente cadenas polioxietilénicas. Por ejemplo, se pueden mencionar los siguientes:

60 aceite de ricino polioxilado 35, conocido por ejemplo con la marca Cremophor[®] EL (BASF), preparado mediante etoxilación de aceite de ricino,

65 aceite de ricino hidrogenado polioxilado 40, conocido por ejemplo con la marca Cremophor[®] RH40 (BASF), preparado mediante etoxilación de aceite de ricino hidrogenado,

hidroxiestearato de polietilenglicol 15, conocido por ejemplo con la marca Solutol® HS15 (BASF), preparado mediante reacción de 15 moles de óxido de etileno con 1 mol de ácido 12-hidroxiesteárico,

polisorbato de polioxietileno, tal como Tween® 80, Tween® 20, Tween® 60, Tween® 85,

ésteres de ácidos grasos con sorbitán, como por ejemplo monolaurato de sorbitán y monoestearato de sorbitán, comercializados por ejemplo con el nombre Span® 20 y Span® 60, respectivamente, vitamina E/TPGS: succinato de tocoferilo propilenglicol 1000,

ésteres de ácidos grasos con polioxietileno, como por ejemplo los de la serie Brij®, tal como Brij® 35, Brij® 76, Brij® 98,

PEG-12-aciloxi-estearatos, véase por ejemplo C.E. McNamee et al. en "Physicochemical Characterization of PEG 1500-12-aciloxystearate micelles and liquid crystalline phases", Langmuir, 2005, 21, 8146-8154. Entre estos, se pueden mencionar por ejemplo los siguientes:

- PEG 1500 mono-12-capriloiloxi estearato (PEG 1500-C₁₈C₈)
- PEG 1500 mono-12-caproiloxi estearato (PEG 1500-C₁₈C₁₀)
- PEG 1500 mono-12-lauroiloxi estearato (PEG 1500-C₁₈C₁₂)
- PEG 1500 mono-12-miristoiloxi estearato (PEG 1500-C₁₈C₁₄)
- PEG 1500 mono-12-palmitoiloxi estearato (PEG 1500-C₁₈C₁₆).

Entre los tensioactivos aniónicos, se pueden mencionar por ejemplo los siguientes: lecitina de soja, por ejemplo conocida con la marca Epikuron® 200, sulfosuccinato de bis-2-etilhexilo (AOT), taurocolato de sodio.

Entre los tensioactivos catiónicos, se pueden mencionar, por ejemplo, bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) y bromuro de didodecilamonio (DDAB).

Los polímeros, en adelante denominados en la presente memoria también Pol, que se pueden usar como componente S), deben ser solubles en la fase acuosa y/o en la fase oleosa. Por soluble se hace referencia a que los polímeros deben de alcanzar, en la fase en la que son solubles, concentraciones al menos iguales a aquellas que permitan la formación de estructuras organizadas como agregados, micelas, cristales líquidos, vesículas. La presencia de las estructuras organizadas mencionadas se puede detectar mediante técnicas específicas de la química física de los sistemas dispersos, como por ejemplo dispersión de luz de láser (LLS), dispersión de neutrones, microscopía.

Como se ha mencionado, los polímeros, componente S), se pueden usar también en combinación con los tensioactivos mencionados. También en este caso, la concentración del polímero solubilizado en la fase líquida usada debe ser tal que conduzca a la formación de las estructuras organizadas mencionadas anteriormente.

Los polímeros, componente S), son por ejemplo polivinilpirrolidona y copolímeros de vinilpirrolidona/acetato de vinilo, comercializados, por ejemplo, con la marca Kollidon®, como Kollidon® 12PF y Kollidon® 17PF (BASF), y los copolímeros de bloques que contienen cadenas polioxialquilénicas, más preferiblemente que contienen cadenas de polioxietileno (PEO), como por ejemplo los copolímeros de bloques de PEO con cadenas de polioxipropileno (PPO) caracterizados por estructuras PEO-PPO-PEO, comercialmente disponibles por ejemplo con la marca Pluronic® o Poloxamer® o Lutrol®, como Lutrol® F68 y Lutrol® F127 comercializados por Basf.

En el componente O), los ésteres de ácidos se obtienen preferiblemente mediante esterificación del ácido correspondiente, preferiblemente ácido carboxílico alifático, con un alcohol que tiene una cadena alifática, preferiblemente C₁-C₅, o que tiene una cadena polioxietilénica, o con glicerina. En este caso se obtienen mono-, di- o triglicéridos.

Por ejemplo, se pueden mencionar los siguientes:

glicérido de oleoil macrogol 6 (glicérido poliglicosilado insaturado), comercializado por ejemplo con la marca Labrafil® 1944 CS, (Gattefossé),

caprilato caprato de propilenglicol, conocido por ejemplo con la marca Labrafac® PG (Gattefossé),

monoéster propilenglicólico del ácido caprílico, comercializado por ejemplo con la marca Capmul® PG-8 (Abitec),

oleato de glicerol (por ejemplo Peceol® (Gattefossé)),

mono- y diglicéridos de cadena media, por ejemplo glicéridos de ácido cáprico y caprílico (por ejemplo Capmul® MCM (Abitec), Imwitor® 308 (Sasol)),

oleato de poliglicerol (por ejemplo Pluro® oleic (Gattefossé)), triglicéridos de ácido cáprico/caprílico (por ejemplo Miglyol® 812 y Miglyol® 810 (Sasol), Labrafac® CC CS (Gattefossé)),

butirato de etilo, caprilato de etilo, oleato de etilo,

tripalmitina, comercializada por ejemplo con la marca DYNASAN® 116 por Sasol.

También se pueden usar aceites vegetales que tienen una pureza farmacéutica que contienen uno o más de los ésteres mencionados anteriormente. Se menciona por ejemplo el aceite de soja.

Entre los ácidos, componente O, se prefieren los ácidos carboxílicos alifáticos, y se pueden mencionar por ejemplo ácido esteárico, los ácidos omega-3 y omega-6.

En el componente AD), los modificadores de la polaridad del agua y/o del aceite pueden ser, por ejemplo, polietilenglicoles. Se pueden mencionar Lutrol®E300 y Lutrol®E400 (BASF). También se pueden usar alcoholes alifáticos, por ejemplo etanol.

En el componente AD), los modificadores de la curvatura de película del componente S) son, por ejemplo, alcoholes alifáticos, preferiblemente C₂-C₅.

En el componente AD), los cotensioactivos pueden ser, por ejemplo, los compuestos tensioactivos como se definen anteriormente, o alcoholes alifáticos, preferiblemente que tienen una cadena con al menos 6 átomos de carbono. Por ejemplo, se pueden mencionar los siguientes compuestos:

monolaurato de propilenglicol, conocido por ejemplo con la marca Capmul® PG12 (Gattefossé) o Lauroglycol® 90 (Gattefossé),

glicérido de caprilocaproil macrogol 8 (glicérido etildiglicosilado saturado) comercializado, por ejemplo, con las marcas Labrasol®, Gelucire 44-14 (Gattefossé),

éter monoetílico de dietilenglicol, conocido por ejemplo con la marca Transcutol® (Gattefossé).

Las composiciones formadas de microemulsiones son estables en un amplio intervalo de temperatura, generalmente de 0°C a 80°C, preferiblemente de 4°C a 45°C.

Las microemulsiones de la presente invención se pueden preparar con un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

(IP) la solubilización opcional del componente PA) de los compuestos en aceite,

(IIP) la adición del componente S) al componente PA) o a su disolución en aceite obtenida en (IP),

(IIIP) la adición opcional de componente AD) a la fase obtenida en (IIP),

(IVP) la adición, con agitación, de agua o de disolución acuosa salina a la fase obtenida en (IIP) u opcionalmente (IIIP), obteniendo una disolución límpida.

Las etapas del procedimiento se pueden llevar a cabo a temperaturas en el intervalo 0°C-80°C.

También es posible obtener una microemulsión en forma de una disolución límpida variando el orden de implementación de las etapas mencionadas anteriormente, o, por ejemplo, procediendo según lo siguiente:

(IP') la solubilización opcional del componente PA) de los compuestos en aceite,

(IIP') la adición del componente S) a agua o a una disolución acuosa salina,

(IIIP') la adición opcional de componente AD) a la fase acuosa,

(IVP') el mezclado con agitación del componente PA) o de la disolución oleosa de la etapa (IP') con la fase acuosa de la etapa (IIP') u opcionalmente la etapa (IIIP').

El intervalo de temperatura de este procedimiento es el mismo que el indicado en el procedimiento previo.

Las emulsiones de la presente invención se pueden preparar mediante un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

- 5 (IP^o) la solubilización opcional del componente PA) de los compuestos en aceite, opcionalmente en presencia del componente AD),
- 10 (IIP^o) el calentamiento del componente PA) o de la disolución oleosa obtenida en (IP^o) a temperaturas en el intervalo 35°C-80°C, más preferiblemente 45-70°C,
- (IIIP^o) la adición del componente S) a agua o a una disolución acuosa salina, que contiene opcionalmente el componente AD),
- 15 (IVP^o) el calentamiento de la fase acuosa obtenida a temperaturas en el intervalo 35°C-80°C, más preferiblemente 45-70°C,
- (VP^o) la adición, con agitación, de la fase obtenida en la etapa (IIP^o) a la fase acuosa obtenida en la etapa (IVP^o), formando así una emulsión,
- 20 (VIP^o) el enfriamiento de la emulsión a temperaturas comprendidas entre 0°C y 30°C.

La etapa (VP^o) se lleva a cabo preferiblemente usando turboemulsionadores.

- 25 Las emulsiones obtenidas en las etapas (VP^o) y (IVP^o) se pueden someter opcionalmente a una etapa de homogeneización posterior a alta presión.

- 30 Las emulsiones también se pueden obtener mediante dilución de microemulsiones con agua, o con disoluciones acuosas, o con componente O). Opcionalmente, el agua, las disoluciones acuosas y el componente O) usados pueden contener componente AD). Se pueden obtener composiciones farmacéuticas adicionales según los procedimientos descritos en la patente US nº 6.028.084, incorporada en la presente memoria como referencia.

- 35 Las composiciones farmacéuticas también se pueden preparar usando los métodos y los aditivos indicados en la solicitud de patente US 2003/0003145. En estas formulaciones se pueden usar alquilsulfato de sodio u otros tensioactivos usados habitualmente en el campo farmacéutico. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas utilizables para la administración oral de los compuestos o de los compuestos conjugados de la invención comprenden (% en peso):

- 40 0,5-20% de uno o más compuestos y/o compuestos conjugados de la invención y/o los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de ligadores L₁ o L₂,

- 45 0,05-0,5% de un tensioactivo, preferiblemente alquilsulfato de sodio, 2,5-10% de un agente disgregante, por ejemplo celulosa, carboximetilcelulosa sódica u otro derivado de celulosa, siendo la diferencia hasta 100% los otros vehículos de excipientes usados habitualmente en formas de dosificación oral.

Las formulaciones farmacéuticas usables para la administración oral comprenden los compuestos o los compuestos conjugados de la invención, e hidroxipropilmetilcelulosa. En particular, comprenden (% en peso):

- 50 0,1 a 20% de los compuestos de fórmula (A) y/o de los compuestos conjugados de la invención y/o de los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de ligadores L₁ o L₂

- 55 0,5 a 10% de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC),

siendo la diferencia hasta 100% los otros vehículos, excipientes usados habitualmente en formas de dosificación oral.

- 60 Las formulaciones farmacéuticas específicas para administración oral en forma de cápsulas o comprimidos comprenden los compuestos o los compuestos conjugados de la invención, hidroxipropilmetilcelulosa, otros excipientes, tales como lactosa monohidratada, estearato de magnesio, celulosa microcristalina, óxido de titanio. En estas preparaciones, HPMC puede estar presente en la cápsula o en el núcleo del comprimido, y/o en la cubierta del comprimido, cuando está presente un revestimiento.

- 65 Otras formulaciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de fórmula (A) y/o los compuestos conjugados de la invención son aquellas formadas por o que comprenden micro- y/o nanopartículas de sílice, o de lípidos o de

compuestos Pol-A como se definen anteriormente, farmacéuticamente aceptables, en las que los compuestos o los compuestos conjugados de la invención, presentes en concentraciones comprendidas entre 0,1 y 60% en peso con respecto a sílice, lípido y/o compuesto Pol-A, se incorporan dentro y/o sobre la superficie de las partículas.

5 Los compuestos Pol-A se han descrito anteriormente en la parte que se refiere a los compuestos conjugados de la presente invención.

10 Como partículas lipídicas, se pueden mencionar las basadas en ácidos grasos o sus ésteres que tienen un punto de fusión superior a 40°C, más preferiblemente superior a 50°C. Los ejemplos adecuados son, por ejemplo, triglicéridos de ácidos grasos, tales como tripalmitina y lanolina. Las partículas también se pueden formar de mezclas de ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos que tienen un punto de fusión superior a 40°C y un líquido oleoso a temperatura ambiente (20-25°C), seleccionados de triglicéridos de cadena media, tales como aceites vegetales, Miglyol® 812 y Miglyol® 810 comercializados por Sasol. Alternativamente, estas partículas se pueden formar de una capa superficial de lecitina de soja que engloba a un núcleo lipídico líquido, constituido por ejemplo por triglicéridos de cadena media, tales como aceites vegetales, Miglyol® 812 y Miglyol® 810. Como partículas poliméricas, se pueden mencionar, por ejemplo, las formadas de los polímeros mencionados anteriormente en la descripción de los compuestos conjugados de la invención.

20 Las partículas de sílice están formadas preferiblemente de sílice hidrófila. Opcionalmente pueden contener uno o más compuestos, componente O, descritos para las emulsiones y microemulsiones, y/o lípidos usados para preparar las partículas lipídicas descritas anteriormente. Por ejemplo, se pueden usar las partículas de LipoCeramic™ descritas por Simovic et al. en Mol. Pharmaceutics, 6, 2009, 861-872.

25 Las partículas que contienen los compuestos de fórmula (A) o los compuestos conjugados de la invención pueden estar opcionalmente modificadas en la superficie para que, por ejemplo, sea más fácil el paso a través de barreras fisiológicas, tales como la barrera hematoencefálica, y/o para incrementar el tiempo de permanencia en el sistema de circulación sanguínea de los compuestos de fórmula (A) o de los compuestos conjugados de la invención, y/o para dirigirlos selectivamente hacia células o tejidos tumorales. La modificación superficial de las partículas se puede llevar a cabo tanto mediante adsorción quimiofísica de uno o más modificadores de la superficie como mediante funcionalización química de los polímeros con uno o más modificadores específicos. En este último caso, los modificadores se enlazan con enlace covalente a las partículas. Para la modificación de partículas, se hace referencia a lo expuesto anteriormente sobre la modificación de los componentes poliméricos Pol-A de los compuestos conjugados de la invención.

35 Entre los modificadores, se pueden mencionar por ejemplo los indicados previamente para la modificación de los polímeros Pol-A, descritos anteriormente en los compuestos conjugados de la invención.

40 Las formulaciones farmacéuticas de la invención pueden contener ácido hialurónico y/o ciclodextrinas, tales como alfa, beta o gamma ciclodextrinas, o las dextrinas modificadas, por ejemplo que contienen cadenas alquílicas y/o PEG.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener opcionalmente compuestos magnéticos, tales como óxidos de hierro.

45 Los compuestos de fórmula (A), los compuestos conjugados de la invención y los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de los ligadores L₁ o L₂, y sus composiciones farmacéuticas, muestran una citotoxicidad elevada frente a estirpes celulares tumorales.

50 Son un objeto adicional de la presente invención los compuestos de fórmula (A) y/o los compuestos conjugados de la invención y/o los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de los ligadores L₁ o L₂, y/o sus composiciones farmacéuticas, para su utilización como un medicamento.

55 La presente invención se refiere también al uso de compuestos de fórmula (A) y/o de los compuestos conjugados de la invención y/o de los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de los ligadores L₁ o L₂, y/o sus composiciones farmacéuticas, para preparar fármacos para el tratamiento en mamíferos y en seres humanos de enfermedades tumorales y/o enfermedades asociadas a angiogénesis.

60 Los compuestos de la invención se pueden usar como ligantes de tubulina, e inhiben la polimerización de tubulina. Esto es contrario a los agentes contra el cáncer convencionales tales como epotilonas y taxol.

65 La utilización de los compuestos de fórmula (A) y/o de los compuestos conjugados de la invención y/o de los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de los ligadores L₁ o L₂, y/o de las composiciones farmacéuticas relacionadas se puede implementar usando los métodos conocidos empleados para el tratamiento de dichas patologías.

Opcionalmente, el tratamiento se puede llevar a cabo en asociación con otros fármacos o con otras terapias, en particular con otros fármacos o terapias antitumorales, por ejemplo radioterapia. Los ejemplos de fármacos antitumorales utilizables en combinación con aquellos de la presente invención son aquellos que pertenecen a las clases descritas en la presente memoria a continuación:

- 5 agentes alquilantes, por ejemplo análogos de mostaza de nitrógeno (por ejemplo ciclofosfamida, clorambucilo, melfalán, clormetina, ifosfamida, trofosfamida, prednimustina),
- 10 sulfonatos de alquilo (por ejemplo busulfano, treosulfano, manosulfano), etileniminas (por ejemplo tiotepa, triaziquinona, carboquona), nitrosoureas (por ejemplo carmustina, lomustina, semustina, estreptozocina, fotemustina, nimustina, ranimustina), epóxidos (por ejemplo etoglucid), mitobronitol, pipobromano,
- 15 antimetabolitos, por ejemplo los análogos del ácido fólico (por ejemplo metotrexato, paltitrexid, raltitrexed), los análogos de purinas (por ejemplo mercaptopurina, tioguanina, cladribina, fludarabina), los análogos de piridinas (citarabina, fluorouracilo, tegafur, carmofur, gemcitabina),
- 20 alcaloides naturales y otros compuestos naturales, por ejemplo alcaloides de la vinca (por ejemplo vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, y sus mezclas), los derivados de podofilotoxina (por ejemplo etopósido y tenipósido), los derivados de colchicinas (por ejemplo demecolcina), taxani (por ejemplo paclitaxel y docetaxel), antibióticos citotóxicos y sustancias correlacionadas, por ejemplo actinomicinas (por ejemplo dactinomicina), antraciclina y sustancias relacionadas (por ejemplo doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, aclarrubicina, zorrubicina, idarrubicina, mitoxantrona, piraubicina), bleomicina, plicaicina, mitomicina,
- 25 inhibidores de topoisomerasas, tales como camptotecinas (por ejemplo irinotecán y topotecán), inhibidores de topoisomerasas de tipo II (por ejemplo amsacrina, fosfato de etopósido, y otros derivados de alcaloides naturales de *Podophillum peltatum*), otros agentes antineoplásicos, tales como cisplatino, carboplatino, procarbazona, asparginasa, altretamina, hidroxycarbamida, lonidamina, pentostatina, miltefosina, masoprocol, estramustina, dacarbazina, tretinoína, porfímero sódico, mitoguazona, tiazofurina, tamoxifeno.
- 30

En particular, la administración de los compuestos de fórmula (A) y/o de los compuestos conjugados de la invención y/o de los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de los ligadores L₁ o L₂ se debe llevar a cabo en una cantidad suficientemente eficaz para el tratamiento específico. De forma similar, las dosis, la vía de administración y la posología se determinarán dependiendo del nivel de enfermedad, de la gravedad de la patología, de las condiciones físicas y características del paciente (por ejemplo edad, peso, respuesta al principio activo), de la farmacocinética y toxicología de los compuestos o de los compuestos conjugados de la invención seleccionados para el tratamiento específico.

35

La dosis diaria preferida es 0,01-1.000 mg de compuesto de fórmula (A) o de los compuestos conjugados de la invención o de los compuestos obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de fórmula (A) con al menos un precursor de los ligadores L₁ o L₂, por kg de peso corporal del mamífero a tratar. En seres humanos, el intervalo preferido de dosis diaria es 0,01-1.000 mg por kg de peso corporal, aún más preferido de 1 a 800 mg.

40

Los siguientes ejemplos son proporcionados para una mejor comprensión de la presente invención, pero no son de ningún modo limitativos del alcance de la invención.

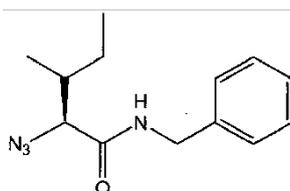
45

Ejemplos

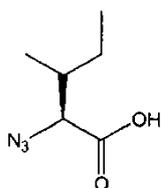
Ejemplo 1.1

50

Síntesis de (2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamida



55 A una disolución de bencilamina (19,0 mmoles, 2,0 ml) en diclorometano (20 ml), mantenida a una temperatura de 0°C, se le añaden difeniletilamina (15,9 mmoles, 2,7 ml) y una disolución en diclorometano (5 ml) del cloruro de acilo del ácido de fórmula (DD) (6,35 mmoles)



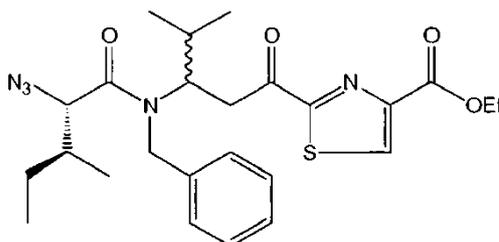
(DD)

preparado según el método descrito en J. Am. Chem. Soc., 128, 2006, 16018-16019. La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos. Al final, se añade una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (30 ml), y la fase orgánica se extrae con diclorometano (3 x 10 ml). Los extractos se deshidratan sobre Na₂SO₄, la mezcla se filtra, y el disolvente se evapora a una presión reducida. Se recuperan 1,26 g de (2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamida (80% de rendimiento).

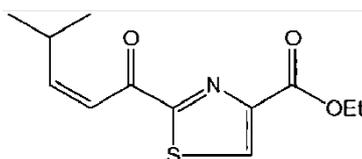
R_f = 0,36 (*n*-hexano/acetato de etilo 8/2 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,40 - 7,19 (m, 5H), 6,62 (br s, 1H), 4,45 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 3,89 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 2,17 - 2,04 (m, 1H), 1,54 - 1,41 (m, 1H), 1,33 - 1,17 (m, 1H), 1,04 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 0,91 (t, J = 7,4 Hz, 3H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 168,71, 137,74, 128,72, 127,78, 127,62, 69,97, 43,47, 38,30, 24,33, 16,0, 11,5; Masa (ESI) m/z: 269 (M⁺+Na).

Ejemplo 1.2

Síntesis de 2-(3-((2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamido)-4-metilpentanoil)tiazol-4-carboxilato de etilo



A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 1.1 (4,9 mmoles) en THF anhidro (40 ml), mantenido a -78°C, se le añade una disolución 0,5 N de KHMDS en tolueno (4,9 mmoles, 9,8 ml). La mezcla de reacción se agita durante 15 minutos. Después, se añade una disolución en THF anhidro del compuesto de enona de la siguiente fórmula (DD1) (3,3 mmoles en 10 ml de THF).



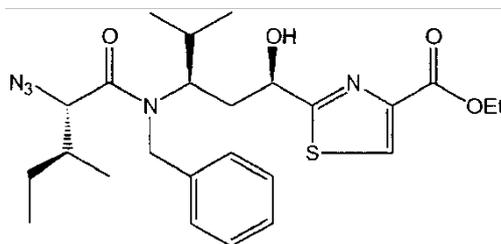
(DD1)

El compuesto (DD1) se ha preparado como se describe en Angew. Chem. Int. Ed., 46, 2007, 3526-3529. La mezcla de reacción se agita durante una hora a -78°C. Después se añade una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (100 ml), y la fase orgánica se extrae con acetato de etilo (3 x 30 ml). Los extractos orgánicos se deshidratan sobre Na₂SO₄, la mezcla se filtra, y el disolvente se evapora a una presión reducida. El producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en *n*-hexano/acetato de etilo 85/15 volumen/volumen. Se recuperan 999 mg de 2-(3-((2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamido)-4-metilpentanoil)tiazol-4-carboxilato de etilo (60% de rendimiento).

R_f = 0,39 (*n*-hexano/acetato de etilo 8/2 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,32 (s, 1H), 7,29 - 6,90 (m, 5H), 4,74 (td, J = 9,3, 3,6 Hz, 1H), 4,62 (d, J = 17,6 Hz, 1H), 4,50 - 4,36 (m, 4H), 3,52 (dd, J = 17,9, 3,8 Hz, 1H), 3,39 (dd, J = 18,0, 8,9 Hz, 1H), 3,25 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 2,28 - 2,05 (m, 4H), 1,74 - 1,62 (m, 1H), 1,41 (t, J = 7,3 Hz, 3H), 1,18 - 1,07 (m, 1H), 1,05 - 0,77 (m, 12H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 191,06, 169,71, 166,61, 160,43, 148,14, 136,58, 132,89, 128,41, 127,24, 126,24, 63,41, 61,44, 48,30, 39,34, 34,67, 30,33, 24,70, 20,12, 19,96, 19,20, 15,74, 14,06, 10,26; Masa (ESI) m/z: 522,1 (M⁺+Na).

Ejemplo 1.3

Síntesis de 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxilato de etilo

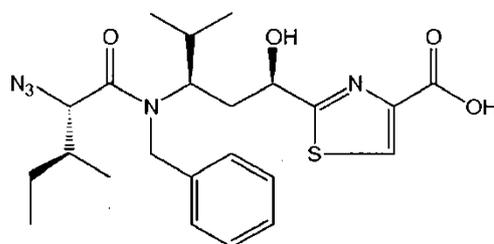


5 A una disolución del catalizador quiral (S)-CBS (0,38 mmoles, 105 mg) en THF anhidro (10 ml), se le añade una disolución 10 M de $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_2\text{S}$ (2,3 mmoles, 230 μl). Después de que la temperatura se ha reducido hasta 0°C , se añade una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 1.2 (1,9 mmoles) en THF anhidro (5 ml). La mezcla de reacción se agita durante una hora a 0°C y después 4 horas a temperatura ambiente. Al final, se añade metanol (1 ml), los disolventes se evaporan a presión reducida, y el producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en n-hexano/acetato de etilo 75/25 volumen/volumen. Se recuperan 569 mg del compuesto 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxilato de etilo (60% de rendimiento).

15 $R_f = 0,42$ (n-hexano/acetato de etilo 7/3 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,08 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 7,50 - 7,10 (m, 5H), 4,87 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 4,77 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 4,55 (s, 2H), 4,42 - 4,30 (m, 3H), 3,45 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 2,40-2,27 (m, 2H), 2,20 - 1,90 (m, 1H), 1,89 - 1,70 (m, 1H), 1,69 - 1,55 (m, 1H), 1,43 - 1,33 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 1,23 - 1,03 (m, 1H), 1,02 - 0,87 (m, 6H), 0,86 - 0,71 (m, 3H), 0,65 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 175,61, 173,01, 161,37, 161,25, 146,85, 138,38, 136,83, 129,04, 127,27, 127,12, 68,93, 63,67, 61,63, 20
20 61,08, 37,82, 34,78, 29,87, 24,82, 20,58, 20,07, 15,62, 14,22, 10,19; Masa (ESI) m/z: 524,2 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 1.4

25 Síntesis de ácido 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxílico

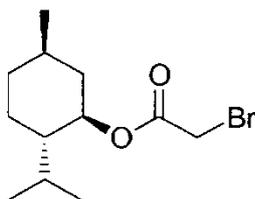


30 El compuesto obtenido en el ejemplo 1.3 (1,09 mmoles) se dispersa en una mezcla de THF/agua 4/1 volumen/volumen (10 ml). Después se añade $\text{Li}(\text{OH})$ (1,64 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 12 horas. Después se añade agua (5 ml), y la fase orgánica se extrae con acetato de etilo (1 x 10 ml). La fase acuosa se recupera y se acidifica con una disolución 1N de HCl hasta un pH de 2. La fase acuosa se extrae entonces con acetato de etilo (3 x 10 ml), los extractos orgánicos se reúnen y se deshidratan sobre Na_2SO_4 . Entonces se elimina el Na_2SO_4 mediante filtración y el disolvente se evapora a una presión reducida para producir 338 mg de ácido 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxílico (60% de rendimiento).

40 $R_f = 0,42$ (diclorometano/MeOH 9/1 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 8,25 (s, 1H), 7,52 - 7,01 (m, 10H), 4,91 (dd, $J = 10,0, 2,5$ Hz, 1H), 4,69 - 4,49 (m, 3H), 3,54 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 2,36 - 2,02 (m, 3H), 1,91 (m, 1H), 1,63 (m, 1H), 1,13 (m, 1H), 0,97 (m, 6H), 0,86 - 0,69 (m, 6H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 178,88, 173,36, 169,71, 163,9, 148,13, 138,86, 129,90, 129,36, 128,28, 69,98, 64,80, 60,06, 46,97, 39,05, 36,41, 31,88, 25,79, 20,54, 20,48, 16,01, 10,57; Masa (ESI) m/z: 496,1 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), 518,1 ($\text{M}^+ + \text{K}$).

Ejemplo 1.5

45 Síntesis de éster 2-isopropil-5-metilciclohexílico del ácido bromoacético

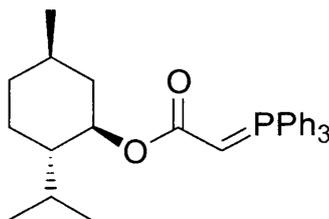


5 A una disolución de (-)-mentol (2,75 mmoles) en THF anhidro (5 ml), se le añade Et₃N (2,75 mmoles) con agitación. La temperatura de la disolución se reduce hasta 0°C y se añade bromo-bromuro de acetilo (2,5 mmoles). La temperatura de la disolución se deja elevar entonces hasta la temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se agita durante 2 horas. Se añade una disolución acuosa 1N de HCl (2 ml), y la fase orgánica se extrae con acetato de etilo (3 x 5 ml). Las fases orgánicas reunidas se lavan con una disolución acuosa saturada de NaCl (1 x 15 ml), se deshidratan sobre Na₂SO₄ y se filtran. El disolvente se evapora a una presión reducida, y el producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en *n*-hexano/acetato de etilo 97/3 volumen/volumen. Se recuperan 388 mg de éster 2-isopropil-5-metil-ciclohexílico del ácido bromoacético (51% de rendimiento).

10 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 4,78 - 4,60 (m, 1H), 3,86 - 3,69 (m, 2H), 2,09 - 1,96 (m, 1H), 1,95 - 1,83 (m, 1H), 1,74 - 1,59 (m, 2H), 1,55 - 1,29 (m, 2H), 1,16 - 0,95 (m, 2H), 0,87 (m, 6H), 0,77 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H); Masa (ESI): 299. (M⁺+Na).

15 Ejemplo 1.6

Síntesis de éster 2-isopropil-5-metil-ciclohexílico del ácido (trifenil-λ⁵-fosfaniliden)-acético

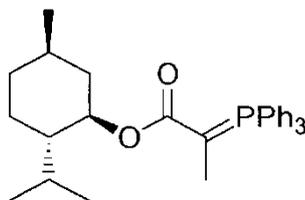


20 A una disolución del compuesto preparado en el ejemplo 1.5 (0,36 mmoles) en THF anhidro (3 ml), se le añade trifenilfosfina PPh₃ (0,37 mmoles). La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 2 horas. El disolvente se evapora a presión reducida, y el sólido resultante se lava con hexano (10 ml) y se separa por filtración. El sólido se solubiliza entonces en tolueno (3,5 ml), y se añade una disolución acuosa 0,38 N de Na(OH) (1,26 mmoles, 3,3 ml). La mezcla de reacción se agita durante una hora. La fase orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄ y se filtra. El disolvente se evapora a una presión reducida. Se recuperan 185 mg de éster 2-isopropil-5-metil-ciclohexílico del ácido (trifenil-λ⁵-fosfaniliden)-acético. El rendimiento es cuantitativo.

25 Masa (ESI) *m/z*: 459,2 (M⁺+H⁺), el espectro está de acuerdo con el dado a conocer en Tetrahedron, 1992, 6929-6952.

30 Ejemplo 1.7

35 Síntesis de éster 2-isopropil-5-metil-ciclohexílico del ácido 2-(trifenil-λ⁵-fosfaniliden)-propiónico



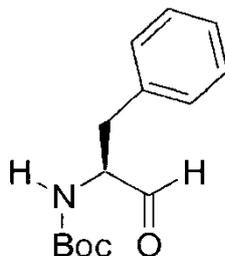
40 Se solubilizan 0,36 mmoles del compuesto obtenido en el ejemplo 1.6 en 2 ml de diclorometano, con agitación. La disolución se enfría entonces a 0°C, y se añade yoduro de metilo (0,54 mmoles). La temperatura de la mezcla de reacción se deja elevar entonces hasta la temperatura ambiente, y la agitación se continúa durante otras 12 horas. El disolvente se evapora a una presión reducida, y el producto bruto se disuelve en tolueno (5 ml). Se añade una disolución acuosa 0,38 N de Na(OH) (1,26 mmoles), y la agitación se continúa durante otras 2 horas. La fase orgánica se separa, se deshidrata sobre Na₂SO₄ y se filtra. El disolvente se evapora a una presión reducida. Se recuperan 160 mg de éster 2-isopropil-5-metil-ciclohexílico del ácido 2-(trifenil-λ⁵-fosfaniliden)-propiónico (94% de rendimiento).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,97 – 7,14 (m, 16H), 4,72 - 4,32 (m, 1H), 2,33 - 1,90 (m, 1H), 1,74 - 1,10 (m, 5H), 1,08 - 0,19 (m, 12H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 133,50, 133,41, 131,27, 128,20, 128,08, 70,83, 46,76, 40,99, 34,14, 30,94, 24,66, 22,41, 21,78, 20,95, 15,37; Masa (ESI) m/z: 473,2 (M⁺+H⁺).

5

Ejemplo 1.8

Síntesis de 1-oxo-3-fenilpropan-2-il-carbamato de di(S)terbutilo



10

A una disolución de Boc-fenilalaninol (0,6 mmoles) en diclorometano (6 ml), se le añaden NaHCO₃ (12,0 mmoles) y peryodinano de Dess-Martin (0,9 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 2 horas. Se añade Et₂O (10 ml), y la agitación se continúa durante 15 minutos. La mezcla de reacción se vierte en una disolución acuosa de NaHCO₃/Na₂S₂O₃ saturado (20 ml). Se añade diclorometano (20 ml), y la fase orgánica se separa, se deshidrata sobre Na₂SO₄ y se filtra. El disolvente se evapora a una presión reducida. Se recuperan 163 mg del compuesto 1-oxo-3-fenilpropan-2-il-carbamato de (S)terbutilo (98% de rendimiento).

15

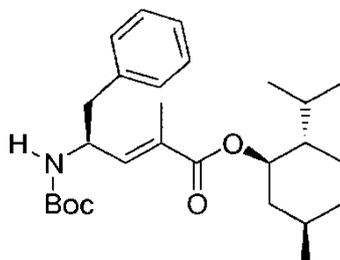
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,68 (s, 1H), 7,53 - 6,89 (m, dH), 5,11 - 5,03 (m, 1H), 4,50-4,42 (m, 1H), 3,16 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 1,48 (s, 9H).

20

Ejemplo 1.9

Síntesis de 4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metil-5-fenilpent-2-enoato de (S,E)-((1R,2S,5R)-2-isopropil-5-metilciclohexilo)

25



A una disolución en diclorometano del compuesto obtenido en el ejemplo 1.7 (0,48 mmoles en 5 ml), enfriado a 0°C, se le añaden 0,32 mmoles del aldehído obtenido en el ejemplo 1.8. La temperatura de la disolución orgánica se deja elevar entonces hasta la temperatura ambiente, y la agitación se continúa durante otras 2 horas. Se añade una disolución acuosa 1 N de NaHSO₄ (10 ml), la fase orgánica se separa, y la disolución acuosa se extrae posteriormente con diclorometano (2 X 10 ml). Las fases de los extractos orgánicos reunidos se lavan con una disolución acuosa saturada de NaCl (1 X 10 ml), se deshidratan sobre Na₂SO₄ y se filtran. El disolvente se evapora a una presión reducida, y el producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en n-hexano/acetato de etilo 85/15 volumen/volumen. Se recuperan 150 mg de 4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metil-5-fenilpent-2-enoato de (S,E)-((1R,2S,5R)-2-isopropil-5-metilciclohexilo). El rendimiento es cuantitativo.

30

35

R_f = 0,47 (n-hexano/acetato de etilo 97/3 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,38 - 7,04 (m, 5H), 6,46 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 4,79 - 4,62 (m, 2H), 4,50-4,56 (m, 1H), 2,93 (dd, J = 13,3, 5,6 Hz, 1H), 2,84 - 2,74 (m, 1H), 2,08 - 1,98 (m, 1H), 1,93 - 1,74 (m, 1H), 1,76 - 1,65 (m, 4H), 1,61 - 1,45 (m, 2H), 1,45 (s, 10H), 0,97 - 0,81 (m, 6H), 0,77 (d, J = 6,9 Hz, 3H). Masa (ESI) m/z: 444,3 (M⁺+H⁺).

40

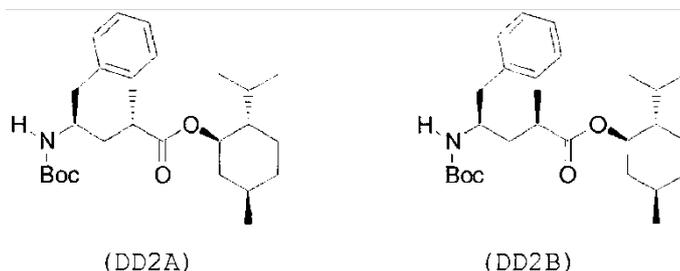
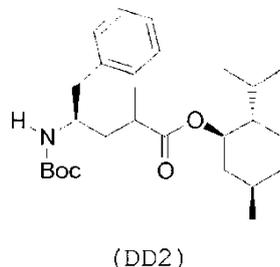
Ejemplo 1.10

Síntesis de 4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-((1R,2S,5R)-2-isopropil-5-metilciclohexilo)

45

A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 1.9 (0,32 mmoles) en acetato de etilo (6 ml), se le añade una cantidad catalítica de Pd/C. La mezcla de reacción se mantiene con agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 2 horas. Al final, la disolución orgánica se filtra sobre celita, y el disolvente se evapora a una presión reducida. Se obtiene el compuesto (DD2). Se forma una mezcla de dos diastereoisómeros (DD2A) y (DD2B)

5



10 Los dos diastereoisómeros (DD2A) y (DD2B) se separan mediante cromatografía ultrarrápida en *n*-hexano/acetato de etilo 8/2 volumen/volumen. Se recuperan 89 mg de compuesto (DD2A) y 37 mg de compuesto (DD2B) (88% de rendimiento).

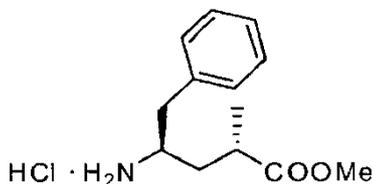
15 (DD2A): $R_f = 0,7$ (acetato de etilo/hexano 1/4 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,30-7,26 (m, 2H), 7,22-7,15 (m, 3H), 4,64 (dt, $J = 10,8$ Hz, 4,3 Hz, 1H), 4,34 (s, 1H), 3,95-3,80 (m, 1H), 2,83-2,73 (m, 2H), 2,50-2,41 (m, 1H), 1,98-1,92 (m, 1H), 1,86-1,60 (m, 4H), 1,54-1,31 (m, 4H), 1,39 (s, 9H), 1,13 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,10-1,00 (m, 1H), 0,92-0,80 (m, 1H), 0,89 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,88 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,74 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) 176,0, 155,3, 137,8, 129,4, 128,2, 126,2, 74,0, 49,7, 46,9, 42,0, 40,7, 37,2, 36,8, 34,1, 31,3, 29,6, 28,2, 26,1, 23,3, 21,9, 20,7, 16,7, 16,1; Masa (ESI) m/z 446,3 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 468,3 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

20 (DD2B): $R_f = 0,62$ (acetato de etilo/hexano 1/4 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,29-7,26 (m, 2H), 7,22-7,16 (m, 3H), 4,66 (m, $J = 10,8$ Hz, 4,3 Hz, 1H), 4,34 (s, 1H), 3,92-3,80 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 2H), 2,62-2,50 (m, 1H), 2,02-1,96 (m, 1H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,71-1,64 (m, 2H), 1,54-1,33 (m, 4H), 1,39 (s, 9H), 1,15 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,10-1,00 (m, 2H), 0,90 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,89 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,75 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) 175,7, 155,1, 137,9, 129,5, 128,3, 126,3, 74,1, 49,9, 47,1, 41,2, 40,8, 37,7, 36,7, 34,3, 31,4, 29,7, 28,4, 26,2, 23,4, 22,0, 20,8, 17,7, 16,1; Masa (ESI) m/z 446,3 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 468,3 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

25

Ejemplo 1.11

30 Síntesis de hidrocloreto de 4-amino-2-metil-5-fenil-pentanoato de (2S,4R)-metilo



35 Se dispersan 2,28 mmoles del compuesto (DD2A) obtenido en el ejemplo 1.10 en una disolución acuosa 6N de HCl (25 ml), y la dispersión se calienta a reflujo durante una hora. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, se añade acetato de etilo (30 ml), y la fase acuosa se separa y se concentra a una presión reducida. El residuo sólido se disuelve en metanol (10 ml). Se añaden 2,2-dimetoxipropano (4,56 mmoles) y HCl concentrado (37%, 0,024 mmoles, 2 μl), y la mezcla de reacción se calienta hasta 50°C durante 12 horas. El disolvente se evapora entonces a una presión reducida. Se recuperan 580 mg del hidrocloreto de 4-amino-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo (99% de rendimiento).

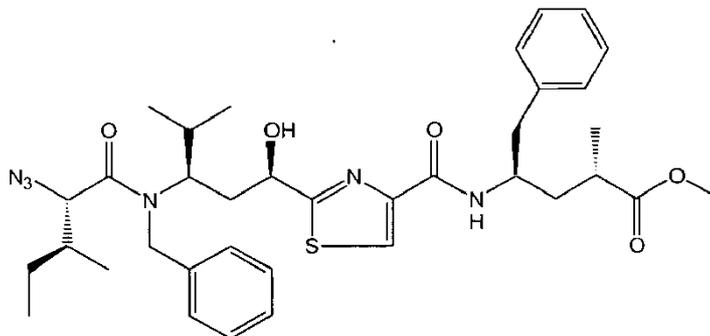
40

$R_f = 0,3$ (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 7,46-7,15 (m, 5H), 3,63 (s, 3H), 3,59-3,47 (m, 1H), 2,57-2,50 (m, 1H), 3,04 (dd, $J = 19,9$ y 6,2 Hz, 1H), 2,91 (dd, $J = 13,7$ y 7,7 Hz, 1H), 2,79-

2,65 (m, 1H), 2,08-1,95 (m, 1H), 1,75-1,63 (m, 1H), 1,16 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H,); RMN ^{13}C (100,5 MHz, CD_3OD) δ : 178,1, 137,8, 131,3, 130,9, 129,3, 53,3, 41,1, 37,9, 18,7; Masa (ESI) m/z 258,2 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$).

Ejemplo 1.12

5 Síntesis de 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)-tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo

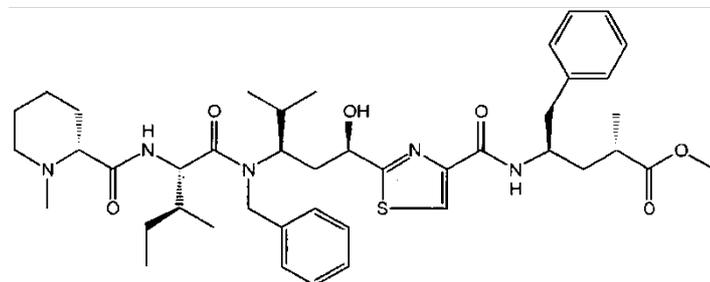


10 A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 1.11 (0,65 mmoles) en DMF (5 ml) se le añaden, en orden, HOAt (0,715 mmoles), HATU (0,715 mmoles), trietilamina (1,36 mmoles) y el compuesto obtenido en el ejemplo 1.4 (0,65 mmoles). La reacción se agita durante 2 horas. Se añade agua (10 ml), y la fase orgánica se extrae con éter etílico (3 x 10 ml). Las fases orgánicas reunidas extraídas se lavan entonces, secuencialmente, con una disolución acuosa 1N de HCl (1 x 10 ml), una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 (1 x 10 ml) y una disolución acuosa saturada de NaCl (1 x 10 ml). La fase orgánica se separa y se deshidrata sobre Na_2SO_4 . El Na_2SO_4 se elimina entonces mediante filtración, y el disolvente se evapora a una presión reducida. Se recuperan 326 mg de pentanoato de (2S,4R)-metil-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-bencil-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metil-pentil)tiazol-4-carboxiamido)-2-metil-5-fenilo (74% de rendimiento).

20 $R_f = 0,44$ (n-hexano/acetato de etilo 1/1 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,96 (s, 1H), 7,34 - 7,08 (m, 10H), 6,98 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 4,94 - 4,75 (m, 2H), 4,63 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H), 4,49 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H), 4,40 - 4,26 (m, 2H), 3,88 - 3,75 (m, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,46 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 3,02 - 2,74 (m, 2H), 2,67 - 2,53 (m, 1H), 2,45 - 2,25 (m, 1H), 2,23 - 1,87 (m, 4H), 1,61 (m, 2H), 1,22 - 1,07 (m, 4H), 1,06 - 0,90 (m, 6H), 0,81 (m, 3H), 0,74 - 0,61 (m, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 176,39, 175,01, 171,90, 171,25, 160,68, 149,68, 137,51, 137,23, 128,90, 128,50, 128,41, 128,26, 127,92, 126,29, 122,85, 68,83, 63,68, 61,74, 59,32, 51,70, 48,32, 47,86, 45,22, 41,73, 37,95, 37,80, 36,43, 34,33, 30,15, 24,77, 20,42, 20,04, 17,73, 15,74, 10,14; Masa (ESI) m/z : 677,3 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 699,3 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

30 Ejemplo 1.13

Síntesis de 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-N-bencil-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo



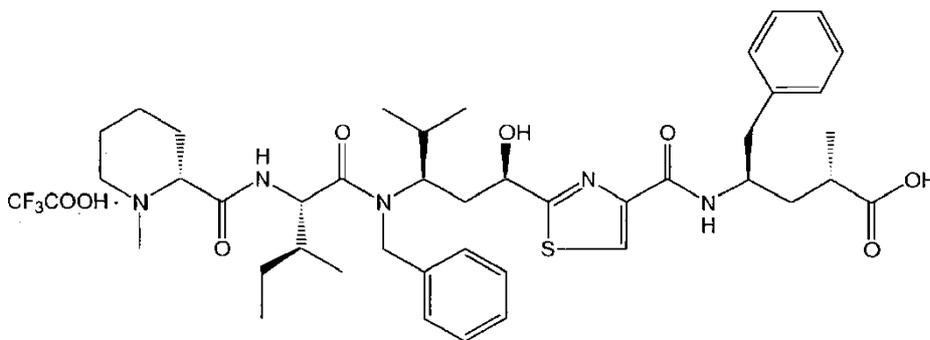
35 Se solubilizan 0,44 mmoles del compuesto obtenido en el ejemplo 1.12 en metanol (10 ml); se añade una cantidad catalítica de Pd/C al 10% a la disolución. La reacción se agita en una atmósfera de hidrógeno durante 12 horas. Al final, la suspensión se filtra sobre celita, y el disolvente se evapora a una presión reducida. Se añaden 0,46 mmoles del producto obtenido, con agitación, a una suspensión de ácido N-metilpípecolínico (0,69 mmoles) en diclorometano (10 ml) que contiene HOAt (0,73 mmoles), HATU (0,73 mmoles) y trietilamina (0,73 mmoles). La reacción se agita durante 4 horas. Se añade agua (10 ml), y la fase orgánica se extrae con diclorometano (3 x 10 ml). Los extractos orgánicos se separan, se reúnen y se deshidratan sobre sulfato de sodio. Tras filtrar, el disolvente se evapora a una presión reducida. El producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en diclorometano/metanol 95/5 volumen/volumen. Se recuperan 270 mg de 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-N-bencil-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-

carboxamido)pentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo (rendimiento total en las dos etapas: 79%).

5 $R_f = 0,30$ (diclorometano/metanol 95/5 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 8,05 (s, 1H), 7,60 - 7,02 (m, 5H), 5,14 (d, $J = 16,6$ Hz, 1H), 4,87 (m, 1H), 4,80 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 4,32 (m, 3H), 3,96 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 2,97 - 2,76 (m, 3H), 2,71 (dd, $J = 11,0, 2,8$ Hz, 1H), 2,67 - 2,55 (m, 2H), 2,48 - 2,42 (m, 2H), 2,21 (s, 3H), 2,18 - 1,95 (m, 5H), 1,94 - 1,39 (m, 8H), 1,37 - 1,21 (m, 2H), 1,20 - 1,13 (m, 3H), 1,12 - 1,04 (m, 3H), 1,03 - 0,90 (m, 4H), 0,83 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,71 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 178,85, 177,90, 175,23, 174,75, 162,81, 150,62, 140,03, 139,15, 139,01, 130,39, 130,30, 129,64, 129,25, 127,41, 70,47, 69,87, 62,27, 56,48, 55,57, 52,17, 50,09, 46,52, 44,91, 42,08, 39,29, 39,11, 38,13, 37,65, 32,34, 31,42, 26,10, 25,27, 24,24, 24,14, 21,11, 21,02, 20,92, 18,26, 16,83, 10,66; Masa (ESI) m/z : 776,4 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 798,4 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 1.14

15 Síntesis de sal 2,2,2-trifluoroacética del ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-N-bencil-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico

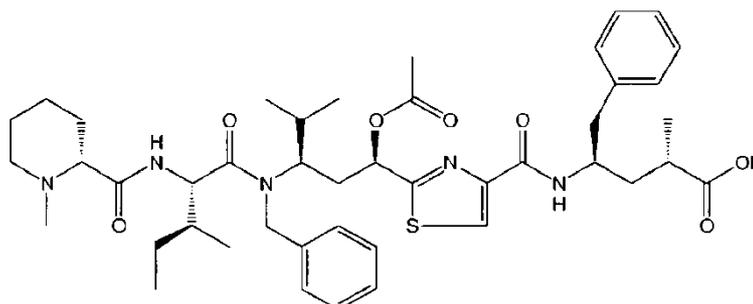


20 Se solubilizan 0,26 mmoles del compuesto obtenido en el ejemplo 1.13 en THF (5 ml). A la disolución obtenida se le añade una disolución acuosa 1N de $\text{Li}(\text{OH})$ (0,773 mmoles). La disolución se agita durante 48 horas. Se añaden entonces agua (2 ml) y ácido trifluoroacético en una cantidad para proporcionar un pH de 2. La fase orgánica se extrae con acetato de etilo (3 x 5 ml), y los extractos orgánicos reunidos se deshidratan sobre Na_2SO_4 . Tras filtrar, los disolventes se evaporan a una presión reducida. Se recuperan 250 mg de sal 2,2,2-trifluoroacética del ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-N-bencil-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico (90% de rendimiento).

30 $R_f = 0,15$ (diclorometano/metanol 95/5 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 8,06 (s, 1H), 7,36 - 7,03 (m, 10H), 5,15 (d, $J = 10,3$ Hz, 2H), 5,03 (d, $J = 16,4$ Hz, 1H), 4,94 - 4,82 (m, 2H), 4,74 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 4,59 (d, $J = 16,7$ Hz, 1H), 4,51 - 4,26 (m, 4H), 3,96 (dd, $J = 20,8, 10,9$ Hz, 2H), 3,86 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 3,50 (t, $J = 12,7$ Hz, 2H), 3,08 (dd, $J = 27,4, 13,7$ Hz, 2H), 2,94 - 2,68 (m, 11H), 2,48 (dd, $J = 34,9, 15,4, 5,6$ Hz, 3H), 2,30 - 1,74 (m, 22H), 1,72 - 1,46 (m, 6H), 1,34 (dd, $J = 19,4, 13,6$ Hz, 2H), 1,26 - 1,15 (m, 8H), 1,09 (dd, $J = 18,7, 5,1$ Hz, 7H), 0,97 (dd, $J = 21,5, 12,9, 7,1$ Hz, 11H), 0,85 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,71 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 0,57 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 180,62, 179,68, 175,12, 171,62, 169,86, 163,96, 161,94 (q, $J = 38,4$ Hz), 151,55, 140,80, 140,07, 131,31, 130,66, 130,14, 129,87, 128,31, 117,96 (q, $J = 287,3$ Hz), 70,97, 69,51, 62,88, 58,81, 57,20, 51,58, 47,90, 44,05, 42,88, 40,74, 40,21, 38,74, 38,49, 33,34, 31,20, 28,78, 25,90, 24,61, 23,10, 21,82, 21,69, 19,43, 17,38, 16,96, 12,96, 11,52; Masa (ESI) m/z : 762,4 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 784,4 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 1.15

40 Síntesis de ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-acetoxi-3-((2S,3R)-N-bencil-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico

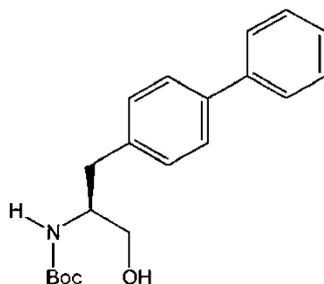


5 A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 1.14 (0,27 mmoles) en piridina (4 ml), se le añade anhídrido acético (2 ml). La mezcla de reacción se agita durante 12 horas. El disolvente se evapora a una presión reducida, y el producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en una primera pasada con diclorometano/metanol 98/2 volumen/volumen, y en una segunda pasada con diclorometano/metanol 9:1 volumen/volumen. Se recuperan 159 mg de ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-acetoxi-3-((2S,3R)-N-bencil-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido) pentanamido)-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenil-pentanoico (74% de rendimiento).

10 $R_f = 0,25$ (DCM/MeOH 95/5); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 8,07 (s, 1H), 7,57 - 7,01 (m, 10H), 5,95 - 5,85 (m, 1H), 5,06 (d, $J = 16,8$ Hz, 1H), 4,74 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,45 (d, $J = 16,8$ Hz, 1H); 4,41 - 4,30 (m, 2H), 3,18 - 3,09 (m, 1H), 2,99 (dd, $J = 11,1, 2,6$ Hz, 1H), 2,96 - 2,80 (m, 2H), 2,60 - 2,51 (m, 1H), 2,49 - 2,27 (m, 6H), 2,16 (s, 3H), 2,11 - 1,86 (m, 4H), 1,85 - 1,56 (m, 5H), 1,56 - 1,25 (m, 2H), 1,19 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 1,13 - 0,98 (m, 4H), 0,99-0,95 (m, 1H), 0,86 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,76 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H), 0,70 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 175,79, 173,33, 171,70, 171,15, 162,54, 150,88, 139,45, 139,41, 130,43, 129,90, 129,26, 128,94, 127,34, 71,28, 69,68, 59,54, 56,34, 55,37, 50,96, 44,32, 41,88, 39,42, 37,83, 36,29, 31,88, 31,16, 25,45, 25,22, 23,60, 20,93, 20,81, 20,62, 18,78, 16,29, 10,80; Masa (ESI) m/z : 804,4 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 826,4 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 2.1

20 Síntesis del compuesto Boc-4-fenil-fenilalaninol



25 A una disolución del producto comercial Boc-4-fenil-fenilalanina (0,43 mmoles) en THF (4 ml), se le añade Et_3N (0,51 mmoles) con agitación. La temperatura se reduce hasta 0°C , y se añade EtO_2Cl (0,51 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos y después se filtra sobre celita. El filtrado se añade a una disolución de NaBH_4 (0,64 mmoles) en H_2O (1 ml), enfriada a 0°C . La temperatura se deja aumentar hasta la temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se mantiene con agitación durante otros 10 minutos. Al final, se añade una disolución acuosa 1N de HCl (1 ml), y la fase orgánica se extrae con acetato de etilo (3 x 5 ml). El disolvente se evapora a una presión reducida, y el producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en n-hexano/acetato de etilo 6/4 volumen/volumen. Se recuperan 123 mg de Boc-4-fenil-fenilalaninol (87% de rendimiento).

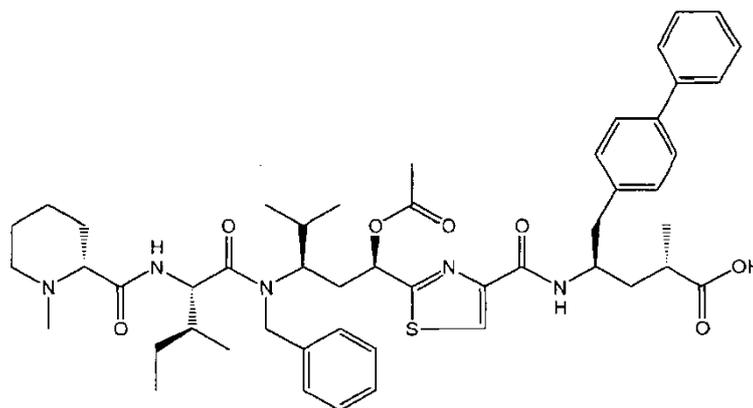
35 $R_f = 0,23$ (n-hexano/acetato de etilo 6/4 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,60 - 7,50 (m, 4H), 7,46 - 7,39 (m, 2H), 7,37 - 7,25 (m, 3H), 4,80 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 3,98 - 3,85 (m, 1H), 3,75 - 3,64 (m, 1H), 3,64 - 3,56 (m, 1H), 2,89 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,46 - 2,38 (m, 1H), 1,43 (s, 9H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 140,88, 139,52, 136,94, 129,72, 128,73, 127,24, 126,98, 64,32, 54,2, 37,3, 28,35.

Ejemplo 2.2

40 Síntesis de un compuesto de fórmula (A)

Se han repetido los ejemplos 1.1 a 1.15, pero usando en el ejemplo 1.8 el compuesto obtenido en el ejemplo 2.1 en vez del compuesto Boc-fenilalaninol.

45 Al final de la síntesis se aisló el compuesto (DD3)



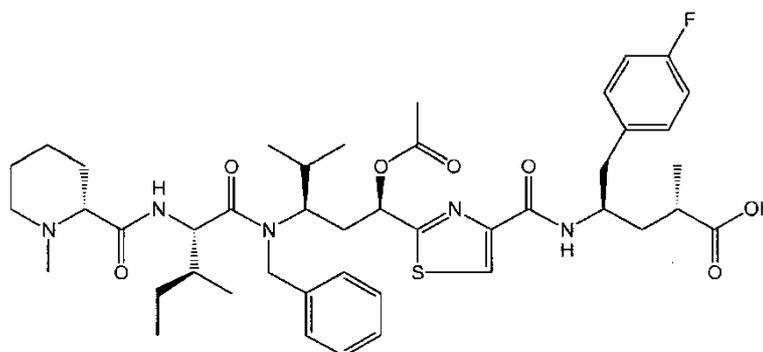
(DD3)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ: 8,08 (s, 1H), 7,51 - 7,19 (m, 10H), 5,96- 6,04 (m, 1H), 4,96 (d, *J* = 16,7 Hz, 1H), 4,65 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 4,45 (d, *J* = 16,7 Hz, 1H), 4,40 - 4,27 (m, 2H), 3,58 - 3,53 (m, 1H), 3,34 - 3,26 (m, 1H), 3,03 - 2,92 (m, 2H), 2,73 - 2,65 (m, 2H), 2,48 - 2,43 (m, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,15 (s, 4H), 2,05 - 1,46 (m, 11H), 1,19 (m, 3H), 1,09 - 0,96 (m, 12H). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ: 179,61, 172,65, 172,45, 170,80, 166,51, 160,88, 150,29, 140,59, 140,48, 138,87, 137,37, 131,07, 128,93, 128,69, 128,51, 128,35, 128,33, 127,75, 127,33, 126,13, 66,81, 61,60, 55,74, 55,21, 54,39, 53,30, 47,95, 43,21, 39,37, 37,50, 37,06, 36,49, 35,53, 31,70, 27,31, 24,95, 24,81, 22,14, 21,24, 18,60, 18,28, 16,28, 11,56; Masa (ESI) *m/z*: 880,5 (M⁺+H⁺), 902,5 (M⁺+Na).

Ejemplo 3

Se repitieron los ejemplos 1.1 a 1.15 pero usando en el ejemplo 1.8 el compuesto Boc-4-fluoro-fenilalanina en vez del compuesto Boc-fenilalaninol.

Al final del procedimiento, se aisló compuesto (DD4).

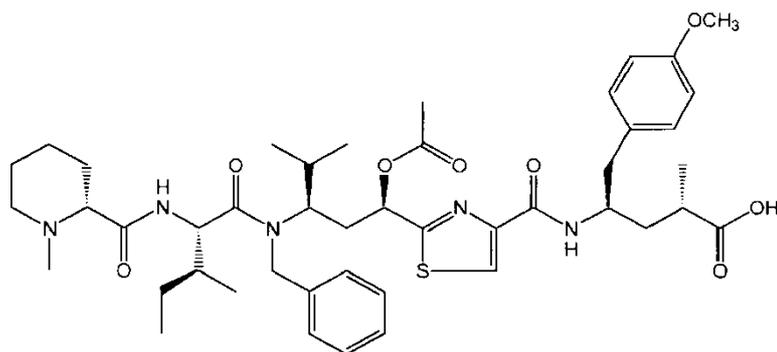


(DD4)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ: 8,07 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,42 - 7,02 (m, 9H), 6,28- 6,20 (m, 1H), 5,02 (d, *J* = 17,7 Hz, 1H), 4,72 (d, *J* = 10, Hz, 1H), 4,45 (d, *J* = 17,7 Hz, 1H), 4,43 - 4,29 (m, 2H), 3,47 - 3,42 (m, 1H), 3,33 - 3,28 (m, 1H), 3,08 - 3,00 (m, 1H), 2,92 - 2,86 (m, 2H), 2,74 - 2,68 (m, 1H), 2,64 (s, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,39 - 2,30 (m, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,05 - 1,85 (m, 5H), 1,84 - 1,76 (m, 5H), 1,52 - 1,30 (m, 3H), 1,21 m, 3H), 1,13 - 0,80 (m, 14H). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ: 179,61, 172,66, 170,80, 166,51, 162,89, 160,88, 150,29, 137,37, 134,03, 133,99, 130,75, 128,69, 128,69, 128,51, 127,75, 126,13, 116,11, 116,00, 66,81, 61,60, 55,74, 55,21, 54,39, 53,29, 47,95, 43,21, 39,36, 37,50, 37,05, 36,49, 35,52, 31,70, 27,30, 24,95, 24,81, 22,14, 21,23, 18,59, 18,28, 16,28, 11,56. Masa (ESI) *m/z*: 822,4 (M⁺+H⁺), 844,3 (M⁺+Na).

Ejemplo 4

Se repitieron los ejemplos 1.1 a 1.15 pero usando en el ejemplo 1.8 compuesto Boc-4-metoxi-fenilalanina en vez del compuesto Boc-fenilalaninol. Al final del procedimiento, se aisló compuesto (DD5).

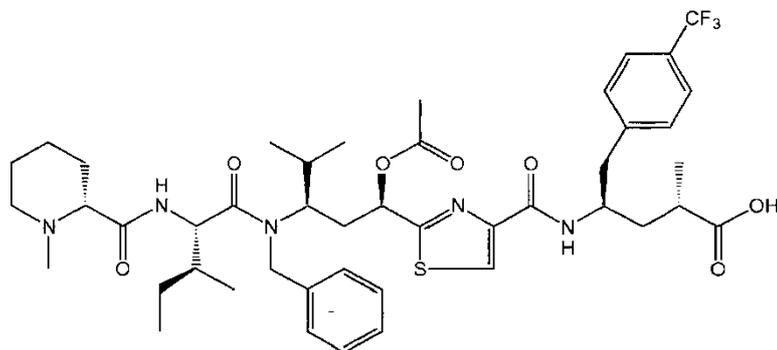


(DD5)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ: 8,08(s, 1H), 7,38 - 7,23 (m, 5H), 7,20 - 7,05 (m, 2H), 6,94 - 6,80 (m, 2H), 6,02 - 5,94 (m, 1H), 5,00 (d, *J* = 17,7 Hz, 1H), 4,70 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,48 (d, *J* = 17,7 Hz, 1H), 4,45 - 4,27 (m, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,32 - 3,26 (m, 2H), 3,08 - 3,02 (m, 2H), 2,76 (s, 1H), 2,71 - 2,48 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,16 (s, 5H), 2,06 - 2,02 (m, 1H), 1,88 - 1,79 (m, 3H), 1,68 - 1,47 (m, 8H), 1,24 (m, 3H), 1,10 - 0,96 (m, 12H). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ: 179,61, 172,65, 172,45, 170,80, 166,51, 160,88, 157,66, 150,29, 137,37, 130,09, 129,65, 128,69, 128,51, 127,75, 126,13, 114,93, 66,81, 61,60, 56,04, 55,74, 55,21, 54,39, 53,30, 47,95, 43,21, 39,37, 37,50, 37,06, 36,49, 35,53, 31,70, 27,31, 24,95, 24,81, 22,14, 21,24, 18,60, 18,28, 16,28, 11,56; Masa (ESI) *m/z*: 832,3 (M⁺+H⁺), 854,3 (M⁺+Na).

Ejemplo 5

Se repitieron los ejemplos 1.1 a 1.15, pero usando en el ejemplo 1.8 el compuesto Boc-4-trifluorometil-fenilalanina en vez del compuesto Boc-fenilalaninol. Al final del procedimiento, se aisló compuesto (DD6).

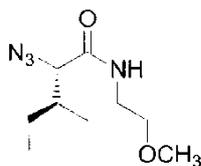


(DD6)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ: 8,06 (s, 1H), 7,65 - 7,52 (m, 2H), 7,34 - 7,27 (m, 5H), 7,09 - 6,95 (m, 2H), 5,80 - 5,70 (m, 1H), 4,90 (d, *J* = 16,7 Hz, 1H), 4,60 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 4,40 (d, *J* = 16,7 Hz, 1H), 4,39 - 4,25 (m, 2H), 3,59 - 3,51 (m, 1H), 3,30 - 2,96 (m, 2H), 2,75 - 2,48 (m, 4H), 2,28 (s, 4H), 2,14 (s, 4H), 1,98 - 1,92 (m, 1H), 1,81 - 1,46 (m, 8H), 1,21 (m, 3H), 1,13 - 0,98 (m, 12H). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ 179,61, 172,65, 172,45, 170,80, 166,51, 160,88, 150,29, 142,71, 137,37, 131,58, 130,97, 128,69, 128,51, 127,78, 127,75, 126,13, 124,37, 66,81, 61,60, 55,74, 55,21, 54,39, 53,30, 47,95, 43,21, 39,37, 37,50, 37,06, 36,49, 35,53, 31,70, 27,31, 24,95, 24,81, 22,14, 21,24, 18,60, 18,28, 16,28, 11,56; Masa (ESI) *m/z*: 872,4 (M⁺+H⁺), 894,4 (M⁺+Na).

Ejemplo 6.1

Síntesis de (2S,3R)2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamida



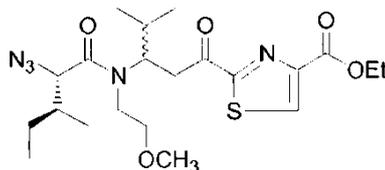
Se repitió el ejemplo 1.1 pero usando la amina de fórmula NH₂CH₂CH₂OCH₃ en vez de bencilamina. Al final de la síntesis, se aisló el compuesto (2S,3R)2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamida (74% de rendimiento).

$R_f = 0,27$ (*n*-hexano/acetato de etilo 7/3 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 6,62 (br s, 1H), 3,81 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,54 - 3,36 (m, 4H), 3,29 (d, $J = 30,7$ Hz, 3H), 2,15 - 1,95 (m, 1H), 1,50 - 1,34 (m, 1H), 1,32 - 1,13 (m, 1H), 1,00 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,88 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 168,89, 70,91, 69,92, 58,66, 39,05, 38,13, 24,25, 15,94, 11,40; Masa (ESI) m/z : 237,0 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

5

Ejemplo 6.2

Síntesis de 2-(3-((2S,3R)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-4-metilpentanoil)tiazol-4-carboxilato de etilo



10

Se repitió el ejemplo 1.2 pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 6.1 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 1.1. Se aisló el compuesto 2-(3-((2S,3R)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-4-metilpentanoil)tiazol-4-carboxilato de etilo (41% de rendimiento).

15

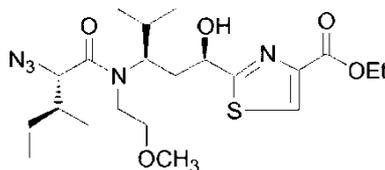
$R_f = 0,45$ (*n*-hexano/acetato de etilo 7/3 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,40 (s, 1H), 4,45 (m, 2H), 4,27 - 4,20 (m, 1H), 3,78 (dd, $J = 17,0, 4,2$ Hz, 1H), 3,67 - 3,36 (m, 6H), 3,26 (s, 3H), 2,34 - 2,18 (m, 1H), 2,15 - 2,05 (m, 1H), 1,80 - 1,65 (m, 2H), 1,43 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,02 - 0,81 (m, 12H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 191,60, 170,04, 166,88, 160,66, 148,54, 133,24, 122,09, 71,08, 65,63, 63,07, 61,55, 58,48, 46,55, 40,27, 35,09, 30,30, 24,85, 20,23, 19,48, 15,32, 15,05, 14,08, 10,39; Masa (ESI) m/z : 490,1 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

20

Ejemplo 6.3

Síntesis de 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxilato de etilo

25



30

Se repitió el ejemplo 1.3 pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 6.2 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 1.2. Se aisló 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxilato de etilo (77% de rendimiento).

35

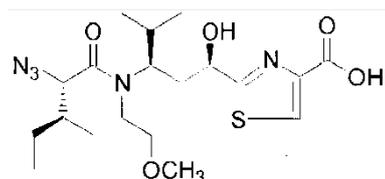
$R_f = 0,42$ (*n*-hexano/acetato de etilo 7/3 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,06 (s, 1H), 4,78-4,69 (m, 2H), 4,46 - 4,18 (m, 3H), 3,83 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H), 3,77 - 3,50 (m, 4H), 3,39 - 3,33 (m, 1H), 3,31 (s, 3H), 2,39 - 2,07 (m, 2H), 2,07 - 1,79 (m, 2H), 1,75 - 1,69 (m, 1H), 1,41 - 1,29 (m, 3H), 1,29 - 1,18 (m, 2H), 1,03 - 0,77 (m, 12H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 175,61, 172,48, 161,35, 146,79, 127,23, 127,15, 71,33, 68,76, 63,29, 60,99, 58,59, 39,03, 34,57, 29,60, 24,99, 20,28, 19,74, 15,67, 14,16, 10,37; Masa (ESI) m/z : 492,2 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

40

Ejemplo 6.4

Síntesis de ácido 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxílico

45



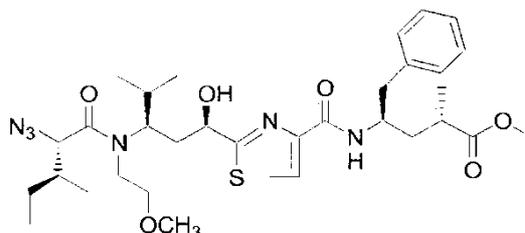
45

Se repitió el ejemplo 1.4 pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 6.3 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 1.3. Se aisló ácido 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)tiazol-4-carboxílico (75% de rendimiento).

$R_f = 0,35$ (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 8,28 (s, 1H), 4,80 - 4,72 (m, 1H), 4,05 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 3,81 - 3,45 (m, 5H), 3,35 (s, 3H), 2,47 - 2,24 (m, 1H), 2,19 - 1,89 (m, 3H), 1,81 - 1,67 (m, 1H), 1,38 - 1,23 (m, 1H), 1,08 - 0,86 (m, 12H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 179,27, 172,98, 164,15, 148,33, 129,03, 69,63, 64,56, 58,93, 4,21, 49,00, 48,79, 39,38, 36,30, 31,35, 26,04, 20,88, 15,95, 10,82; Masa (ESI) m/z : 464,1 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), 486,1 ($\text{M}^+ + \text{K}$).

Ejemplo 6.5

Síntesis de 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metil-pentil)tiazol-4-carboxamida)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo

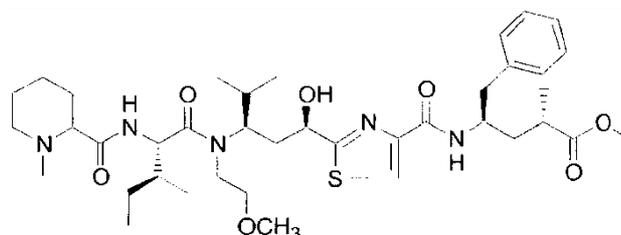


Se repitió el ejemplo 1.12 pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 6.4 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 1.4. Se aisló 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-azido-N-(2-metoxi-etil)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metil-pentil)-tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo (72% de rendimiento).

$R_f = 0,31$ (*n*-hexano/acetato de etilo 1:1 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,89 (s, 1H), 7,31 - 6,92 (m, 6H), 4,82 - 4,67 (m, 2H), 4,47 - 4,21 (m, 2H), 3,82 - 3,63 (m, 2H), 3,57 (s, 3H), 3,52 - 3,28 (m, 3H), 3,21 (s, 3H), 3,00 - 2,70 (m, 2H), 2,65 - 2,43 (m, 1H), 2,40 - 2,10 (m, 2H), 2,10 - 1,84 (m, 3H), 1,82 - 1,65 (m, 1H), 1,63 - 1,37 (m, 1H), 1,37 - 1,19 (m, 1H), 1,17 - 0,66 (m, 15H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 176,38, 175,04, 170,80, 160,64, 149,55, 137,45, 129,50, 128,23, 126,33, 122,85, 71,34, 68,63, 63,24, 58,49, 51,55, 48,23, 40,94, 39,18, 37,72, 36,39, 34,46, 29,76, 25,00, 20,41, 17,63, 15,66, 10,39; Masa (ESI) m/z : 651,3 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 673,3 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 6.6

Síntesis de 4-(2-((1R,3R)-1-hidroxi-3-((2S,3R)-N-(2-metoxietil)-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo

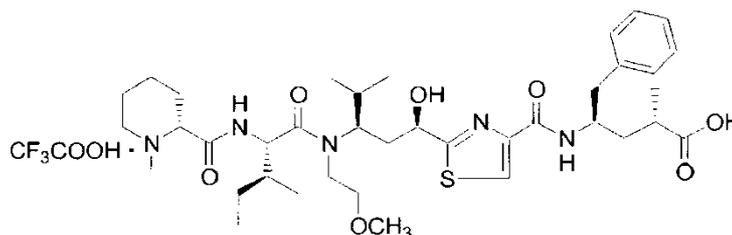


Se repitió el ejemplo 1.13 pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 6.5 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 1.12. Se aisló 4-(2-((1R,3R)-1-hidroxi-3-((2S,3R)-N-(2-metoxietil)-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo (77% de rendimiento).

$R_f = 0,32$ (diclorometano/metanol 95/5 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 8,02 (s, 1H), 7,33 - 7,02 (m, 5H), 4,89 - 4,74 (m, 2H), 4,42 - 4,29 (m, 2H), 3,80 - 3,65 (m, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,54 - 3,31 (m, 3H), 3,22 (s, 3H), 2,71 - 2,55 (m, 3H), 2,49 - 2,42 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,20 - 1,94 (m, 5H), 1,95 - 1,39 (m, 8H), 1,39 - 1,24 (m, 2H), 1,21 - 1,13 (m, 3H), 1,12 - 1,04 (m, 3H), 1,02 - 0,93 (m, 4H), 0,83-0,70 (m, 6H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 176,80, 174,30, 172,45, 169,54, 160,88, 150,29, 138,39, 129,26, 128,97, 126,91, 126,13, 71,55, 66,81, 62,88, 57,81, 55,73, 55,21, 54,39, 53,30, 52,17, 43,21, 42,53, 39,37, 38,44, 37,98, 37,14, 35,53, 31,70, 27,31, 24,95, 24,81, 22,14, 18,60, 17,86, 16,28, 11,56; Masa (ESI) m/z : 744,4 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 766,4 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 6.7

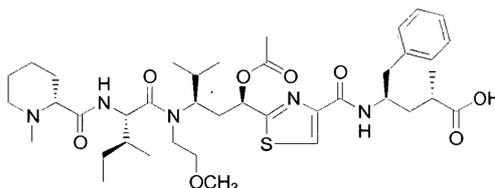
Síntesis de la sal del ácido trifluoroacético del ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-hidroxi-3-((2S,3R)-N-(2-metoxi-etil)-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamida)-4-metil-pentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico



Se repitió el ejemplo 1.14 pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 6.6 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 1.13. Rendimiento 87%; $R_f = 0,17$ (diclorometano/metanol 95/5 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 8,07 (s, 1H), 7,32 - 7,04 (m, 5H), 4,82 (m, 1H), 4,73 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 4,39 (m, 1H), 4,24 - 4,04 (m, 1H), 3,89 - 3,40 (m, 4H), 3,37 (s, 3H), 3,21 (s, 3H), 3,16 - 2,99 (m, 1H), 2,98 - 2,87 (m, 2H), 2,80 (s, 3H), 2,69 - 2,50 (m, 2H), 2,44 - 2,25 (m, 1H), 2,28 - 1,50 (m, 12H), 1,24 - 0,70 (m, 15H), RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 179,61, 174,30, 172,45, 169,54, 160,88, 160,60 (q, $J = 38,4$ Hz), 150,29, 138,39, 129,26, 128,97, 126,91, 126,13, 118,96 (q, $J = 38,4$ Hz), 71,55, 66,81, 62,88, 57,81, 55,73, 55,21, 54,39, 53,30, 43,21, 42,53, 39,37, 37,98, 37,50, 37,06, 35,53, 31,70, 27,31, 24,95, 24,81, 22,14, 18,60, 18,28, 16,28, 11,56; Masa (ESI) m/z : 731,4 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 753,4 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 6.8

Síntesis de ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-acetoxi-3-((2S,3R)-N-(2-metoxietil)-3-metil-2-(1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-metilpentil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico



Se repitió el ejemplo 1.15 pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 6.7 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 1.14. Rendimiento 78%; $R_f = 0,28$ (diclorometano/metanol 95/5 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 8,07 (s, 1H), 7,31 - 7,05 (m, 5H), 5,84 (d, $J = 12,7$ Hz, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,23 (m, 2H), 3,70 - 3,61 (m, 2H), 3,22 (s, 3H), 3,12 - 3,06 (m, 1H), 2,99 - 2,88 (m, 3H), 2,57 - 2,48 (m, 2H), 2,42 - 2,30 (m, 5H), 2,22 (s, 3H), 2,09 - 1,81 (m, 5H), 1,83 - 1,51 (m, 6H), 1,39 - 1,30 (m, 1H), 1,26 - 1,09 (m, 4H), 1,03 (d, $J = 17,3$, 3H), 1,01 - 0,87 (m, 6H), 0,84 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 171,97, 171,69, 162,78, 150,98, 139,68, 130,57, 129,38, 127,44, 73,08, 71,40, 69,83, 59,16, 56,44, 55,09, 51,05, 44,37, 41,99, 38,03, 36,27, 31,63, 31,24, 28,03, 25,62, 25,57, 23,69, 21,06, 20,92, 20,53, 18,78, 16,41, 11,03, 11,02; Masa (ESI) m/z : 772,4 ($\text{M}^+ + \text{H}^+$), 794,4 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 7

Síntesis del compuesto conjugado (compuesto del ejemplo 1.15)-(Ala-Leu-Ala-Leu- β Ala- β Ala-Cys-Asn-Gly-Arg-Cys-Gly-Val-Arg-TyrCOOH)

7a: Síntesis de la biomolécula sobre resina $\text{NH}_2\beta$ Ala- β Ala-Cys-Asn-Gly-Arg-Cys-Gly-Val-Arg-TyrCOO-Resina

La síntesis peptídica sobre resina se llevó a cabo con un instrumento automático (Abi-433 Applied Biosystems) usando una resina de poliestireno funcionalizada con un ligador cloruro de Cl-tritilo y precargada con 300 microequivalentes de tirosina, teniendo la resina 0,5 meq de sitios activos/g de resina. La síntesis se llevó a cabo para obtener 300 μmoles de péptido.

La síntesis fue del tipo FastMoc (Fmoc-tBu), y se llevó a cabo según Aterton E. y Sheppard R.C. (1987) en Udenfriend S y Meienhofer J (eds) The Peptides, vol. 9: 1-39, Academic Press, San Diego, CA, y por Fields G.B. e Noble R.L. (1990) en Int. J. Peptide Protein Res., 35: 161-214. Como activador, se usó tetrafluoroborato de O-(Benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU). Las otras condiciones de reacción adoptadas fueron:

- exceso de agentes reaccionantes para el "acoplamiento" x 4;
- relación molar entre aminoácido/activador/DIPEA 1/1/2;
- agente reaccionante DeFmoc: piperidina en dimetilformamida (DMF) 20%.

7b: Síntesis del péptido (ligador) sobre resina NH_2 -Ala-Leu-Ala-Leu-COO-resina

La síntesis peptídica sobre resina se llevó a cabo con un instrumento automático (Abi-433) usando una resina de poliestireno funcionalizada con el ligador cloruro de Cl-tritilo y precargada con leucina, teniendo la resina 0,5 meq de sitios activos/g de resina. La síntesis se llevó a cabo para obtener 300 μ moles de péptido.

5 La síntesis fue del tipo FastMoc (Fmoc-tBu) y se llevó a cabo en las mismas condiciones adoptadas en el ejemplo 7a.

7c: Síntesis del compuesto conjugado T-L₁ (compuesto del ejemplo 1.15)-(Ala-Leu-Ala-Leu-COOH)

10 A una disolución en DMF (200 μ l) del compuesto obtenido en el ejemplo 1.15 (35 mg, 0,043 mmoles), se le añaden TBTU (14 mg, 0,043 mmoles) y DIPEA (15 μ l). La disolución obtenida se añade al compuesto NH₂-Ala-Leu-Ala-Leu-COO-resina preparado en el ejemplo 7b (43 mg, 0,0215 mmoles), suspendido en DMF (200 μ l). La agitación se continuó durante 18 horas.

15 El compuesto conjugado se separa entonces de la resina añadiendo hexafluoropropanol, se precipita en TBME (terc-butilmetil éter), el sólido se recupera mediante centrifugación y se lava diez veces con TBME.

7d: Síntesis del compuesto conjugado T-L₁-G_{1c} (compuesto del ejemplo 1.15)-(Ala-Leu-Ala-Leu- β Ala- β Ala-Cys-Asn-Gly-Arg-Cys-Gly-Val-Arg-TyrCOOH)

20 A una disolución en DMF (200 μ l) del compuesto conjugado (compuesto de Ejemplo 1.15)-(Ala-Leu-Ala-Leu-COOH) (0,0215 mmoles), obtenido en el ejemplo 7c, se le añaden TBTU (7 mg) y DIPEA (7,5 μ l). La disolución resultante se añade a una suspensión en DMF (200 μ l) del compuesto NH₂ β Ala- β Ala-Cys-Asn-Gly-Arg-Cys-Gly-Val-Arg-TyrCOO-Resina (25 mg, 0,0107 mmoles) obtenido en el ejemplo 7a, y se agita durante 18 horas.

25 El péptido se separa entonces de la resina, y se desprotege en las cadenas laterales usando una mezcla de ácido trifluoroacético al que se añade fenol (depurador). La eliminación también se lleva a cabo usando, en vez de fenol, otros depuradores como agua, tioanisol o etanditiol, triisopropilsilano. El péptido se precipita entonces en terc-butilmetil éter, el sólido se recupera mediante centrifugación y se lava diez veces con TBME. El producto se purifica entonces mediante HPLC semipreparativa de fase inversa (RP-HPLC), en las siguientes condiciones: columna semipreparativa Fenomenex, modelo Jupiter 10 micron Proteo 90 A, tamaño 20 x 250 mm; Eluyente A: 97% de agua, 3% de acetonitrilo + ácido trifluoroacético 1/1000; Eluyente B: 30% de agua, 70% de acetonitrilo + ácido trifluoroacético 1/1000; la columna se eluyó con una mezcla de los dos disolventes, según un gradiente de elución lineal, desde una mezcla inicial a 80% v de A hasta una mezcla final que contiene 20% v de A, en un tiempo de 50 minutos.

35 El plegamiento oxidativo (formación de puentes de S-S) se llevó a cabo en las siguientes condiciones: disolución peptídica: 0,2 mM en tampón TRIS 20 mM pH 7,5, agente oxidante: H₂O₂, estequiometría de la reacción: 2 μ moles de H₂O₂/1 μ M de péptido. El "plegamiento oxidativo" se controló mediante RP-HPLC analítica usando las mismas condiciones cromatográficas dadas a conocer anteriormente, pero el gradiente de elución lineal usado fue desde 80% v de A (inicial) hasta 20% v de A (final) en 14 minutos. El tiempo de retención del compuesto fue de 12,439 minutos.

40 El plegamiento se terminó después de 60 minutos. La reacción se siguió valorando los grupos SH residuales con DTNB (ácido 5,5'-ditio-bis(2-nitrobenzoico)). El péptido se sometió a RP-HPLC semipreparativa en las mismas condiciones dadas anteriormente, y después se liofilizó, obteniendo 18 mg de producto (37% de rendimiento, calculado basándose en el acoplamiento con NH₂-Ala-Leu-Ala-Leu-COO-resina).

45 MASA (ESI) *m/z*: 1167, 9 (M+2H⁺), 778,6 (M+3H⁺).

50 **Ejemplo 8**

Síntesis del compuesto conjugado (compuesto del Ejemplo 1.15)-(Gly-Phe-Leu-Gly- β Ala- β Ala-Cys-Asn-Gly-Arg-Cys-Gly-Val-Arg-TyrCOOH)

55 8a: Síntesis del péptido (ligador) sobre resina NH₂-Gly-Phe-Leu-Gly-COO-resina

La síntesis peptídica sobre la resina se llevó a cabo con un instrumento automático (Abi-433) usando una resina de poliestireno funcionalizada con un ligador de cloruro de Cl-tritilo y precargada con glicina. La resina se caracteriza por 0,5 meq de sitios activos/g. La síntesis se llevó a cabo para obtener 300 μ moles de péptido.

La síntesis fue del tipo FastMoc (Fmoc-tBu), y se llevó a cabo en las mismas condiciones usadas en el ejemplo 7a.

60 8b: Síntesis del compuesto conjugado T-L₁ (compuesto de fórmula (A) del ejemplo 1.15)-(Gly-Phe-Leu-Gly-COOH)

65

Se repitió el ejemplo 7c, pero usando la resina obtenida en el ejemplo 8a en vez del compuesto NH₂-Ala-Leu-Ala-Leu-COO-resina, preparado en el ejemplo 7b.

5 8c: Síntesis del compuesto conjugado T-L₁-G_{1c} (el compuesto de fórmula (A) del ejemplo 1.15)-(Gly-Phe-Leu-Gly-βAla-βAla-Cys-Asn-Gly-Arg-Cys-Gly-Val-Arg-TyrCOOH)

Se repitió el ejemplo 7d pero usando el compuesto conjugado preparado en el ejemplo 8b en vez del obtenido en el ejemplo 7c. Rendimiento 38% calculado basándose en el acoplamiento con NH₂-Gly-Phe-Leu-Gly-COO-resina.

10 MASA (ESI) *m/z*: 1170,9 (M+2H⁺), 780,6 (M+3H⁺).

Ejemplo 9

Preparación de nanopartículas de polilactato-poliglicolato que contienen el compuesto del ejemplo 1.15

15 Se disolvieron 10 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 1.15 y 100 mg del copolímero PLA-PLGA 50:50 que tiene un peso molecular promedio de 40.000-75.000, comercializado por Sigma Aldrich®, en 4 ml de diclorometano. La disolución orgánica obtenida se emulsionó en 8 ml de una disolución acuosa al 5% en peso de Solutol® HS15 (BASF®) mediante tratamiento durante 30 minutos con un emulsionante ultraturax Politron® (10,000 rpm con una sonda de 7 mm).

20 El disolvente orgánico (diclorometano) se separó entonces de la emulsión calentando hasta 50°C en un evaporador giratorio. Se obtuvo una dispersión acuosa de partículas de PLA-PLGA que contienen el compuesto del ejemplo 1.15. La dispersión acuosa se sometió a tres ciclos de lavado centrifugando con tubos de ensayo de centrifuga AMICON™, que tienen membranas de corte con 100.000 de MWCO. Cada ciclo de lavado se llevó a cabo a 4.000 rpm durante 20 minutos, añadiendo cada vez 15 ml de agua destilada en el compartimento superior de los tubos de ensayo que contienen las nanopartículas.

25 Al final de los lavados, la dispersión acuosa de partículas se liofilizó en las siguientes condiciones: temperatura: -40°C, presión: 5 x 10⁻² mbares, duración: 24 horas.

30 Las nanopartículas obtenidas se caracterizaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM), y por espectroscopía de correlación de fotones (PCS). Los diámetros promedio de las nanopartículas fueron los siguientes: 120 ± 25 nm (TEM), 146 ± 10 nm (PCS).

35 El contenido de principio activo englobado en las partículas se determinó solubilizando en diclorometano una cantidad conocida de la muestra final y analizando después mediante espectrofotometría de UV/visible la disolución orgánica. La cantidad de compuesto del ejemplo 1.15 determinada en la muestra de las nanopartículas liofilizadas fue igual al 58% de la disuelta inicialmente en diclorometano.

40

Ejemplo 10

Preparación de las nanopartículas de polilactato-poliglicolato que contienen el compuesto del ejemplo 6.8

45 Se repitió el procedimiento dado en el ejemplo 9, pero usando:

- el compuesto de fórmula (A) obtenido en el ejemplo 6.8 en vez del compuesto preparado en el ejemplo 1.15,
- alcohol polivinílico en vez del Solutol® HS15.

50 Las etapas de preparación fueron las mismas que las dadas en el ejemplo anterior. La caracterización ha proporcionado los siguientes resultados: el diámetro promedio de las partículas fue 135 ± 20 nm (TEM), 157 ± 17 nm (PCS), la cantidad de compuesto de ejemplo 6.8 contenido en las partículas fue igual al 60% de la disuelta inicialmente en diclorometano.

55

Ejemplo 11

Preparación de nanopartículas lipídicas (tripalmitina) que contienen compuesto obtenido en el ejemplo 1.15

60 Se mezclaron 50 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 1.15 con 1 g de tripalmitina (DYNASAN® 116, Sasol) a la temperatura de 70°C. La fase oleosa se emulsionó entonces a la misma temperatura con una disolución acuosa de 4 g de Solutol® HS15 en 60 ml de agua destilada (60 ml), con agitación por medio de un turboemulsionador ultraturax Politron a 8.000 rpm durante 20 minutos. La emulsión obtenida se enfrió hasta la temperatura ambiente. Se formó una dispersión que tiene una base acuosa lipídica (tripalmitina) que contiene el compuesto del ejemplo 1.15, estabilizada mediante el tensioactivo Solutol® HS15. La dispersión se sometió entonces a 4 ciclos de tratamiento en un dispositivo Microfluidics 110S (homogeneizador de alta presión) a la presión de 120 psi.

65

La dispersión obtenida se caracterizó mediante espectroscopía de correlación de fotones (PCS). Los diámetros promedio determinados para las partículas lipídicas fueron de 160 ± 15 nm.

5 La dispersión acuosa se sometió a tres ciclos de lavado mediante centrifugación usando tubos de ensayo de centrífuga AMICON que tienen una membrana de corte con 100.000 MWCO. Cada ciclo de lavado se llevó a cabo a 4.000 rpm durante 20 minutos, añadiendo cada vez 15 ml de agua destilada en el compartimento superior de los tubos de ensayo, que contienen las nanopartículas.

10 Al final del procedimiento de lavado, la dispersión acuosa se liofilizó en las siguientes condiciones: temperatura -40°C , presión 5×10^{-2} mbares, tiempo 24 horas.

15 El contenido del compuesto de ejemplo 1.15 englobado en las nanopartículas se determinó como se describe en el ejemplo 9. La cantidad de compuesto contenida en la muestra liofilizada de nanopartículas es igual al 40% de la solubilizada inicialmente en tripalmitina.

Ejemplo 12

20 Preparación de partículas de (cianoacrilato de MePEG -co-cianoacrilato de alquilo) que contienen el compuesto del ejemplo 1.15

a. Preparación de (polietilenglicol metiléter) cianoacetato de MePEG

25 La reacción de esterificación de MePEG se llevó a cabo en una atmósfera inerte (argón), añadiendo a una disolución de ácido cianoacético (0,9357 g) y de MePEG (11 g) en 25 ml de diclorometano anhidro, 5 ml de diclorometano anhidro que contiene 2,2696 g de dicitlohexilcarbodiimida (DCC) y 50 mg de 4-(dimetilamino)piridina (DMAP). La mezcla de reacción se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente. El residuo sólido se separó mediante filtración a vacío y se lavó con diclorometano (3 x 20 ml). El filtrado se concentró a presión reducida, obteniendo un producto de color amarillo pálido, viscoso, que se purificó subsiguientemente mediante cristalización en isopropanol. Tras la recristalización, se obtuvieron 11 g de un sólido de color beige.

b. Preparación de cianoacetato de hexadecilo

35 La reacción de esterificación de hexadecanol se llevó a cabo en una atmósfera inerte (argón). A una disolución de ácido cianoacético (7,4853 g) y de hexadecanol (10,6674 g) en 50 ml de diclorometano anhidro y 5 ml de acetato de etilo, se le añadieron 50 ml de diclorometano anhidro que contiene 9,9864 g de dicitlohexilcarbodiimida (DCC) y 50 mg de 4-(dimetilamino)piridina (DMAP). La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Después se añadieron 50 ml de hexano anhidro. El residuo sólido formado se separó mediante filtración a vacío y se lavó con n-hexano (70 ml). El filtrado se concentró a presión reducida hasta obtener un sólido amarillo amorfo, que se purificó subsiguientemente mediante cromatografía ultrarrápida (ligroina/acetato de etilo 9/1 v/v), produciendo 14 g de un sólido blanco.

c. Copolimerización

45 La reacción de condensación de los dos ésteres se llevó a cabo en una atmósfera inerte (argón). A una disolución de cianoacetato de hexadecilo (1,238 g) y cianoacetato de MePEG (2,067 g) en 10 ml de etanol absoluto y 20 ml de diclorometano anhidro, se le añadieron 2 ml de formalina al 37% p/v y 1 ml de dimetilamina al 40% p/v. La reacción se llevó a cabo con agitación magnética durante 25 horas a temperatura ambiente, y la mezcla obtenida se concentró a presión reducida hasta que se obtuvo un sólido ceroso amarillo. El compuesto se dispersó en agua y se extrajo con diclorometano. El disolvente orgánico se recuperó, se deshidrató sobre sulfato de sodio y se secó a presión. Se obtuvieron 3,4 g de poli(cianoacrilato de MePEG-co-cianoacrilato de alquilo) como un sólido ceroso de color amarillo pálido.

d. Preparación de partículas

55 Se disolvieron 30 mg de poli(cianoacrilato de MePEG-co-cianoacrilato de alquilo) y 5 mg del compuesto de ejemplo 1.15 en 6 ml de acetona. La disolución orgánica se añadió gota a gota a 12 ml de agua destilada con agitación magnética. El disolvente orgánico se separó entonces mediante evaporación, obteniendo una dispersión acuosa de nanopartículas, que se liofilizó en las siguientes condiciones: temperatura -40°C , presión 5×10^{-2} mbares, tiempo 24 horas.

60 Las nanopartículas obtenidas se caracterizaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y espectroscopía de correlación de fotones (PCS). Los diámetros promedio fueron de 175 ± 20 nm (TEM) y 193 ± 10 nm (PCS).

65

El contenido de principio activo englobado en las partículas se determinó solubilizando en acetona una cantidad conocida de la muestra final y analizando mediante espectrofotometría de UV/visible la disolución orgánica. La cantidad del compuesto de ejemplo 1.15 determinada en la muestra liofilizada de nanopartículas es igual al 55% con respecto a la disuelta inicialmente en acetona.

5

Ejemplo 13

Preparación de nanopartículas lipídicas de lecitina con un núcleo líquido, que contiene el compuesto del ejemplo 6.8

10 Se mezclaron 2,65 g de disolución acuosa al 3% en peso de NaCl, 1,1 g de Miglyol® 812S, 1,25 g de una mezcla de tensoactivos formados de Solutol® HS15 y lecitina de soja (Epikuron 200) en una relación 5:1 p/p, y 0,005 g del compuesto de ejemplo 6.8 a la temperatura de 70°C. Se añadió gota a gota (1 gota/segundo) la fase líquida oleosa obtenida a la misma temperatura a 50 ml de agua destilada mantenida a 4°C con agitación continua por medio de un Ultraturrax Politron® a una velocidad de 7.000 rpm. Al final de la adición, la dispersión que contiene las nanopartículas se dejó con agitación a 4°C durante otros 15 minutos. Subsiguientemente, la dispersión se sometió a ultrasonidos durante 5 minutos y después se filtró sobre filtros de PTFE de 0,45 micrómetros.

15

20 Las nanopartículas se separaron del medio acuoso mediante centrifugación en un filtro de centrifuga "Amicon® Ultra" (corte de 100.000 MWCO), usando cuatro ciclos de lavado (30 minutos, 4.000 rpm, 4°C). Al final de los ciclos de lavado, las nanopartículas se habían redispersado en agua y se sometieron a ultrasonidos durante diez minutos. La dispersión acuosa de nanopartículas se liofilizó en las siguientes condiciones: temperatura -40°C, presión 5×10^{-2} mbares, tiempo 24 horas.

20

25 Las nanopartículas se caracterizaron mediante espectroscopía de correlación de fotones (PCS). Los diámetros promedio de las partículas fueron de 65 ± 10 nm.

25

30 El contenido de principio activo englobado en las partículas se determinó solubilizando en diclorometano una cantidad conocida de la muestra final y analizando mediante espectrofotometría de UV/visible la disolución orgánica. La cantidad de compuesto de fórmula (A) determinada en la muestra liofilizada de nanopartículas es igual al 45% con respecto a la añadida a la fase oleosa de partida.

30

Ejemplo 14

35 Ensayos in vitro para evaluar la citotoxicidad de los compuestos de fórmula (A)

35

Los efectos citotóxicos de los compuestos de fórmula (A) se evaluaron tratando 3 estirpes celulares con diferentes concentraciones de los compuestos bajo cribado. Se usaron las siguientes estirpes celulares: A2780 (carcinoma ovárico humano), HL60 (leucemia humana), C6 (glioma de rata) y HT29 (adenocarcinoma de colon humano). Las estirpes celulares se obtuvieron de la ECACC (Colección Europea de Cultivos Celulares).

40

45 Las estirpes celulares se cultivaron en matraces de 75 cm² con medio de cultivo DMEM (Medio de Eagle Modificado Dulbecco, Sigma Aldrich®) y los siguientes aditivos (Sigma Aldrich®): L-glutamina 2 mM, suero fetal bovino al 10%, penicilina/estreptomina, fungizona, gentamicina. La incubación se llevó a cabo en incubadoras de atmósfera modificada (37°C, 5% de CO₂). Cuando se obtuvo la confluencia celular, las células se propagaron mediante dilución en una relación 1:3/1:5 usando una disolución 1X de tripsina-EDTA, y después se transfirieron a placas de 96 pocillos en el medio de cultivo adecuado. Las células se trataron entonces durante 72 horas con diferentes concentraciones (10^{-13} ÷ 10^{-4} M) de los compuestos bajo examen. Para los ensayos in vitro, los compuestos obtenidos en los ejemplos 1.15 y 6.8 se solubilizaron en dimetilsulfóxido (DMSO). Todos los ensayos se llevaron a cabo con una concentración constante de DMSO igual a 0,1% en peso.

50

55 A fin de controlar la viabilidad celular, se usó en ensayo de ATPlite (Perkin Elmer). El ensayo de ATPlite evalúa la producción de ATP. El APT es un marcador de la viabilidad celular, ya que está presente en todas las células metabólicamente activas. El ensayo se basa en la quimioluminiscencia debida a la reacción de ATP con la luciferasa y la D-luciferina. La luz emitida es proporcional a la concentración de ATP. Para la lectura, se usó el Victor 3 de Perkin Elmer.

55

60 Para cada disolución de muestra se tomaron cuatro lecturas. Los resultados (valores promedio) para la citotoxicidad de los compuestos de fórmula (A) obtenidos en los ejemplos 1.15 y 6.8 se dan respectivamente en las Tablas 1 y 2. Se señala que los valores de GI₅₀ determinados por medio de los valores de la viabilidad celular son menores que 2 nM. Esto confirma la elevada citotoxicidad del compuesto de fórmula (A).

60

Los valores de citotoxicidad elevados encontrados anteriormente son un índice de que las tubulinas de este ejemplo están provistas de propiedades antimitóticas y/o antiangiogénicas.

65

Tabla 1

Evaluación de la citotoxicidad del compuesto de fórmula (A) obtenido en el ejemplo 1.15 mediante la determinación de la viabilidad celular (ensayo de ATPlite de Perkin Elmer)											
Estirpe celular	Concentración del compuesto del ejemplo 1.15 (mol/litro)										GI ₅₀ x 10 ⁻⁹ (moles/litro)
	10 ⁻¹³	10 ⁻¹²	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	
HL60	98,98	34,26	22,65	8,29	3,66	2,94	2,69	2,99	2,57	0,47	0,0004
HT29	104,5	103,2	102,2	99,08	20,77	17,55	16,85	15,43	14,55	15,14	0,3122
A2780	100,1	65,66	32,71	25,04	25,08	11,78	10,60	9,60	7,23	3,10	0,0018

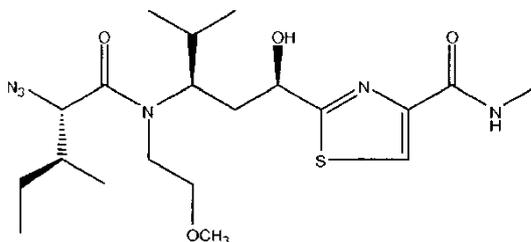
Tabla 2

Evaluación de la citotoxicidad del compuesto de fórmula (A) obtenido en el ejemplo 6.8 mediante la determinación de la viabilidad celular (ensayo de ATPlite de Perkin Elmer)											
Estirpe celular	Concentración del compuesto del ejemplo 6.8 (mol/litro)										GI ₅₀ x 10 ⁻⁹
	10 ⁻¹³	10 ⁻¹²	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	
HL60	100,9	102,0	56,38	3,53	1,36	1,04	1,14	1,25	1,22	0,75	0,0108
HT29	108,0	107,5	115,6	95,7	24,49	20,38	17,68	18,08	11,46	11,55	0,2781
A2780	104,0	104,1	109,7	106,7	64,56	22,80	9,11	9,11	8,41	3,08	1,537
C6	101,2	99,13	96,68	64,15	39,57	25,60	20,70	19,58	20,19	19,10	0,1471

5 Ejemplo 15 Comparativo

Ejemplo 15.1

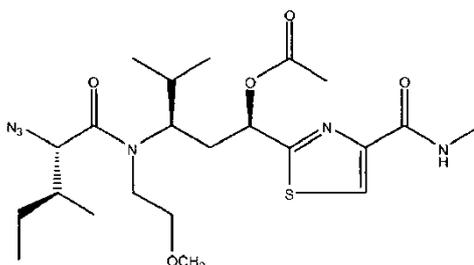
10 Síntesis de 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)-N-metiltiazol-carboxamida



15 A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 6.4 (0,2 mmoles, 88 mg) en DMF (5 ml) se le añadieron, en orden, HOAt (0,22 mmoles, 30 mg), HATU (0,22 mmoles, 84 mg) y Et₃N (0,42 mmoles, 58 μl). Después de agitar durante 5 minutos, se añadió hidrocloreuro de metilamina (0,22 mmoles, 15 mg). La mezcla de reacción se agitó durante otras 4 horas. Al final, la mezcla de reacción se diluyó con H₂O (10 ml) y se extrajo con Et₂O (3 x 5 ml). Las fases orgánicas se reunieron y se lavaron, en orden, con disolución acuosa 1N de HCl (1 x 10 ml), con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (1 x 10 ml) y con salmuera (1 x 10 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar 90 mg (99% de rendimiento) de 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metil-pentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)-N-metiltiazol-4-carboxamida pura. R_f = 0,35 (éter de petróleo/acetato de etilo 1/1 volumen/volumen).

Ejemplo 15.2

25 Síntesis de acetato de (1R,3R)-3-((2S,3S)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-4-metil-1-(4-(metilcarbamoil) tiazol-2-il)pentilo

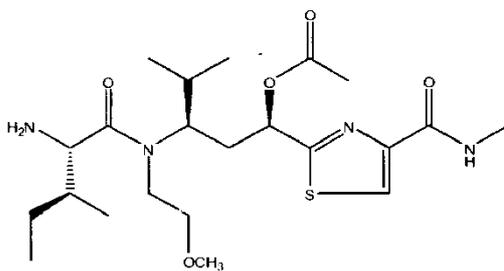


30

A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 15.1 (0,2 mmoles, 90 mg) en diclorometano (8 ml), mantenida con agitación, se le añadieron anhídrido acético (1 mmol, 94 μ l), piridina (0,5 mmoles, 40 μ l) y una cantidad catalítica de DMAP. La agitación se continuó durante 3 horas. Al final, la mezcla de reacción se diluyó con H₂O (10 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 5 ml). Las fases orgánicas se reunieron y se lavaron, en orden, con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (1 x 10 ml), con una disolución acuosa 1N de HCl (1 x 10 ml) y con salmuera (1 x 10 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar 92 mg (93% de rendimiento) de acetato de (1R,3R)-3-((2S,3S)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-4-metil-1-(4-(metilcarbamoil)tiazol-2-il)pentilo. R_f = 0,32 (éter de petróleo/acetato de etilo 1/1 volumen/volumen).

10 Ejemplo 15.3

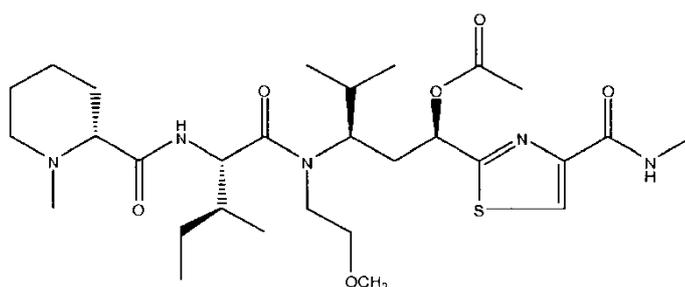
Síntesis de acetato de (1R,3R)-3-((2S,3S)-2-amino-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-4-metil-1-(4-(metilcarbamoil)tiazol-2-il)pentilo.



A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 15.2 (0,18 mmoles, 92 mg) en metanol (10 ml) se le añadieron subsiguientemente, con agitación, una cantidad catalítica de paladio sobre carbón al 10% y ácido fórmico (3,7 mmoles, 0,14 ml). La agitación se continuó durante 1 hora en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción se filtró a través de celita, y el disolvente se eliminó a vacío. El producto bruto se solubilizó en diclorometano (10 ml) y se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (1 x 10 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío. Se recuperaron 46 mg (52% de rendimiento) de acetato de (1R,3R)-3-((2S,3S)-2-amino-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-4-metil-1-(4-(metilcarbamoil)tiazol-2-il)pentilo. R_f = 0,30 (cloroformo/metanol 97:3 volumen/volumen).

25 Ejemplo 15.4

Síntesis de acetato de (1R,3R)-3-((2S,3S)-N-(2-metoxietil)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-metil-1-(4-(metilcarbamoil)tiazol-2-il)pentilo



A una suspensión de ácido N-metilpípecolínico (0,15 mmoles, 21 mg) en diclorometano (5 ml) se le añadieron subsiguientemente, en orden, HOAt (0,11 mmoles, 15 mg), HATU (0,11 mmoles, 42 mg) y Et₃N (0,21 mmoles, 29 μ l). Después de agitar durante 5 minutos, se añadió una disolución en diclorometano (1 ml) del compuesto obtenido en el ejemplo 15.3 (0,1 mmoles, 46 mg). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas. Al final, el diclorometano se eliminó a vacío. El producto bruto se disolvió en acetato de etilo (10 ml) y se lavó, en orden, con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (1 x 10 ml) y con salmuera (1 x 10 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (eluyente cloroformo:metanol 97:3 volumen/volumen). Se aislaron 58 mg (99% de rendimiento) de 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-azido-N-(2-metoxietil)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-4-metilpentil)-N-metilthiazol-4-carboxamida pura. R_f = 0,37 (cloroformo/metanol 97:3 volumen/volumen). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 8,07 (s, 1H), 7,62 (m, 1H), 7,57 (m, 1H), 5,75 (dd, 1H), 4,61 (dd, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,70-3,48 (m, 4H), 3,22 (s, 3H), 3,20-3,08 (m, 1H), 2,92 (m, 3H), 2,88-2,78 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 2,2-2,09 (m, 6H), 2,09-1,81 (m, 5H), 1,69-1,48 (m, 5H), 1,39-1,30 (m, 1H), 1,26-1,09 (m, 1H), 1,08-0,86 (m, 12H).

Ejemplo 15.5 Comparativo

El compuesto obtenido en el ejemplo 15.4 Comparativo se ha evaluado en el mismo ensayo *in vitro* descrito en el ejemplo 14, usando la estirpe celular HL60, determinando la viabilidad celular hasta 10^{-10} moles/litro.

Se obtuvieron valores de viabilidad celular de 99,8 y 96% a una concentración de 10^{-11} moles/litro y 10^{-10} moles/litro, respectivamente.

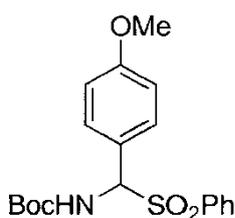
Las Tablas 1 y 2 muestran que, a las concentraciones anteriores, usando los compuestos de la presente invención, la viabilidad celular está notablemente por debajo de 99,8 y 96%, respectivamente. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención son notablemente más citotóxicos que el compuesto del ejemplo comparativo.

La citotoxicidad, expresada como GI_{50} , fue de 1×10^{-8} moles/litro.

Se observó que la citotoxicidad en la misma estirpe celular de los compuestos de la presente invención fue al menos de $1,08 \times 10^{11}$ moles/litro. Véase la Tabla 2 de la descripción. Por lo tanto, el compuesto del ejemplo 15.4 comparativo es 10^3 veces menos tóxico que los compuestos de la presente invención.

EJEMPLO 16 Comparativo**Ejemplo 16.1**

Síntesis de (4-metoxifenil)-(fenilsulfonil)-metilcarbamato de terc-butilo



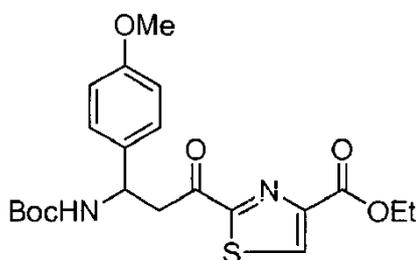
A una disolución de carbamato de terc-butilo (12,7 mmoles, 1,5 g) en una mezcla de MeOH/agua 2/1 volumen/volumen (30 ml), se le añaden, en orden, p-anisaldehído (25,5 mmoles, 3,1 ml), bencenosulfonato de sodio (25,5 mmoles, 4,2 g) y ácido fórmico (25,5 mmoles, 0,96 ml). La mezcla de reacción se mantiene con agitación durante 12 horas. El sólido precipitado se filtra, se lava con agua y se seca.

Se obtienen 3,09 g de (4-metoxifenil)-(fenilsulfonil)-metilcarbamato de terc-butilo (64% de rendimiento).

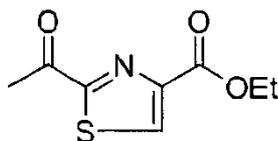
RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8,06-6,84 (m, 9H), 5,84 (br s, 1H), 3,88 (s, 1H), 3,81 (s, 3H), 1,25 (s, 9H); RMN ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 161,24, 153,89, 134,17, 132,36, 130,58, 129,85, 129,37, 122,25, 114,73, 114,65, 55,72, 28,37.

Ejemplo 16.2

Síntesis de 2-(3-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4-(metoxifenil)propanoilo)tiazol-4-carboxilato de etilo



A una suspensión de hidruro de sodio al 60% (p/p) en aceite mineral (8,3 mmoles, 332 mg) en THF anhidro (20 ml), se le añade una disolución en THF anhidro del compuesto acetiltiazólico de la siguiente fórmula (5,0 mmoles en 10 ml de THF) (2-acetil-tiazol-4-carboxilato de etilo)

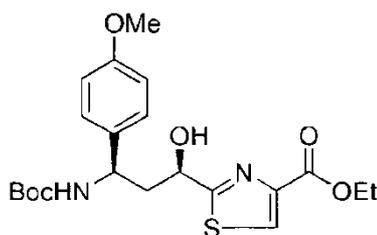


El compuesto se ha preparado mediante el método descrito en Angew. Chem. Int. Ed., 46, 2007, 3526-3529. La mezcla de reacción se mantiene con agitación durante 15 minutos y después se añade gotea en 30 minutos una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 16.1 en THF anhidro (3,3 mmoles en 10 ml de THF). La mezcla de reacción se agita durante 2 horas. Después, se añade una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (50 ml), y la fase orgánica se extrae con acetato de etilo (3 x 30 ml). Los extractos orgánicos se secan sobre Na₂SO₄, la mezcla se filtra y el disolvente se evapora a una presión reducida. El producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en n-hexano/acetato de etilo 70/30 volumen/volumen. Se obtienen 740 mg de 2-(3-(terc-butoxi-carbonilamino)-3-(4-(metoxifenil)propilo)-tiazol-4-carboxilato de etilo (52% de rendimiento).

R_f = 0,35 (n-hexano/acetato de etilo 65/35 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,40 (s, 1H), 7,50 - 6,62 (m, 4H), 5,26 (br s, 1H), 4,44 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 1,42 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,38 (s, 9H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 191,79, 167,45, 161,14, 159,27, 157,18, 155,35, 149,04, 133,82, 128,02, 114,39, 80,02, 62,25, 55,65, 51,03, 45,24, 28,70, 14,72; Masa (ESI): m/z 457,0 (M⁺+Na).

Ejemplo 16.3

Síntesis de 2-((1R,3R)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propil)tiazol-4-carboxilato de etilo

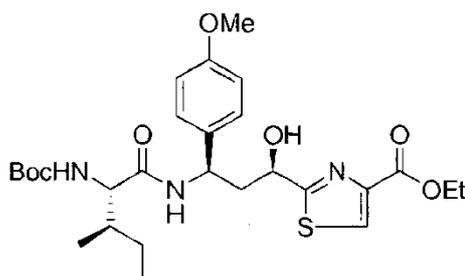


A una disolución del catalizador quiral (S)-CBS (0,24 mmoles, 68 mg) en THF anhidro (10 ml) se le añade una disolución 10 M de BH₃-Me₂S (2,2 mmoles, 221 μl). La temperatura de la fase líquida se reduce hasta 0°C, y se añade una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 16.2 (2,2 mmoles) en THF anhidro (5 ml). La mezcla de reacción se agita durante una hora a 0°C y después 4 horas a temperatura ambiente. Al final se añade metanol (1 ml), los disolventes se evaporan a una presión reducida, y el producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en n-hexano/acetato de etilo 7/3 volumen/volumen. Se obtienen 495 mg del compuesto de 2-((1R,3R)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propil)tiazol-4-carboxilato de etilo (51% de rendimiento).

R_f = 0,29 (n-hexano/acetato de etilo 7/3 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,07 (s, 1H), 7,21 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 5,31 (br s, 1H), 5,15-5,07 (m, 1H), 4,98-4,93 (m, 1H), 4,37 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,74 (s, 3H), 2,53-2,47 (m, 1H), 2,03 - 1,97 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,35 (t, J = 7,1 Hz, 3H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 176,74, 161,86, 159,43, 157,49, 147,26, 133,44, 128,13, 127,61, 114,60, 80,80, 69,43, 61,66, 55,64, 51,26, 45,67, 28,68, 14,71; Masa (ESI): m/z 459,0 (M⁺+Na).

Ejemplo 16.4

Síntesis de 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propil)tiazol-4-carboxilato de etilo

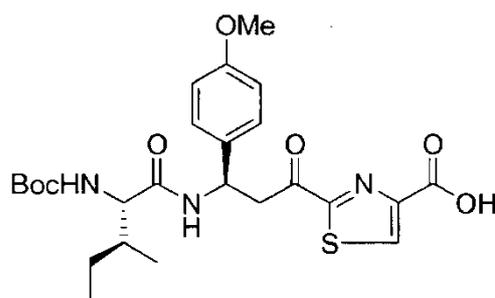


5 A una disolución de terc-butoxicarbonil-isoleucina (0,97 mmoles, 225 mg) en DMF (5 ml) se le añaden, en orden, HOBt (1,07 mmoles), hidrocloreuro de EDC (1,07 mmoles, sin-colidina (2,14 mmoles) y el compuesto obtenido en el ejemplo 16.3 (0,97 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 2 horas. Se añade agua (10 ml), y la fase orgánica se extrae con éter etílico (3 x 10 ml). La fase orgánica extraída se lava entonces, secuencialmente, con una disolución acuosa 1N de HCl (1 x 10 ml), con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (1 x 10 ml) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (1 x 10 ml). La fase orgánica se recupera y se seca sobre Na₂SO₄, la mezcla se filtra, y el disolvente se evapora a una presión reducida. Se obtienen 338 mg de 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-3-(4-metoxi-fenil)propil)tiazol-4-carboxilato de etilo (63% de rendimiento).

10 R_f = 0,22 (n-hexano/acetato de etilo 1/1 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,09 (s, 1H), 7,23 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,73 (br s, 1H), 5,41 (br s, 1H), 5,29 - 5,21 (m, 1H), 5,08 - 4,87 (m, 2H), 4,39 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,99 - 3,92 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,11 - 2,04 (m, 1H), 1,97 - 1,90 (m, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,35 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,18 - 1,10 (m, 1H), 0,94 (d, J = 68 Hz, 3H), 0,89 (t, J = 7,4 Hz, 3H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 176,38, 173,40, 161,88, 159,69, 147,38, 132,84, 128,33, 127,72, 122,70, 114,72, 69,24, 61,66, 59,97, 55,67, 50,53, 44,22, 36,67, 30,03, 28,60, 25,07, 16,30, 14,71, 11,62; Masa (ESI): m/z 572,2 (M⁺+Na).

20 Ejemplo 16.5

Síntesis de ácido 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propil)tiazol-4-carboxílico

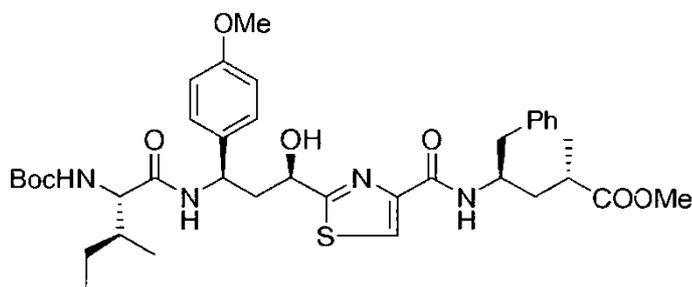


25 El compuesto obtenido en el ejemplo 16.4 (0,59 mmoles) se dispersa en una mezcla de THF/agua 4/1 volumen/volumen (10 ml). Después se añade Li(OH) (0,87 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 5 horas. Se añade agua (5 ml), y la fase orgánica se extrae con acetato de etilo (1 x 10 ml). La fase acuosa se recupera y se acidifica con una disolución 1N de HCl hasta pH = 2. Después se extrae con acetato de etilo (3 x 10 ml), y los extractos orgánicos se reúnen y se secan sobre Na₂SO₄, la mezcla se filtra, y el disolvente se evapora a una presión reducida obteniendo 307 mg de ácido 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metil-pentanamido)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propil)tiazol-4-carboxílico (rendimiento cuantitativo).

35 R_f = 0,40 (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,09 (s, 1H), 7,23 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,73 (br s, 1H), 5,41 (br s, 1H), 5,29 - 5,21 (m, 1H), 5,08 - 4,87 (m, 2H), 4,39 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,99 - 3,92 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,11 - 2,04 (m, 1H), 1,97 - 1,90 (m, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,35 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,18 - 1,10 (m, 1H), 0,94 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,89 (t, J = 7,4 Hz, 3H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 176,38, 173,40, 161,88, 159,69, 147,38, 132,84, 128,33, 127,72, 122,70, 114,72, 69,24, 61,66, 59,97, 55,67, 50,53, 44,22, 36,67, 30,03, 28,60, 25,07, 16,30, 14,71, 11,62; Masa (ESI): m/z 572,2 (M⁺+Na).

40 Ejemplo 16.6

45 Síntesis de 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-3-(4-metoxi-fenil)propil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo

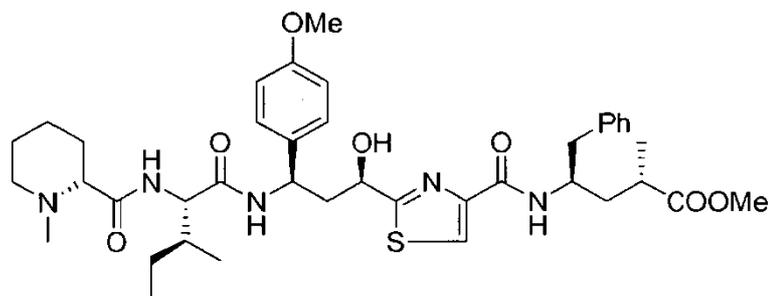


A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 16.5 (0,56 mmoles) en DMF (5 ml) se le añaden, en orden, HOAt (0,61 mmoles), HATU (0,61 mmoles), trietilamina (1,11 mmoles) y el compuesto obtenido en el ejemplo 1.11 (0,56 mmoles). La reacción se agita durante 2 horas. Se añade agua (10 ml), y la fase orgánica se extrae con éter etílico (3 x 10 ml). La fase orgánica extraída se lava entonces, secuencialmente, con una disolución acuosa 1N de HCl (1 x 10 ml), con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (1 x 10 ml) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (1 x 10 ml). La fase orgánica se recupera y se seca sobre Na₂SO₄, la mezcla se filtra, y el disolvente se evapora a una presión reducida.

Se obtienen 392 mg de 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(terc-butoxi carbonilamino)-3-metilpentanamido)-1-hidroxi-3-(4-metoxi-fenil)propil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenil-pentanoato de (2S,4R)-metilo (97% de rendimiento). R_f = 0,41 (n-hexano/acetato de etilo 4/6 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,99 (s, 1H), 7,33-7,05 (m, 9H), 6,90 (br s, 1H), 6,80 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 5,41-5,21 (m, 2H), 4,93 (t, J = 10,0 Hz, 2H), 4,43-4,32 (m, 1H), 3,98 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,61 (s, 3H), 3,00-2,80 (m, 2H), 2,64-2,54 (m, 1H), 2,46 (t, J = 12,6 Hz, 1H), 2,14 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 2,04-1,88 (m, 2H), 1,61-1,44 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,14 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 0,96 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,90 (t, J = 7,2 Hz, 3H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 176,92, 175,12, 173,21, 161,12, 159,74, 156,56, 150,18, 137,90, 137,80, 132,98, 129,98, 128,72, 128,16, 126,84, 123,50, 114,79, 68,95, 55,71, 52,03, 5029, 48,65, 44,51, 41,50, 38,22, 36,89, 36,57, 30,04, 28,60, 25,15, 18,12, 17,24, 16,32, 11,66. Masa (ESI): m/z 747,2 (M⁺+Na).

Ejemplo 16.7

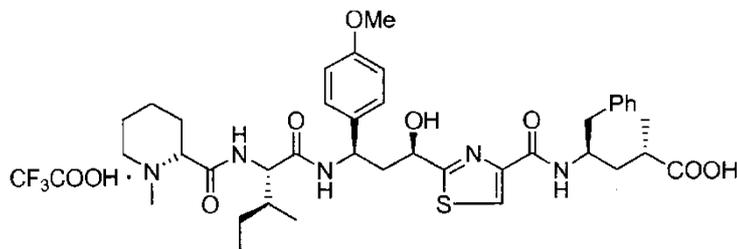
Síntesis de 4-(2-((1R,3R)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)propil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo



Se disuelven 0,53 mmoles del compuesto obtenido en el ejemplo 16.6 en DCM (10 ml); a esta disolución se le añade TFA (1 ml). La reacción se agita durante 2 horas. El disolvente se evapora a una presión reducida. Se añaden 0,51 mmoles del producto obtenido, con agitación, a una suspensión de ácido N-metilpipercolínico (0,56 mmoles) en diclorometano (10 ml) que contiene HOAt (0,56 mmoles), HATU (0,56 mmoles) y trietilamina (1,02 mmoles). La reacción se agita durante 4 horas. Se añade agua (10 ml), y la fase orgánica se extrae con diclorometano (3 x 10 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secan sobre sulfato de sodio anhidro, después la mezcla se filtra, y el disolvente se evapora a una presión reducida. El producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en diclorometano/metanol 95/5 volumen/volumen. Se obtienen 289 mg de 4-(2-((1R,3R)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)propil)-tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo (75% de rendimiento). R_f = 0,40 (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ: 8,02 (s, 1H), 7,36-6,78 (m, 9H), 5,28 (dd, J = 9,6, 3,8 Hz, 1H), 4,90 (dd, J = 9,5, 3,4 Hz, 1H), 4,36-4,31 (m, 1H), 4,28-4,22 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,56 (s, 3H), 2,96-2,83 (m, 3H), 2,65-2,39 (m, 2H), 2,21-2,12 (m, 1H), 2,10 (s, 3H), 2,05-1,80 (m, 3H), 1,73-1,42 (m, 6H), 1,32-1,16 (m, 4H), 1,12 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 0,97 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,90 (t, J = 7,3 Hz, 3H); RMN ¹³C (101 MHz, CD₃OD) δ: 181,60, 181,13, 178,67, 175,93, 165,94, 163,29, 153,66, 142,23, 138,41, 133,43, 132,33, 131,72, 130,44, 127,61, 117,94, 73,51, 62,13, 59,51, 55,18, 53,92, 52,64, 52,42, 52,21, 52,00, 51,79, 51,57, 47,70, 45,28, 41,94, 40,63, 34,40, 29,05, 27,20, 21,11, 19,15, 14,01; Masa (ESI): m/z 750,3 (M⁺+H⁺), 772,3 (M⁺+Na).

Ejemplo 16.8

Síntesis de la sal 2,2,2-trifluoroacética del ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)propil)-tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico

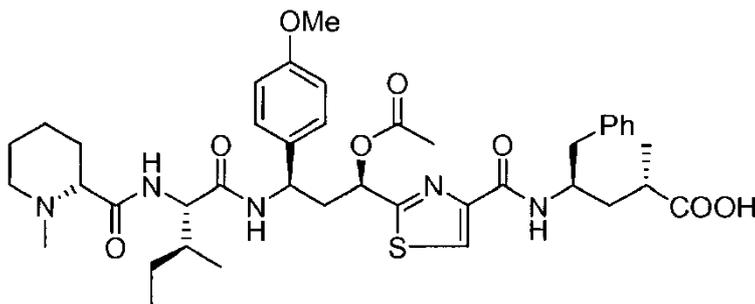


Se solubilizan 0,36 mmoles del compuesto obtenido en el ejemplo 16.7 en THF (5 ml), a esta disolución se le añade una disolución acuosa 1N de Li(OH) (0,72 mmoles). La reacción se agita durante 48 horas. Se añaden agua (2 ml) y después ácido trifluoroacético hasta pH = 2. La fase orgánica se extrae con acetato de etilo (3 x 5 ml), y los extractos orgánicos reunidos se secan sobre Na₂SO₄ y después se filtran. Los disolventes se evaporan a una presión reducida. Se obtienen 261 mg de la sal 2,2,2-trifluoroacética del ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)propil)-tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico (99% de rendimiento).

R_f = 0,35 (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ: 8,00 (s, 1H), 7,41-6,76 (m, 9H), 5,23 (dd, J = 9,6, 4,0 Hz, 1H), 4,91 (dd, J = 9,6, 3,9 Hz, 1H), 4,41-4,32 (m, 1H), 4,31-4,19 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,03 (q, J = 12,7 Hz, 1H), 2,88 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 2,61 (s, 3H), 2,55-2,47 (m, 2H), 2,17-2,10 (m, 1H), 2,02-1,83 (m, 3H), 1,78-1,52 (m, 6H), 1,34-1,20 (m, 4H), 1,15 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 0,97 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,92-0,87 (m, 3H); RMN ¹³C (101 MHz, CD₃OD) δ: 182,80, 181,42, 175,74, 172,32, 166,02, 163,26, 153,68, 142,18, 138,50, 133,49, 132,36, 131,80, 130,46, 122,70, 117,95, 72,66, 63,05, 59,30, 58,89, 54,18, 52,81, 52,59, 52,37, 52,16, 51,95, 51,73, 46,07, 45,18, 40,49, 33,12, 29,00, 26,97, 25,28, 19,20, 14,34. Masa (ESI): m/z 736,2 (M⁺+H⁺).

Ejemplo 16.9

Síntesis de ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-acetoxi-3-(4-metoxifenil)-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)propil)-tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico



A una disolución del compuesto obtenido en el ejemplo 16.8 (0,35 mmoles) en piridina (4 ml), se le añade anhídrido acético (2 ml). La mezcla de reacción se agita durante 12 horas. El disolvente se evapora a una presión reducida, y el producto bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en diclorometano/metanol 94/6 volumen/volumen y, en una segunda pasada, con diclorometano/metanol 9:1 volumen/volumen. Se obtienen 264 mg de ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-acetoxi-3-(4-metoxifenil)-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)propil)-tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico (96% de rendimiento).

R_f = 0,37 (diclorometano/metanol 95/5 volumen/volumen); RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ: 8,13 (s, 1H), 7,32-6,78 (m, 9H), 6,04 (dd, J = 9,7, 3,8 Hz, 1H), 5,12 (dd, J = 10,0, 4,8 Hz, 1H), 4,40-4,30 (m, 1H), 4,32-4,20 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,23 (t, J = 12,8 Hz, 1H), 2,86 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 2,72-2,42 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,05-1,14 (m, 7H), 1,11 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,94 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,89 (t, J = 7,1 Hz, 3H); RMN ¹³C (101 MHz, CD₃OD) δ: 182,60, 181,40, 175,78, 174,54, 173,92, 166,10, 163,50, 153,54, 142,36, 137,91, 133,38, 132,24, 131,91, 130,44, 122,70, 118,03, 73,98, 62,43, 59,20, 58,78, 53,80, 52,64, 52,21, 52,00, 51,79, 51,57, 46,46, 45,22, 43,52, 40,49, 33,44, 28,87, 23,70, 19,11, 14,10; Masa (ESI): m/z 778,2 (M⁺+H⁺), 800,2 (M⁺+Na).

Ejemplo 16.10 Comparativo

El compuesto obtenido en el ejemplo 16.9 se ha evaluado con el ensayo de citotoxicidad *in vitro* en estirpes celulares. Las estirpes celulares usadas fueron las siguientes: HL60, A 2780, C6.

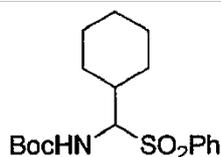
Usando las estirpes celulares HL 60 y C6, se obtuvieron valores de GI_{50} mayores que 10^{-5} moles/litro.

Usando la estirpe celular A 2780, se obtuvo un valor de GI_{50} mayor que 10^{-4} moles/litro.

Estos valores muestran que el compuesto del ejemplo 16.9 *in vitro*, dependiendo de las estirpes celulares usadas, fue de aproximadamente 10.000 veces a aproximadamente 100.000 veces menos tóxico que los compuestos de la presente invención.

Ejemplo 17 Comparativo**Ejemplo 17.1**

Síntesis de ciclohexil(fenilsulfonil)-metilcarbamato de terc-butilo

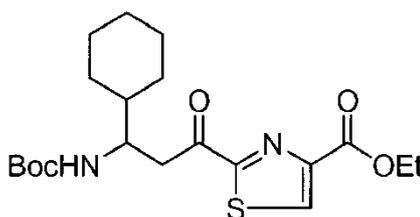


Se repitió el ejemplo 16.1, pero usando el ciclohexancarboxialdehído en lugar de p-anisaldehído. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto ciclohexil(fenilsulfonil)metilcarbamato de terc-butilo con un 96% de rendimiento.

$R_f = 0,35$ (n-hexano/acetato de etilo 4/6 volumen/volumen); RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8,40 (s, 1H), 7,50 - 6,62 (m, 4H), 5,26 (br s, 1H), 4,44 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 1,42 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,38 (s, 9H); RMN ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 191,79, 167,45, 161,14, 159,27, 157,18, 155,35, 149,04, 133,82, 128,02, 114,39, 80,02, 62,25, 55,65, 51,03, 45,24, 28,70, 14,72; Masa (ESI): m/z 457,0 ($M^+ + Na$).

Ejemplo 17.2

Síntesis de 2-(3-(terc-butoxicarbonilamino)-3-ciclohexilpropanoil)tiazol-4-carboxilato de etilo

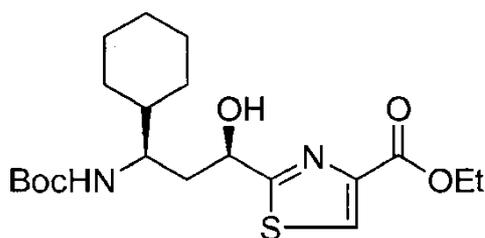


Se repitió el ejemplo 16.2, pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 17.1 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 16.1. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto 2-(3-(terc-butoxicarbonilamino)-3-ciclohexilpropanoil)tiazol-4-carboxilato de etilo con un 62% de rendimiento.

$R_f = 0,41$ (n-hexano/acetato de etilo 3/7 volumen/volumen); RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8,37 (s, 1H), 4,79 (br s, 1H), 4,39 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,96 (m, 1H), 3,38 - 3,22 (m, 2H), 1,80 - 1,48 (m, 6H), 1,37 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,32 (s, 9H), 1,22-0,96 (m, 5H); RMN ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 192,84, 167,75, 161,09, 155,81, 149,03, 133,49, 79,35, 62,02, 52,74, 42,35, 41,72, 30,20, 29,22, 28,64, 26,60, 26,42, 26,38, 14,61; Masa (ESI): m/z 433,1 ($M^+ + Na$).

Ejemplo 17.3

Síntesis de 2-((1R,3R)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-3-ciclohexil-1-hidroxipropil)tiazol-4-carboxilato de etilo

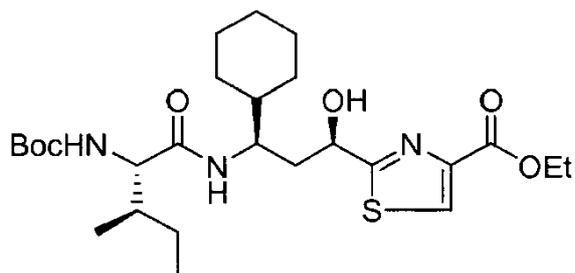


Se repitió el ejemplo 16.3, pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 17.2 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 16.2. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto 2-((1R,3R)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-3-ciclohexil-1-hidroxi-propil)-tiazol-4-carboxilato de etilo con un 51% de rendimiento.

$R_f = 0,34$ (n-hexano/acetato de etilo 55/45 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,06 (s, 1H), 5,10 (br s, 1H), 4,96 - 4,90 (m, 1H), 4,70 - 4,56 (m, 1H), 4,37 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,67 - 3,60 (m, 1H), 2,36 - 2,33 (m, 1H), 1,96 - 1,63 (m, 6H), 1,37 (s, 9H), 1,35 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,30 - 0,80 (m, 5H); RMN ^{13}C (100,5 MHz, CDCl_3) δ : 177,83, 161,88, 157,08, 146,94, 127,69, 80,29, 71,55, 61,64, 53,57, 43,06, 41,62, 30,03, 28,74, 28,44, 26,66, 26,53, 26,50, 14,69; Masa (ESI) m/z: 435,1 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 17.4

Síntesis de 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-3-ciclohexil-1-hidroxi-propil)-tiazol-4-carboxilato de etilo

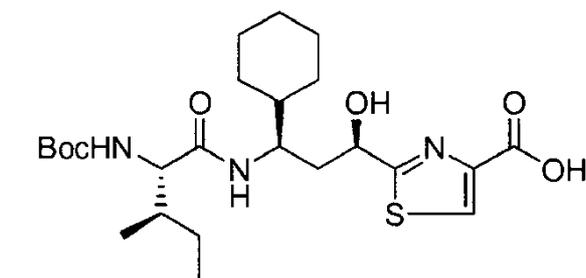


Se repitió el ejemplo 16.4, pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 17.3 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 16.3. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metil-pentanamido)-3-ciclohexil-1-hidroxi-propil)tiazol-4-carboxilato de etilo con un 97% de rendimiento.

$R_f = 0,52$ (n-hexano/acetato de etilo 1/1 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,05 (s, 1H), 6,45 (br s, 1H), 5,67 (br s, 1H), 5,23 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,97 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,37 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,01 (s, 1H), 3,70 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 2,47 - 2,38 (m, 1H), 1,90 - 1,38 (m, 9H), 1,36 (s, 9H), 1,35 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,30 - 0,95 (m, 5H), 0,92 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,86 (t, J = 7,9 Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 178,28, 172,74, 161,92, 156,91, 147,42, 127,78, 80,75, 71,40, 61,63, 60,66, 53,56, 42,93, 41,24, 36,83, 30,08, 28,74, 28,64, 26,70, 26,53, 26,46, 19,64, 16,12, 14,68, 14,40, 11,4; Masa (ESI) m/z: 548,2 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 17.5

Síntesis de ácido 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-3-ciclohexil-1-hidroxi-propil)-tiazol-4-carboxílico

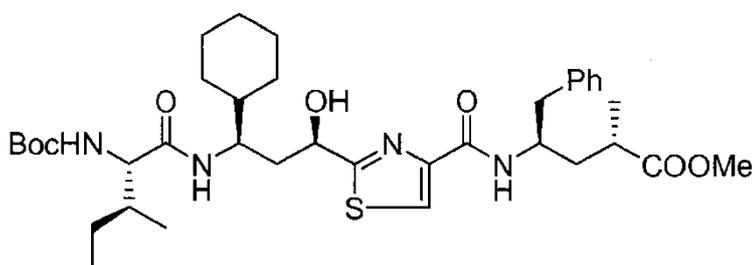


Se repitió el ejemplo 16.5, pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 17.4 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 16.4. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto 2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-3-ciclohexil-1-hidroxi)propil)tiazol-4-carboxílico ácido con un 98% de rendimiento.

5 $R_f = 0,40$ (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,09 (br s, 1H), 8,00 (s, 1H), 6,88 (br s, 1H), 5,75 (br s, 1H), 5,08 - 5,01 (m, 1H), 4,98 - 4,95 (m, 1H), 4,02 - 3,80 (m, 2H), 2,25 - 2,13 (m, 1H), 1,93 - 1,45 (m, 9H), 1,36 (s, 9H), 1,28 - 0,93 (m, 5H), 0,91 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 0,85 (t, $J = 79$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 176,51, 173,14, 165,9, 157,08, 155,1, 123,78, 80,62, 70,56, 60,28, 52,77, 42,62, 36,93, 30,01, 29,92, 28,64, 26,68, 26,47, 25,19, 21,22, 16,07, 14,55, 1134; Masa (ESI): m/z 520,2 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 17.6

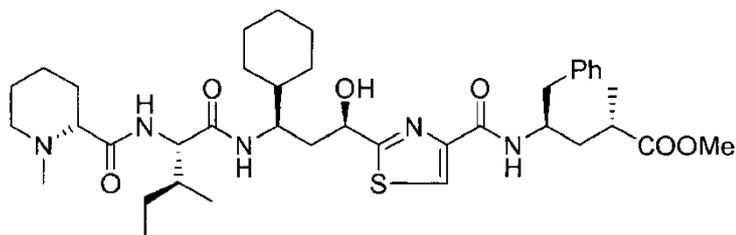
15 Síntesis de 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-3-ciclohexil-1-hidroxi)propil)tiazol-4-carboxiamido)-2-metil-5-fenil-pentanoato de (2S,4R)-metilo



20 Se repitió el ejemplo 16.6, pero usando el compuesto del ejemplo 17.5 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 16.5. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilpentanamido)-3-ciclohexil-1-hidroxi)propil)tiazol-4-carboxiamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo con un 75% de rendimiento. $R_f = 0,47$ (n-hexano/acetato de etilo 35/65 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,94 (s, 1H), 7,35 - 7,11 (m, 5H), 6,44 (br s, 1H), 5,41 (br s, 1H), 5,25 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 4,74 - 4,84 (m, 1H), 4,42 - 4,31 (m, 1H), 4,16 - 4,05 (m, 1H), 3,77 - 3,66 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 2,98 - 2,84 (m, 2H), 2,66 - 2,54 (m, 1H), 2,26 (d, $J = 14,5$ Hz, 1H), 2,11 - 1,96 (m, 2H), 1,95 - 1,41 (m, 9H), 1,36 (s, 9H), 1,30 - 0,95 (m, 5H), 1,15 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 0,97 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,89 (t, $J = 7,3$ Hz, 8H); RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ : 177,01, 176,61, 172,59, 161,28, 150,42, 138,20, 129,93, 128,65, 126,76, 123,16, 80,77, 70,95, 60,85, 53,22, 52,02, 48,88, 43,28, 41,50, 41,13, 38,38, 36,94, 30,09, 28,92, 28,62, 26,76, 26,58, 26,53, 25,46, 18,10, 16,19, 14,41, 11,38; Masa (ESI) m/z : 723,2 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Ejemplo 17.7

35 Síntesis de 4-(2-((1R,3R)-3-ciclohexil-1-hidroxi-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxiamido)pentanamido)propil)tiazol-4-carboxiamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo



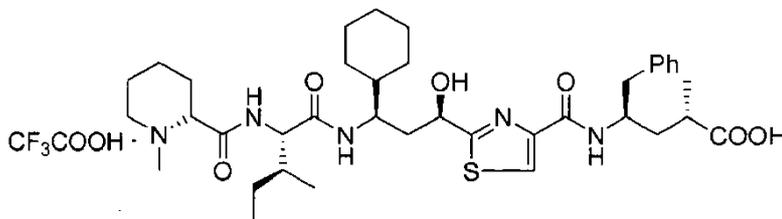
40 Se repitió el ejemplo 16.7 pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 17.6 en lugar del compuesto obtenido en el ejemplo 16.6. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto 4-(2-((1R,3R)-3-ciclohexil-1-hidroxi-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxiamido)pentanamido)propil)tiazol-4-carboxiamido)-2-metil-5-fenilpentanoato de (2S,4R)-metilo con un 97% de rendimiento.

45 $R_f = 0,47$ (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 7,89 (s, 1H), 7,33 - 7,07 (m, 5H), 4,85 - 4,81 (m, 1H), 4,34 - 4,26 (m, 1H), 4,24 - 4,14 (m, 1H), 4,16 - 4,10 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,31 - 3,29 (m, 1H), 3,01 - 2,80 (m, 3H), 2,71 - 2,59 (m, 1H), 2,55 - 2,43 (m, 1H), 2,14 (s, 3H), 2,07 - 0,71 (m, 24H), 1,17 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 0,98 (dd, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,90 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ 181,62, 180,73, 178,94, 175,48, 166,09, 165,94, 142,53, 133,54, 132,20, 130,41, 122,70, 73,62, 73,31, 55,55, 53,07, 52,86, 52,64, 52,43,

52,22, 52,00, 51,79, 48,23, 47,04, 45,34, 44,04, 42,51, 40,92, 40,69, 34,49, 32,72, 30,38, 29,16, 29,05, 27,26, 21,71, 19,55, 14,37; Masa (ESI) m/z: 749,3 (M^+Na).

Ejemplo 17.8

5 Síntesis de la sal 2,2,2-trifluoroacética del ácido 4-(2-((1R,3R)-3-ciclohexil-hidroxi-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxiamido)pentanamido)-propil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico

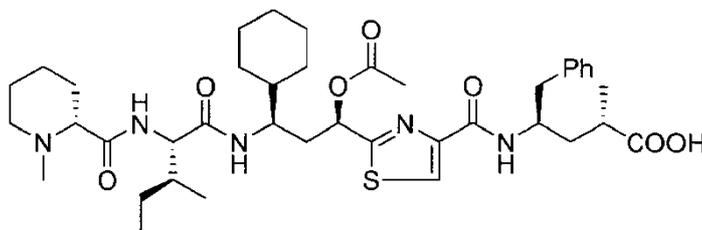


10 Se repitió el ejemplo 16.8, pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 17.7 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 16.7. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto sal 2,2,2-trifluoroacética del ácido 4-(2-((1R,3R)-3-ciclohexil-1-hidroxi-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metil-piperidin-2-carboxiamido)pentanamido)propil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico con un 82% de rendimiento.

15 $R_f = 0,35$ (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN 1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 7,99 (s, 1H), 7,32 - 7,08 (m, 5H), 4,80 - 4,67 (m, 1H), 4,29 - 4,15 (m, 1H), 4,10 - 3,98 (m, 1H), 3,30 - 3,26 (m, 1H), 3,02 - 2,88 (m, 1H), 2,74 - 2,61 (m, 1H), 2,54 - 2,42 (m, 1H), 2,13 (s, 3H), 2,08 - 0,78 (m, 24H), 1,18 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 0,96 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 0,90 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 183,17, 180,73, 179,27, 175,44, 166,14, 153,56, 142,48, 133,51, 132,32, 130,44, 127,06, 73,39, 73,33, 55,54, 53,02, 52,81, 52,59, 52,38, 52,17, 51,95, 51,74, 47,12, 45,06, 44,03, 42,39, 40,93, 40,59, 33,93, 32,90, 30,31, 29,05, 28,99, 27,00, 21,27, 19,49, 14,66; Masa (ESI) m/z: 734,2 (M^+Na).

Ejemplo 17.9

25 Síntesis del ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-acetoxi-3-ciclohexil-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxiamido)pentanamido)propil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico



30 Se repitió el ejemplo 16.9, pero usando el compuesto obtenido en el ejemplo 17.8 en vez del compuesto obtenido en el ejemplo 16.8. Al final del procedimiento se obtuvo el compuesto ácido (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-acetoxi-3-ciclohexil-3-((2S,3S)-3-metil-2-((R)-1-metilpiperidin-2-carboxiamido)pentanamido)propil)tiazol-4-carboxamido)-2-metil-5-fenilpentanoico con un 91% de rendimiento.

35 $R_f = 0,38$ (diclorometano/metanol 9/1 volumen/volumen); RMN 1H (400 MHz, CD_3OD) δ : 7,99 (s, 1H), 7,26 - 7,09 (m, 5H), 4,46 - 4,31 (m, 1H), 4,30 - 1,19 (m, 1H), 4,09 - 3,95 (m, 1H), 3,23 - 3,12 (m, 1H), 3,02 - 2,86 (m, 1H), 2,77 - 2,54 (m, 1H), 2,53 - 2,41 (m, 1H), 2,48 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,08 - 0,87 (m, 24H), 1,19 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,99 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,91 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H); RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) δ : 175,51, 175,20, 173,75, 173,20, 165,45, 165,26, 153,49, 142,52, 133,07, 131,65, 129,74, 127,11, 74,88, 72,18, 58,85, 54,03, 53,56, 52,15, 51,94, 51,72, 51,51, 51,30, 51,09, 50,87, 46,55, 46,50, 44,24, 42,57, 40,65, 40,29, 33,38, 33,20, 32,41, 31,31, 30,02, 29,79, 28,50, 27,64, 23,32, 21,11, 18,72, 13,60; Masa (ESI) m/z: 776,7 (M^+Na).

Ejemplo 17.10 Comparativo

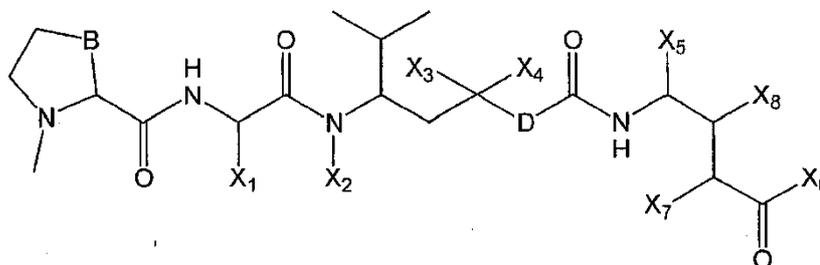
45 Se evaluó la citotoxicidad del compuesto del ejemplo 17.9 como se describe en el ejemplo 16.10 comparativo para el compuesto 16.9.

Se encontró un valor de GI_{50} de 10^{-5} moles/litro. Este valor es 10.000 veces mayor que el GI_{50} de los compuestos de la invención. Se pueden repetir los mismos comentarios dados en el ejemplo 16.10 Comparativo.

50

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de tubulisina de fórmula (A):



(A)

5

en la que:

B se selecciona de CH_2 , $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ o $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$,

10

D es un ligador aromático seleccionado entre fenilo o heteroarilo que presenta 5 o 6 átomos en el anillo,

X_1 es alquilo o alquenilo,

15

X_2 se selecciona de los grupos siguientes:

X_{2a} , sustituido o no sustituido, se selecciona de: arilo, heteroarilo, arilalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, o heteroarilalquilo,

20

X_{2b} : alquileo-O-alquilo, en el que alquileo es $\text{C}_2\text{-C}_{10}$,

X_3 se selecciona de H, o junto con X_4 forma el grupo $=\text{O}$,

25

X_4 se selecciona de H, halógeno, OH, SH, alquilo, alquenilo, $(\text{OR}_5)_n\text{-OR}_6$, OC(O)R_7 , NR_6R_7 , o junto con X_4 forma el grupo $=\text{O}$,

R_5 es un alquileo,

n es cero o un número entero de 1 a 10,

30

R_6 y R_7 , iguales o diferentes entre sí, presentan los significados siguientes:

z_1 : H, alquilo,

35

z_2 sustituido o no sustituido: arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo,

X_5 es z_2 , o presenta el significado de z_3 =alquilo, alquenilo,

40

X_6 se selecciona de NR_8R_9 , OR_8 , $\text{NH-NR}_8\text{R}_9$, SR_8 , R_{10} , en el que R_8 y R_9 , iguales o diferentes entre sí, presentan los mismos significados que R_6 , R_{10} presenta los mismos significados que R_6 pero excluyendo H,

X_7 es z_3 o H,

45

X_8 se selecciona de z_3 , H, halógeno, OH, SH, OCH_3 ,

y sus hidratos, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables.

2. Compuestos según la reivindicación 1, en forma de isómeros geométricos y estereoisómeros, o sus mezclas.

50

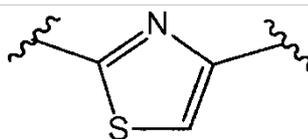
3. Compuestos según las reivindicaciones 1-2, en los que los átomos se encuentran en sus formas isotópicas.

4. Compuestos según las reivindicaciones 1-3 en los que, cuando X_2 es X_{2a} , uno o más átomos de hidrógeno, preferentemente del anillo de arilo, heteroarilo, arilalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo o heteroarilalquilo, están sustituidos con uno o más grupos, iguales o diferentes entre sí, seleccionados de halógeno, OH, O-arilo, SH, OCH_2O , alquilo de C_1-C_7 , alquiltio de C_1-C_7 , alcoxi de C_1-C_7 , haloalquilo de C_1-C_7 , haloalcoxi de C_1-C_7 , SO_2NH_2 , ciano, nitro, isotiocianato, fenilo, cicloalquilo, heterociclo saturado o insaturado, heteroarilo, amino opcionalmente mono- o bisustituido con una cadena de alquilo de C_1-C_7 , estando dichos sustituyentes fenilo, cicloalquilo, heterocíclico saturado o insaturado y heteroarilo opcionalmente sustituidos con uno o más grupos, iguales o diferentes entre sí, seleccionados de halógeno, OH, O-arilo, SH, OCH_2O , alquilo de C_1-C_7 , alquil C_1-C_7 -tio, alcoxi de C_1-C_7 , haloalquilo de C_1-C_7 , haloalcoxi de C_1-C_7 , SO_2NH_2 , ciano, isotiocianato, fenilo, cicloalquilo, heterociclo saturado o insaturado, heteroarilo, nitro, amino opcionalmente mono- o bisustituido con una cadena de alquilo de C_1-C_7 .

5. Compuestos según las reivindicaciones 1-4, en los que R_6 , R_7 , X_5 , R_8 y R_9 presentan el significado de z_2 , y uno o más átomos de hidrógeno, preferentemente del anillo de arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo o heterocicloalquilalquilo, están sustituidos con uno o más grupos, iguales o diferentes entre sí, seleccionados de los grupos sustituyentes opcionales de X_{2a} , estando X_5 opcionalmente sustituido con uno o más de los grupos siguientes: $COOH$, $C(O)R_6$ u $OC(O)R_{94}$, siendo R_6 como se define anteriormente, y R_{94} se selecciona de entre uno de los grupos siguientes: alquilo, cicloalquilo, alqueno, arilo, heteroarilo.

6. Compuestos según las reivindicaciones 1-5, en los que D es un heteroarilo que presenta 5 o 6 átomos.

7. Compuestos según la reivindicación 6, en los que D presenta el significado de la fórmula (V):



(V)

8. Compuestos según las reivindicaciones 1-7, en los que:

B es CH_2-CH_2 ,

D es un heteroarilo de fórmula (V),

X_1 es un alquilo de C_1-C_6 ,

X_2 se selecciona de los grupos siguientes:

- arilo monocíclico, heteroarilo monocíclico, arilalquilo monocíclico, cicloalquilalquilo monocíclico, heterocicloalquilalquilo monocíclico, o heteroarilalquilo monocíclico,

- alquileno-O-alquilo, en el que alquileno es C_2-C_4 ,

X_3 es como se define anteriormente,

X_4 se selecciona de alquilo de C_1-C_6 , alqueno de C_2-C_6 , $(OR_5)_n-OR_6$, $OC(O)R_7$, o junto con X_3 forma un grupo $=O$,

R_5 es un alquileno de C_1-C_2 ,

n es cero o un número entero de 1 a 4,

R_6 y R_7 , iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de H o alquilo de C_1-C_6 ,

X_5 se selecciona de arilalquilo monocíclico, heteroarilalquilo monocíclico, cicloalquilalquilo monocíclico, heterocicloalquilalquilo monocíclico, alquilo, o alqueno,

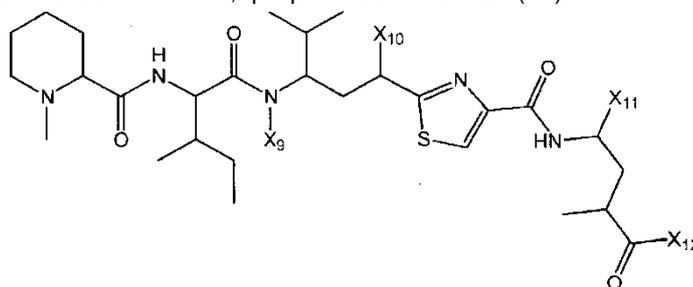
X_6 se selecciona de H, NR_8R_9 , OR_8 , $NH-NR_8R_9$, SR_8 o R_{10} , en el que R_8 , R_9 y R_{10} , iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo, o R_8 y R_9 , independientemente entre sí, presentan el significado de hidrógeno,

X₇ se selecciona de alquilo de C₁-C₆ o alqueno de C₂-C₆,

X₈ presenta el significado de H.

5

9. Compuestos según las reivindicaciones 1-8, que presentan la fórmula (A1):



(A1)

en la que:

10

X₉ se selecciona de:

- arilalquilo monocíclico, cicloalquilalquilo monocíclico, heterocicloalquilalquilo monocíclico, o heteroarilalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con los grupos que son sustituyentes de X_{2a},

15

- CH₂-CH₂O-alquilo, en el que alquilo es C₁-C₃, en el que C₃ es lineal o ramificado,

X₁₀ es (OR₁₀)_m-OR₁₁ u OC(O)R₁₂,

20

R₁₀ es un alqueno de C₁-C₂,

m es cero o un número entero de 1 a 3,

R₁₁ y R₁₂, iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de H o CH₃,

25

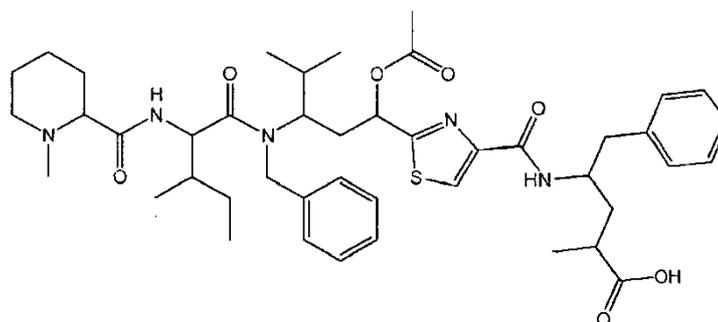
X₁₁ se selecciona de arilalquilo monocíclico o heteroarilalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con los grupos sustituyentes opcionales de X₅ cuando X₅ = X₂,

30

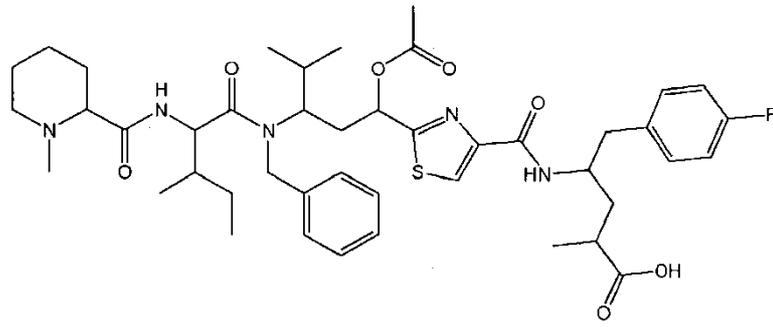
X₁₂ se selecciona de H, NR_{8a}R_{9a}, OR_{8a}, NH-NR_{8a}R_{9a}, en el que R_{8a} y R_{9a}, iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de H, alquilo, arilo monocíclico, heteroarilo monocíclico, cicloalquilo monocíclico, heterocicloalquilo monocíclico, en el que arilo monocíclico, heteroarilo monocíclico, cicloalquilo monocíclico o heterocicloalquilo monocíclico están no sustituidos u opcionalmente sustituidos con los grupos que son sustituyentes opcionales de R₈ y R₉.

35

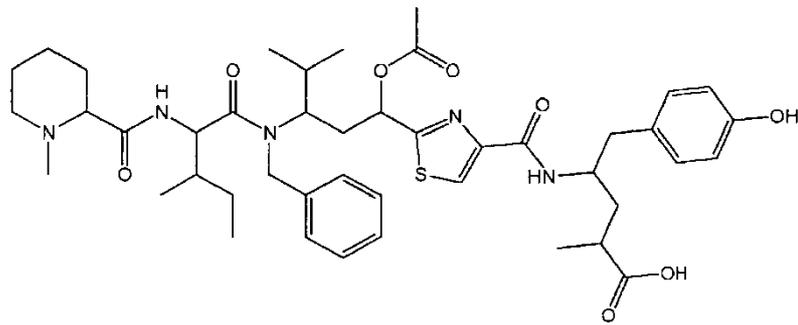
10. Compuestos según las reivindicaciones 1-9, que presentan las fórmulas siguientes:



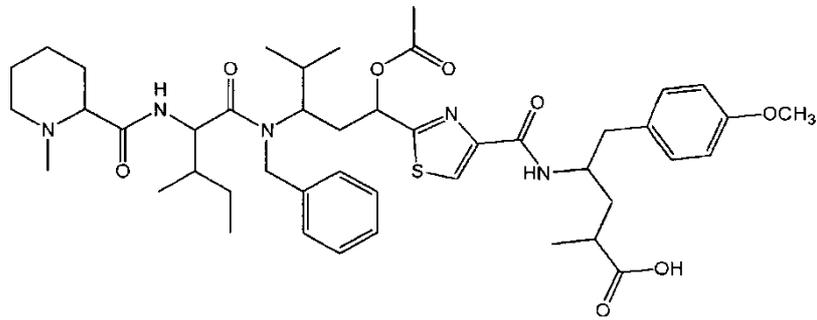
(A1)



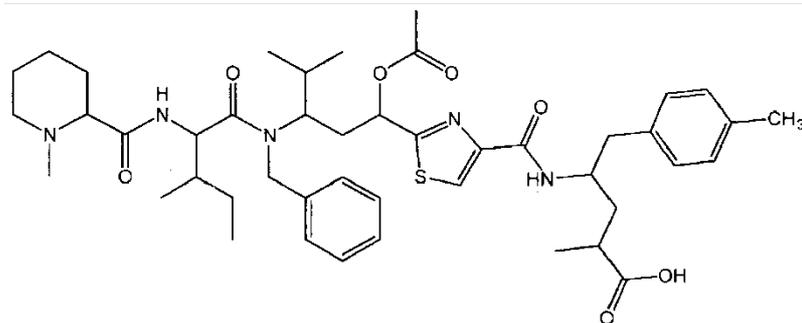
(AII)



(AIII)

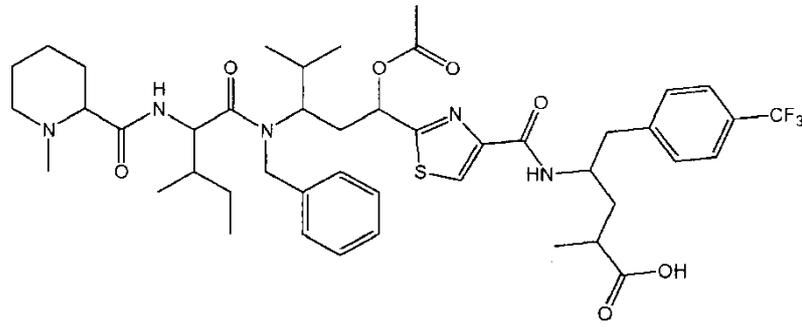


(AIV)

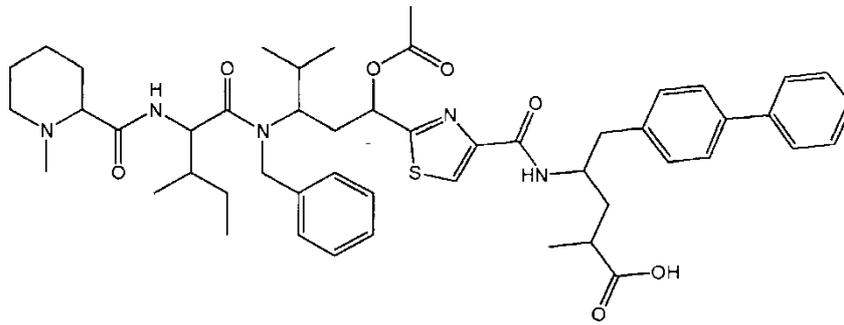


(AV)

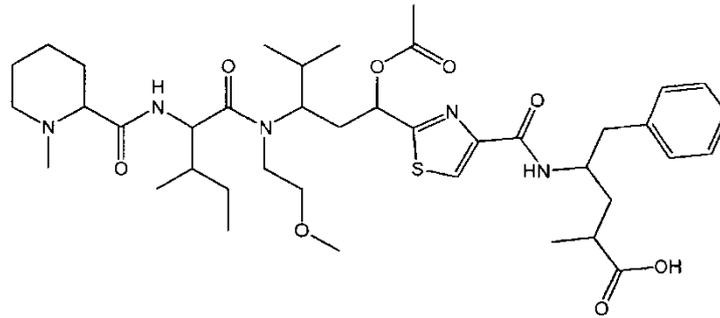
5



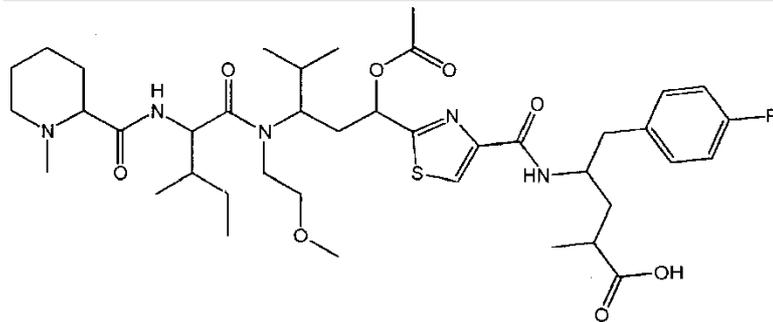
(AVI)



(AVII)

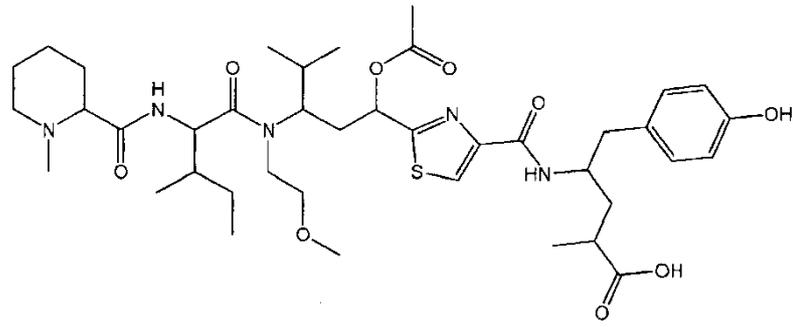


(AVIII)

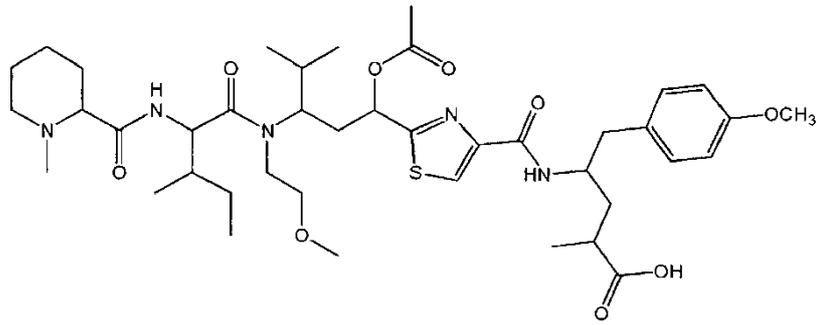


(AIX)

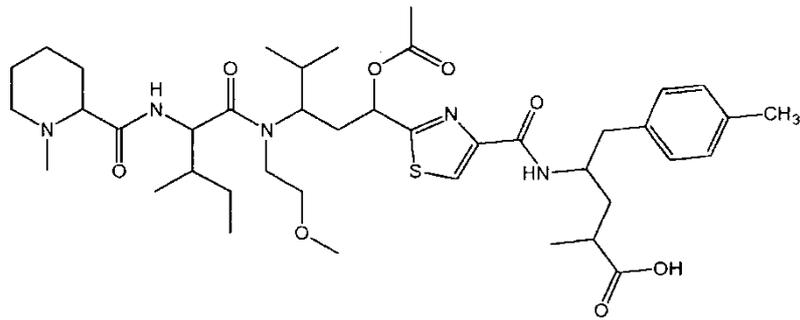
5



(AX)

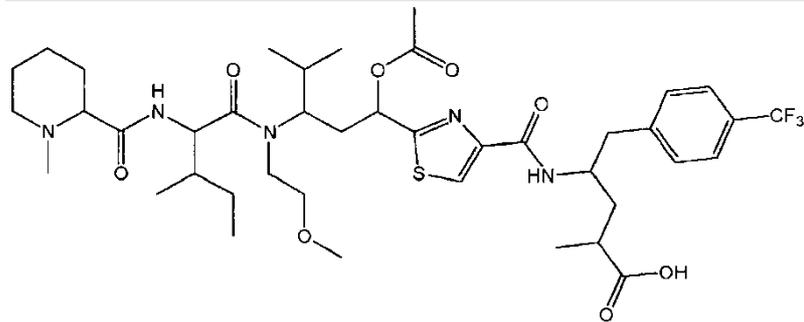


(AXI)

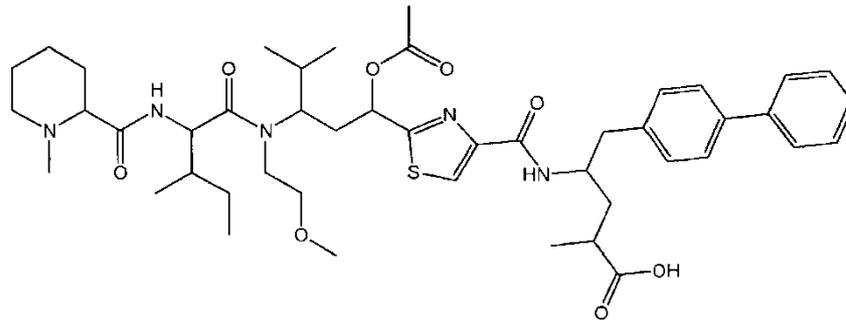


(AXII)

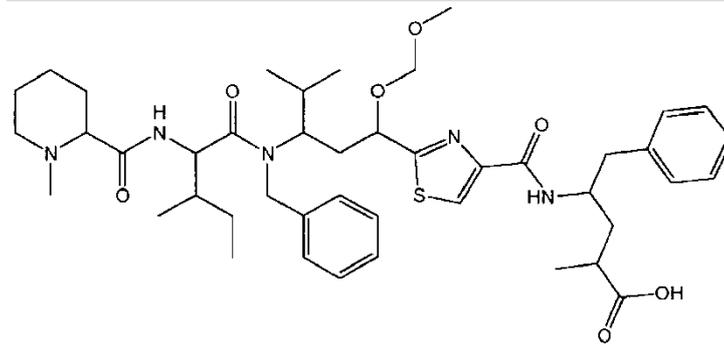
5



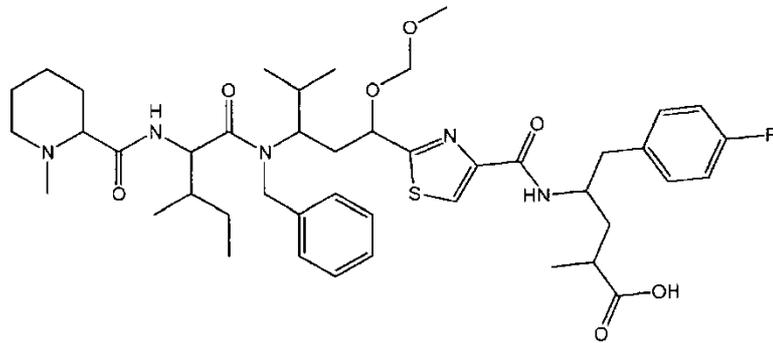
(AXIII)



(AXIV)

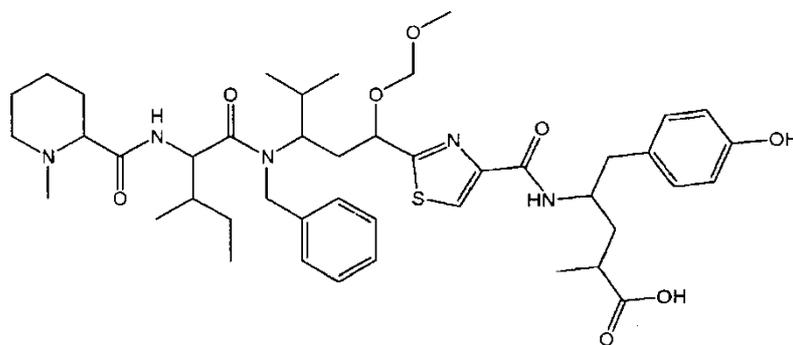


(AXV)

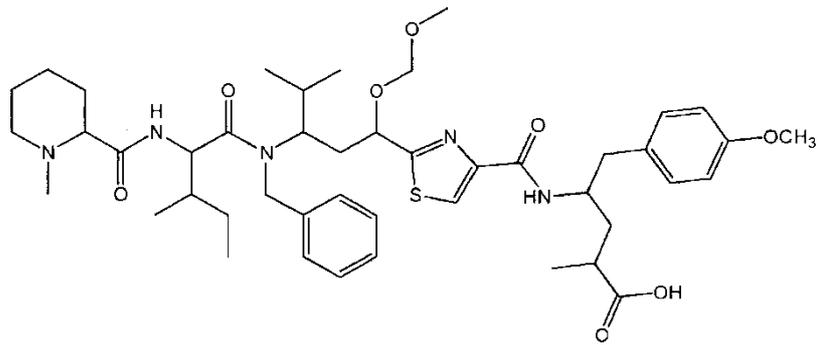


(AXVI)

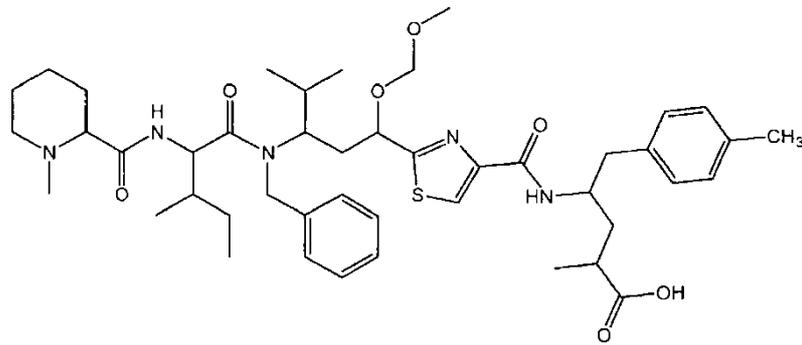
5



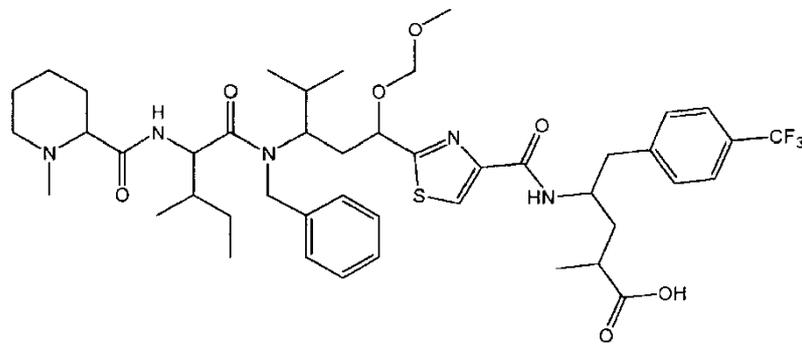
(AXVII)



(AXVIII)

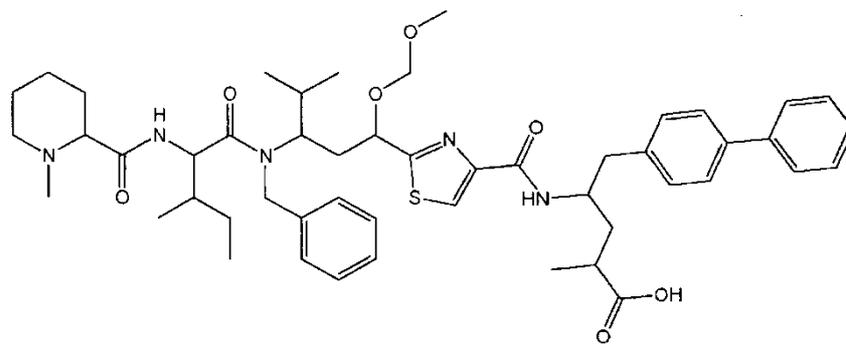


(AXIX)

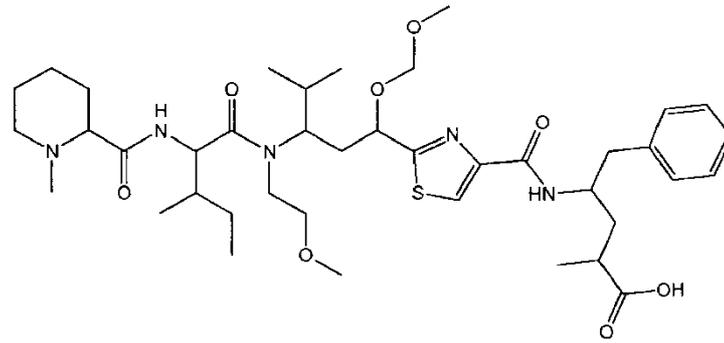


(AXX)

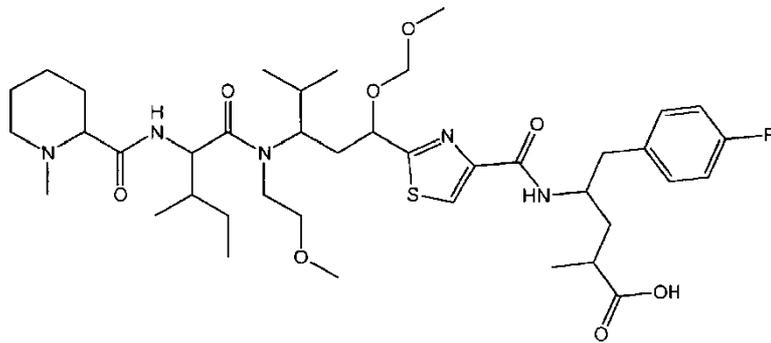
5



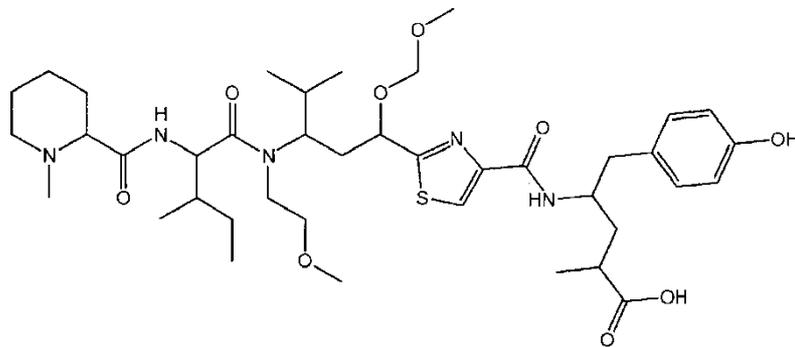
(AXXI)



(AXXII)

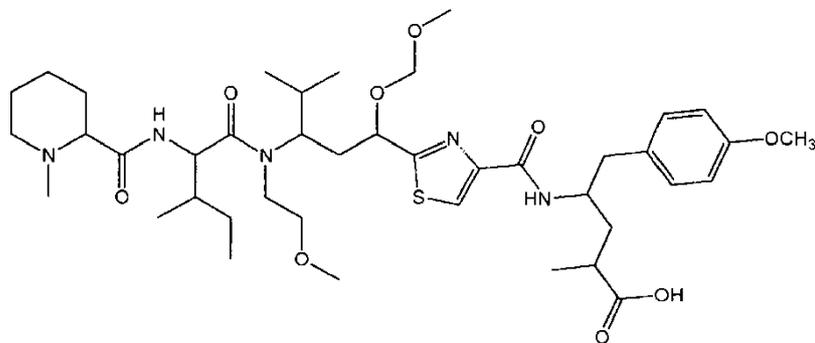


(AXXIII)

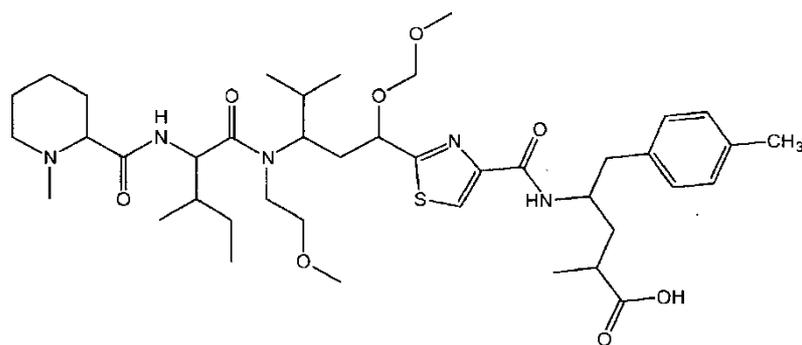


(AXXIV)

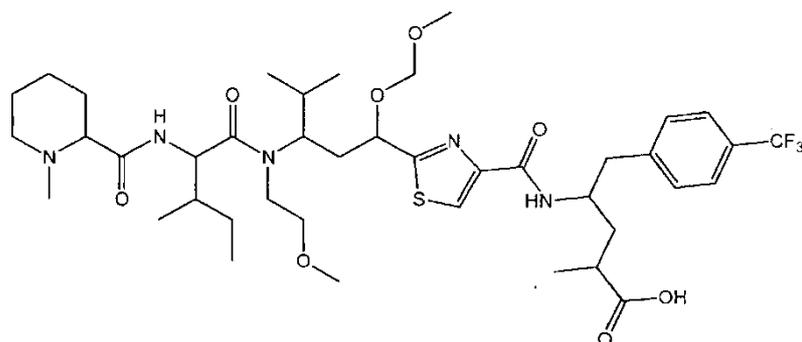
5



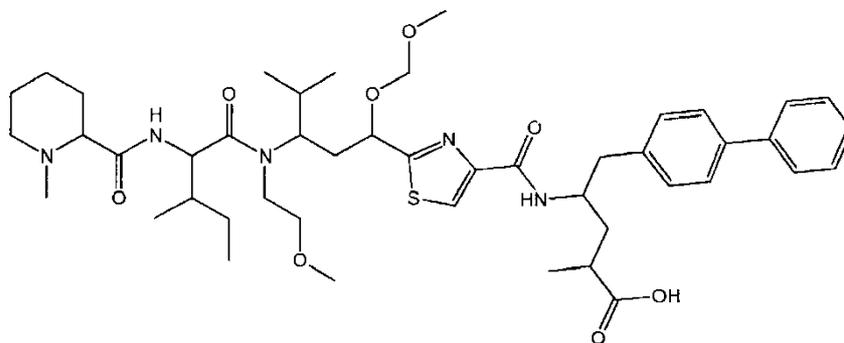
(AXXV)



(AXXVI)

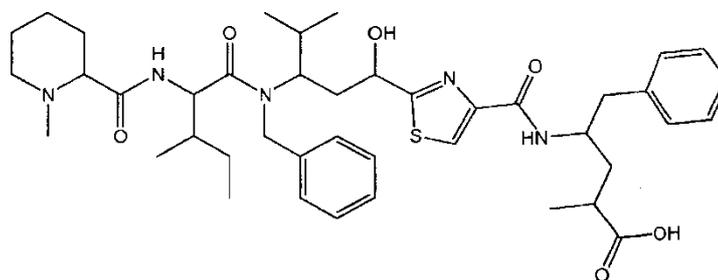


(AXXVII)

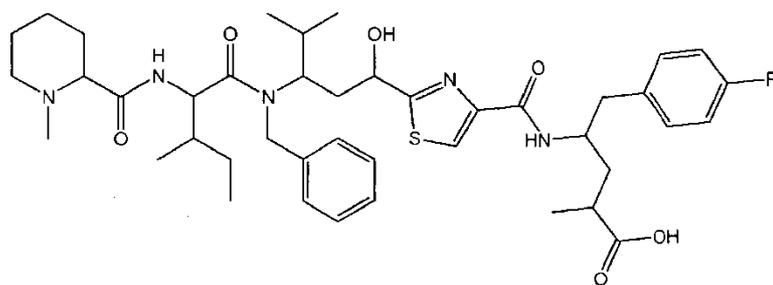


(AXXVIII)

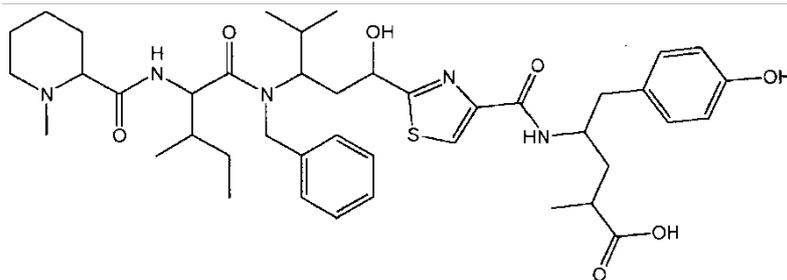
5



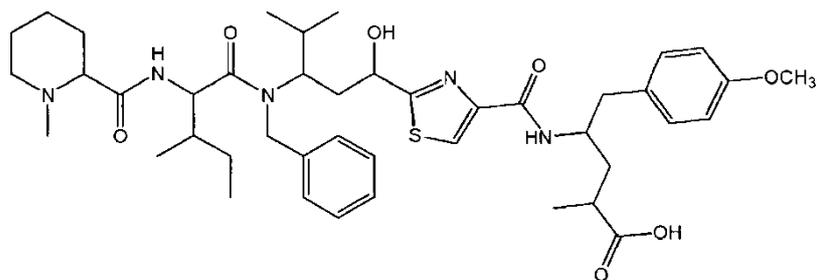
(AXXIX)



(AXXX)

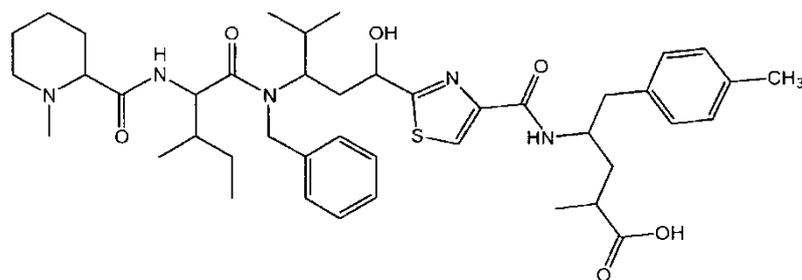


(AXXXI)

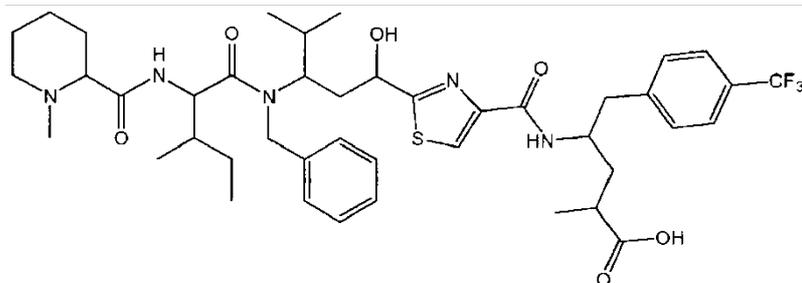


(AXXXII)

5

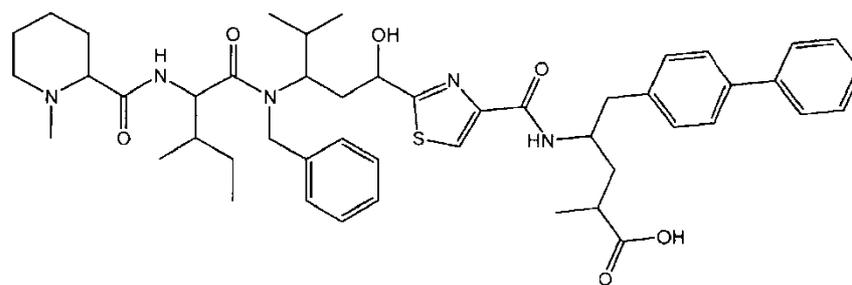


(AXXXIII)

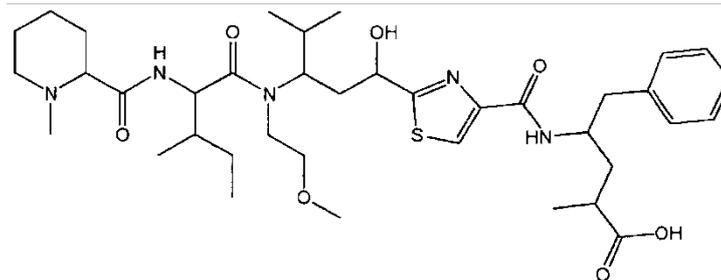


(AXXXIV)

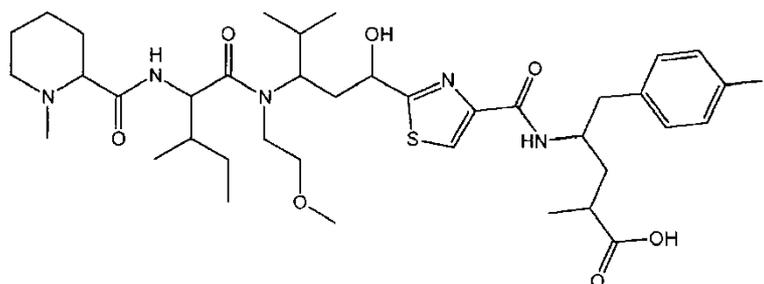
10



(AXXXV)

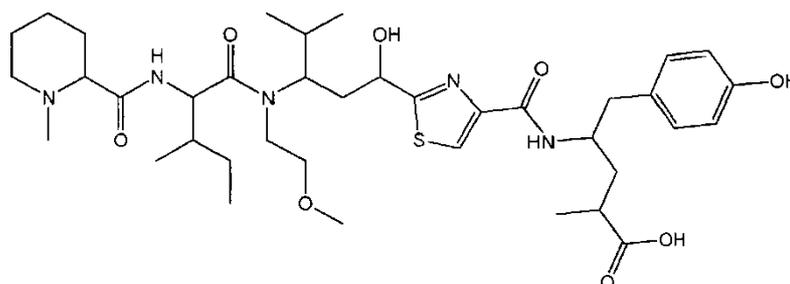


(AXXXVI)

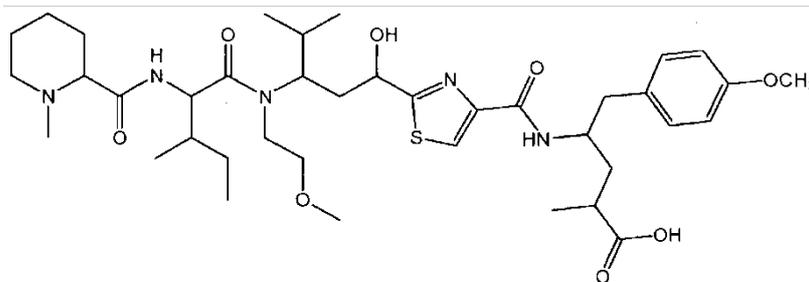


(AXXXVII)

5

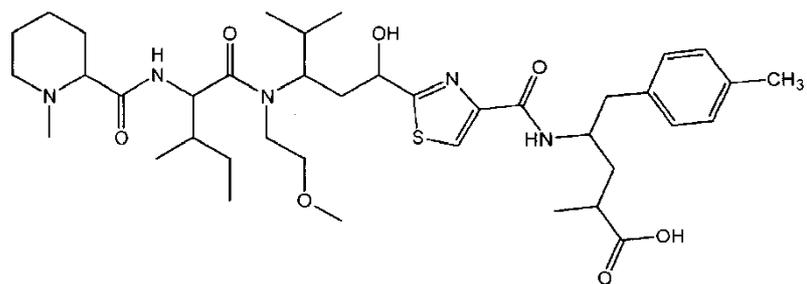


(AXXXVIII)

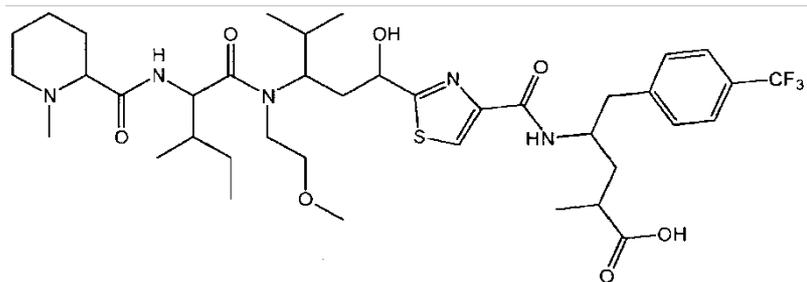


(AXXXIX)

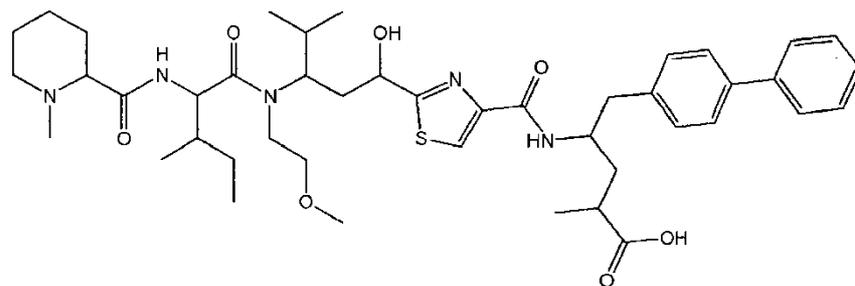
10



(AXL)

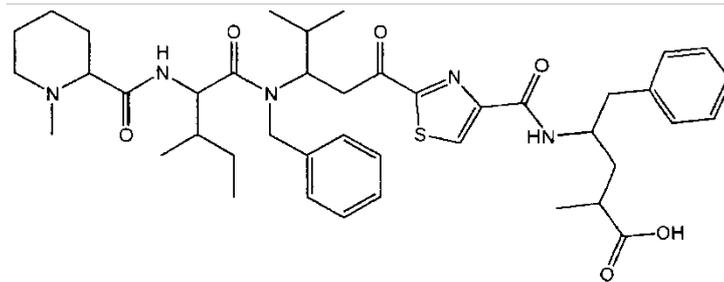


(AXLI)

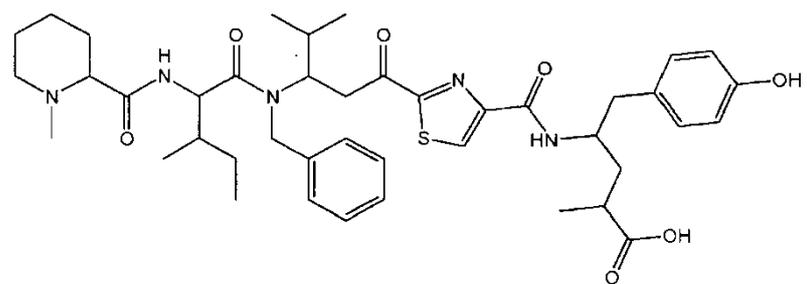


(AXLII)

5

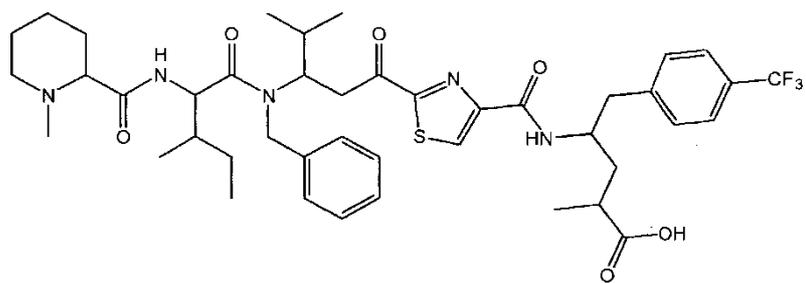


(AXLIII)

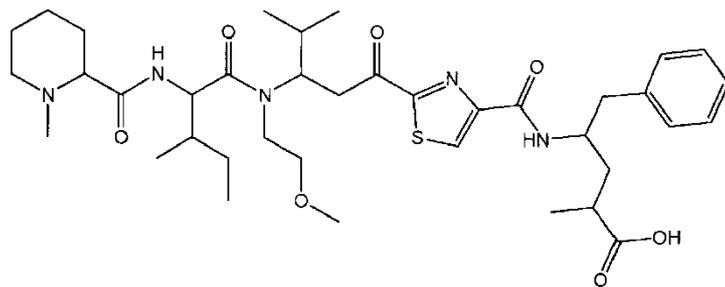


(AXLV)

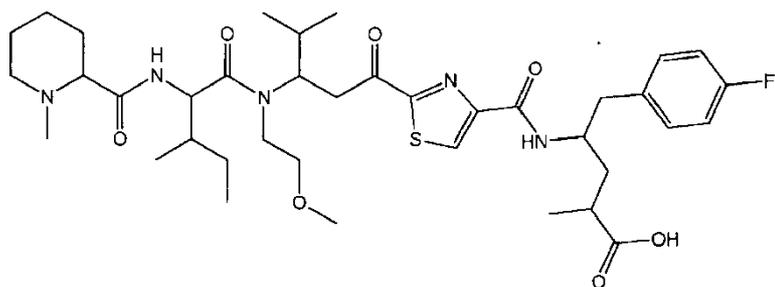
10



(AXLVIII)

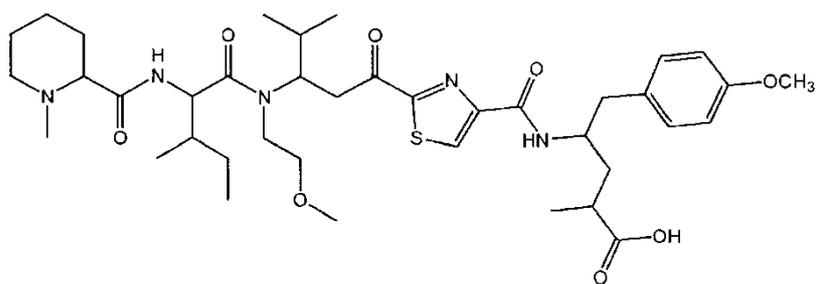


(AL)

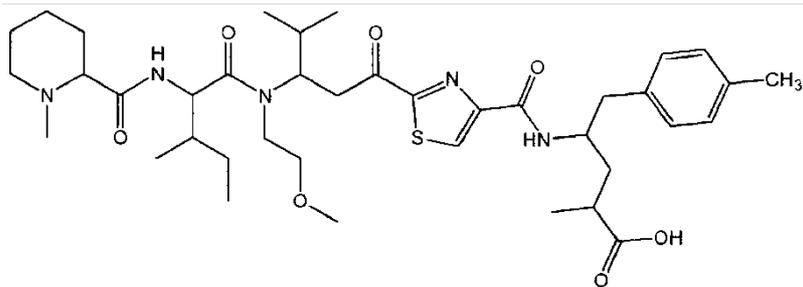


(ALI)

5

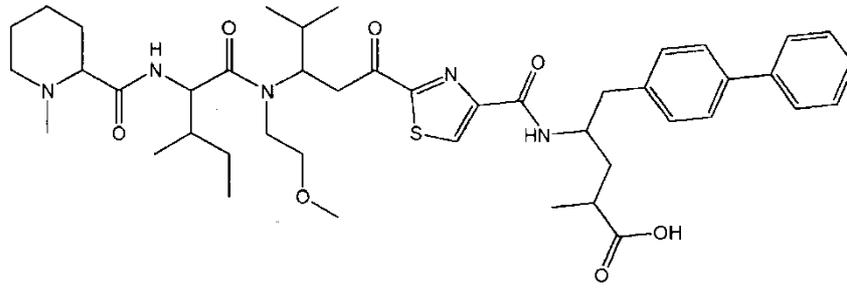


(ALIII)

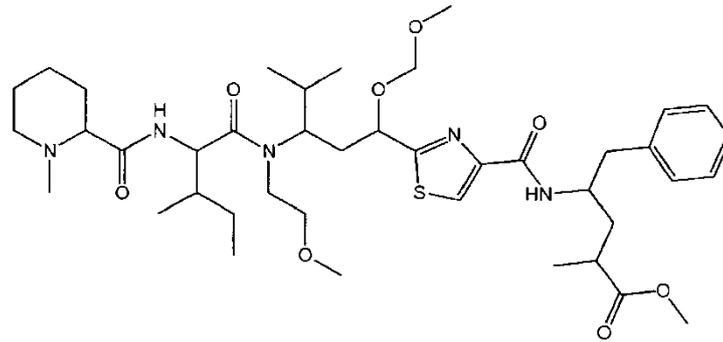


(ALIV)

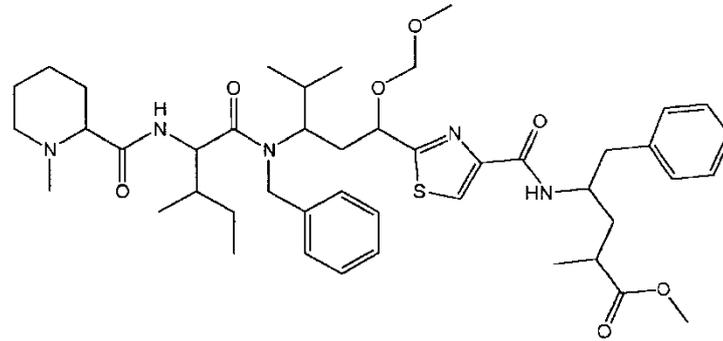
10



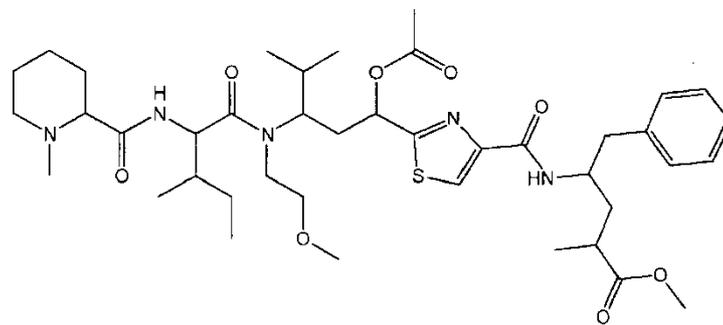
(ALVI)



(ALVII)

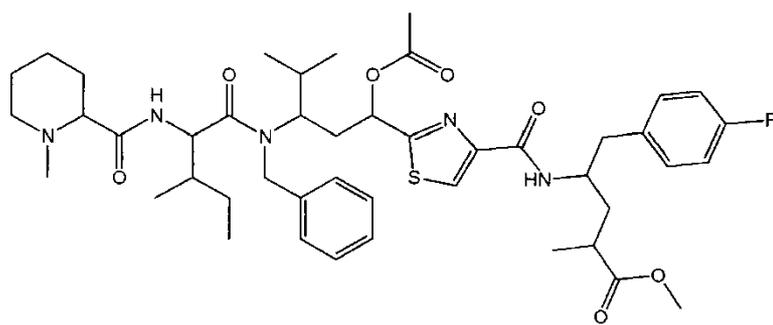


(ALVIII)

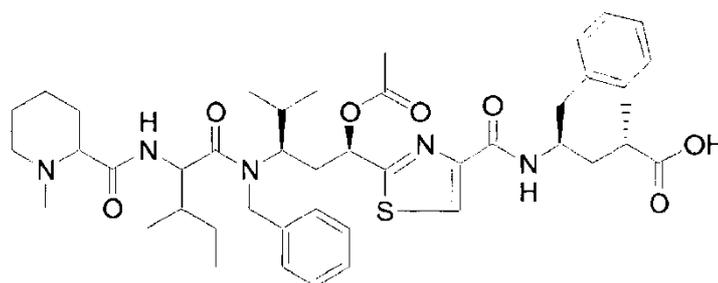


(ALIX)

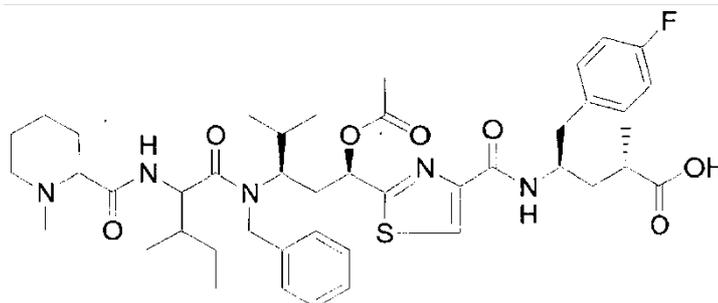
5



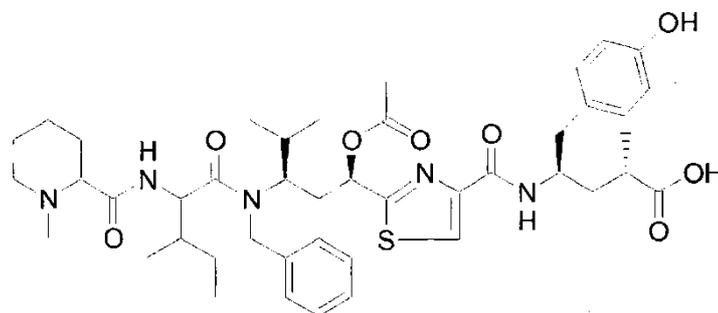
(ALX)



(ALXI)

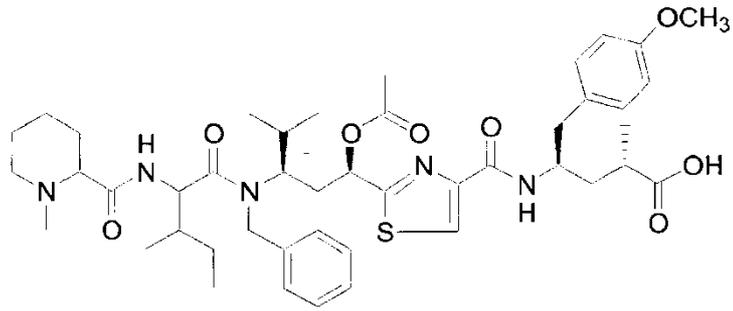


(ALXII)

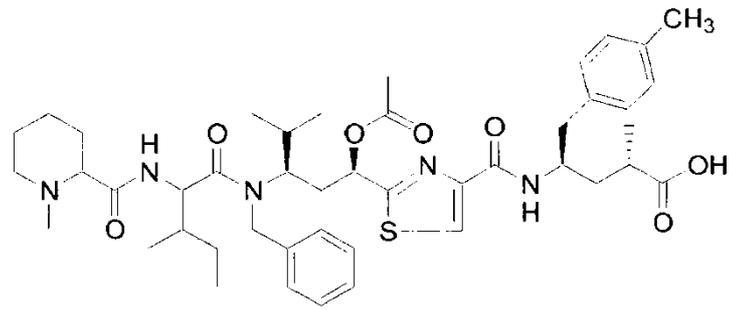


(ALXIII)

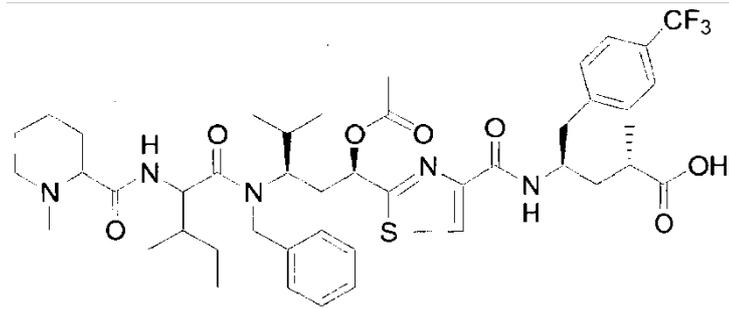
5



(ALXIV)

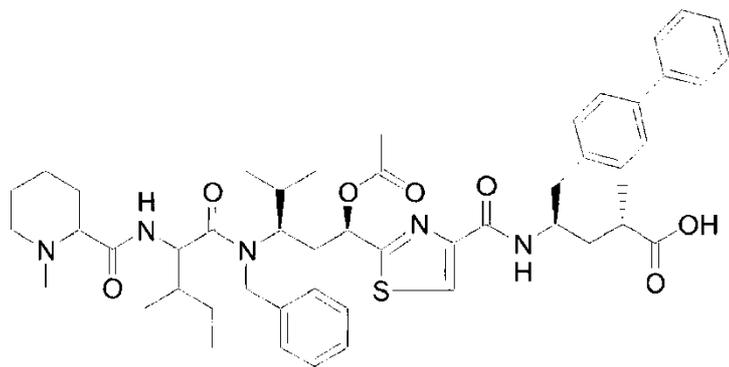


(ALXV)

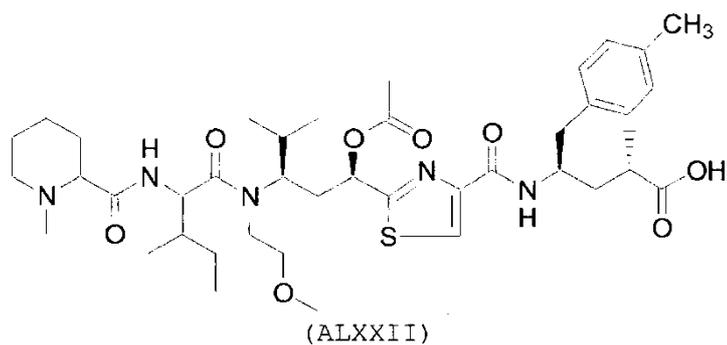
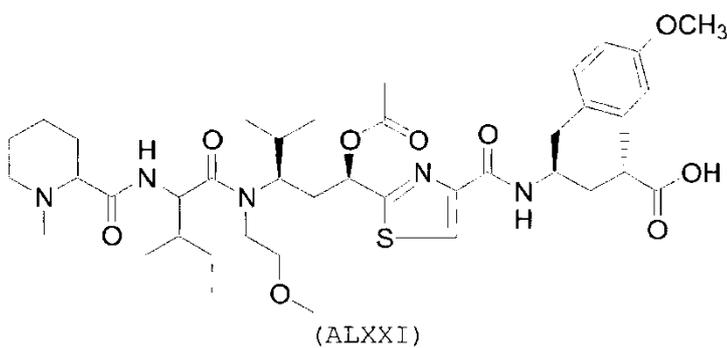
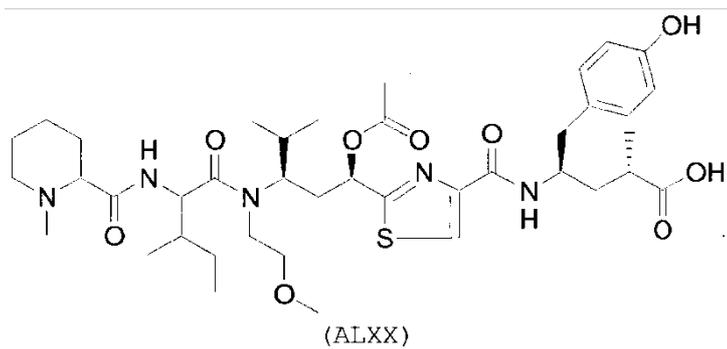
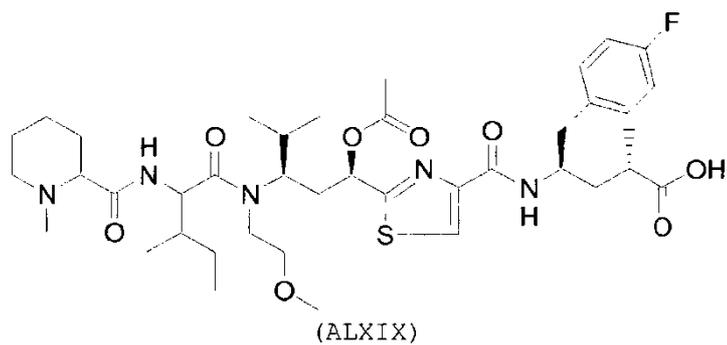
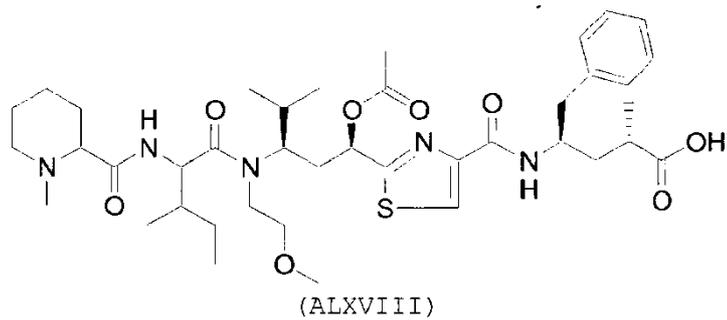


(ALXVI)

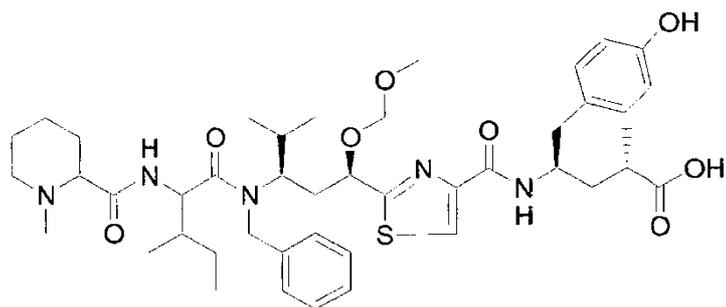
5



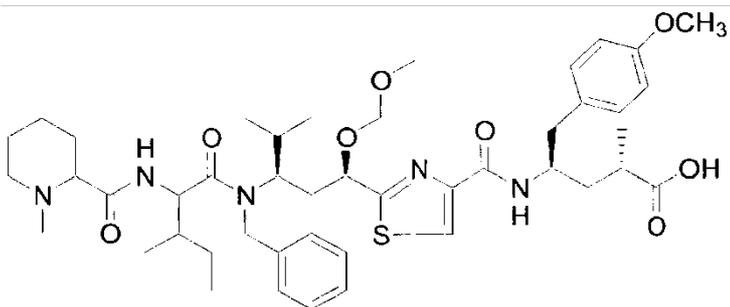
(ALXVII)



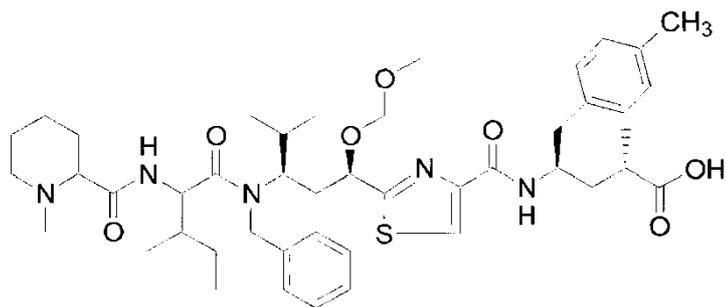
5



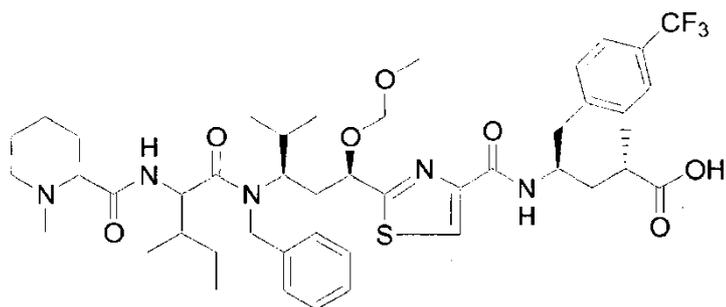
(ALXXVII)



(ALXXVIII)

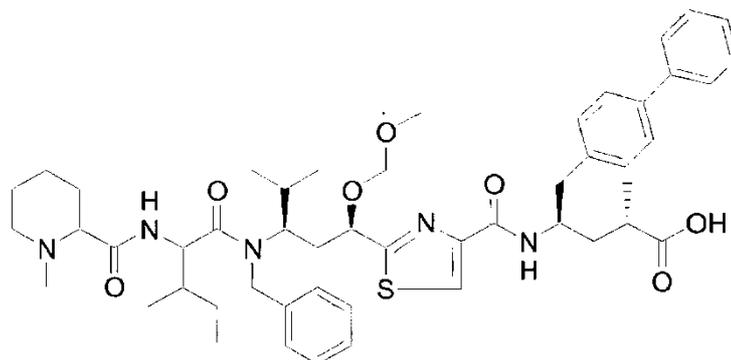


(ALXXIX)

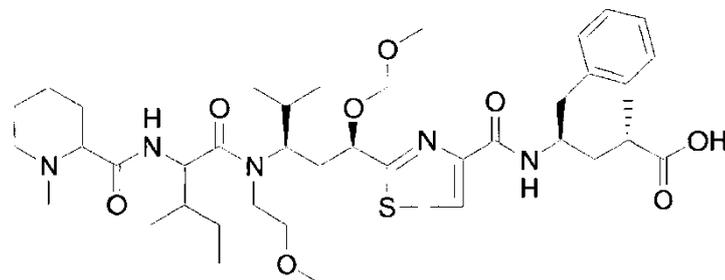


(ALXXX)

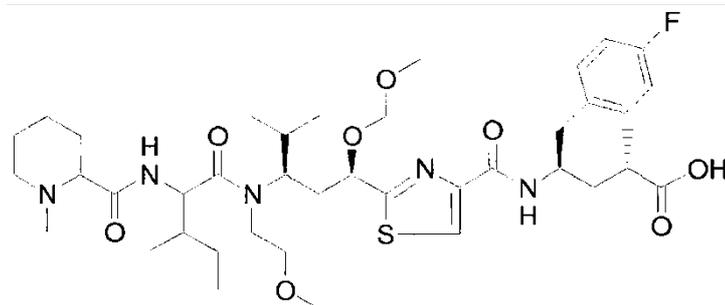
5



(ALXXXI)

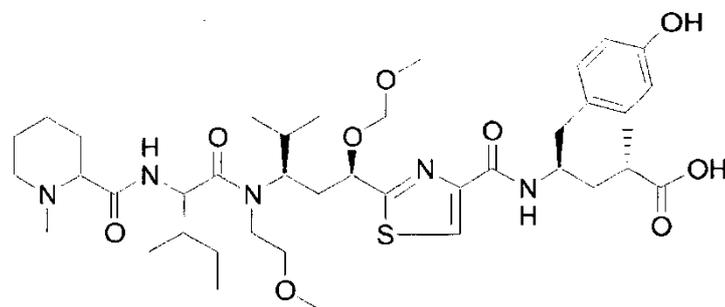


(ALXXXII)

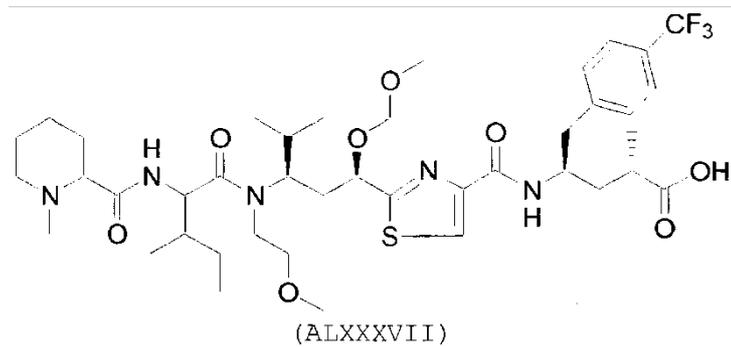
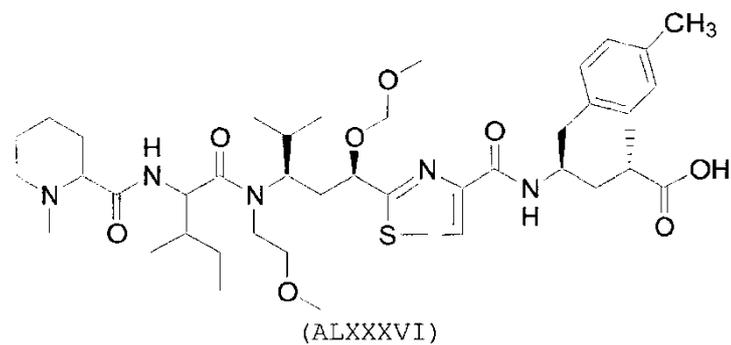
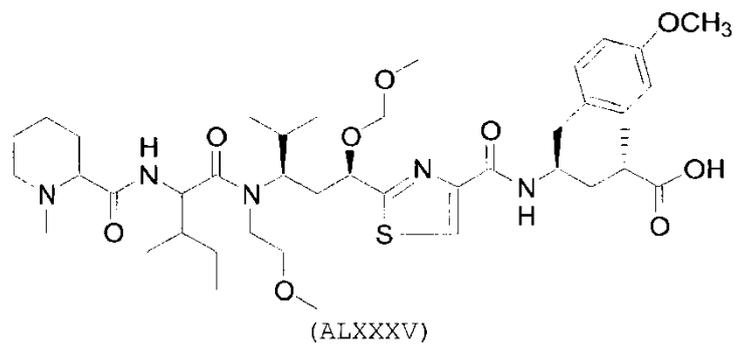


(ALXXXIII)

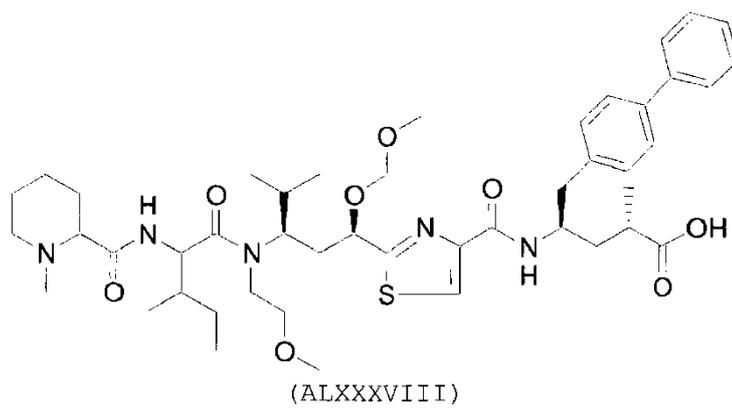
5

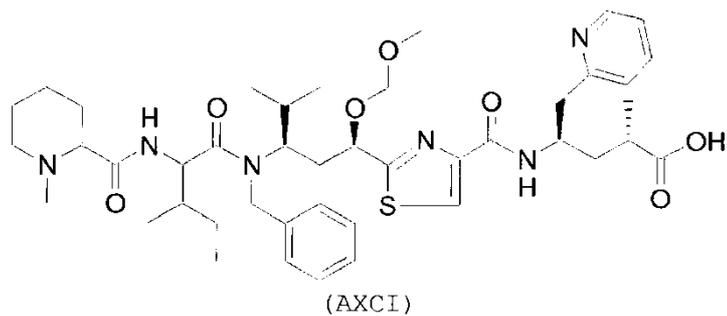
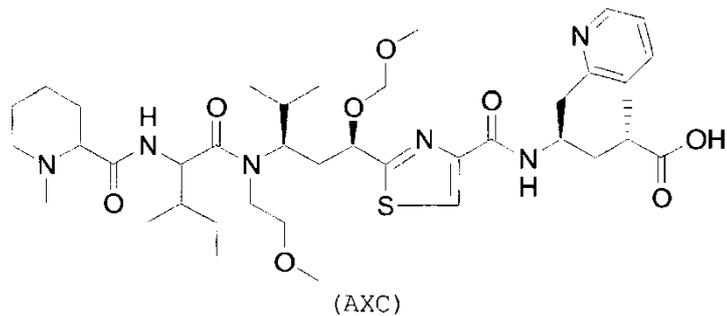
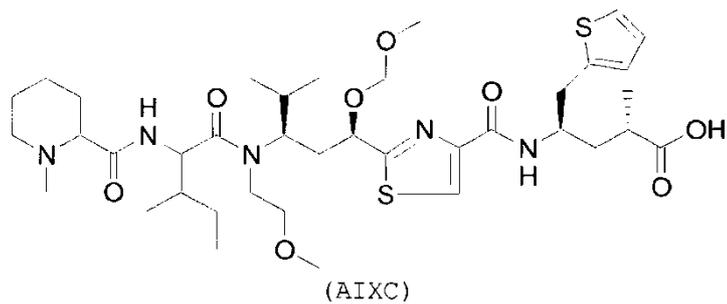


(ALXXXIV)

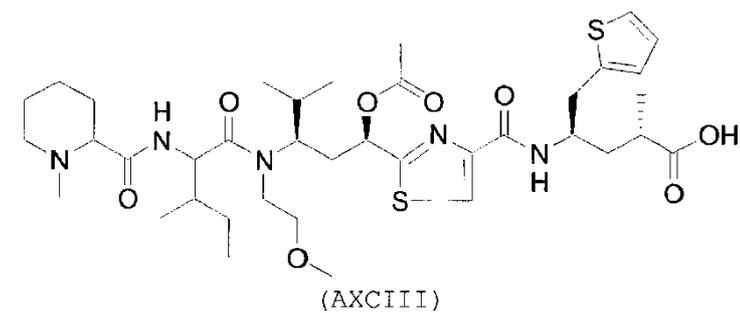
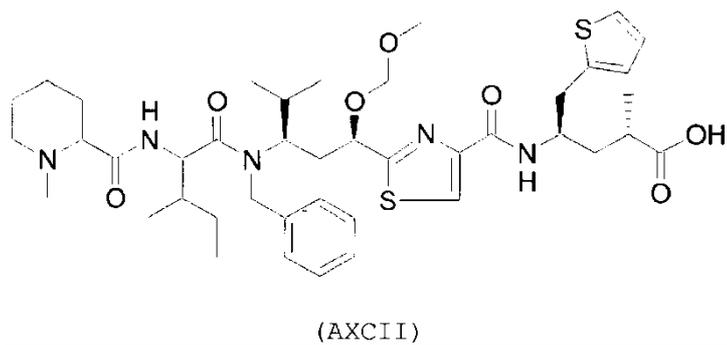


5

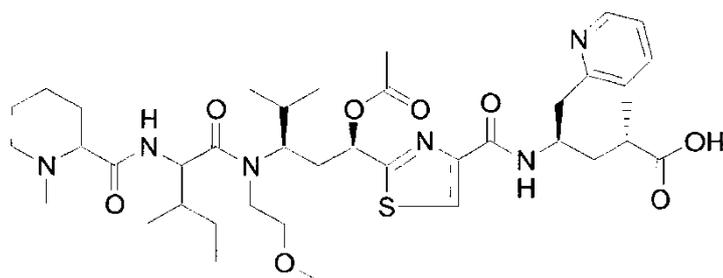




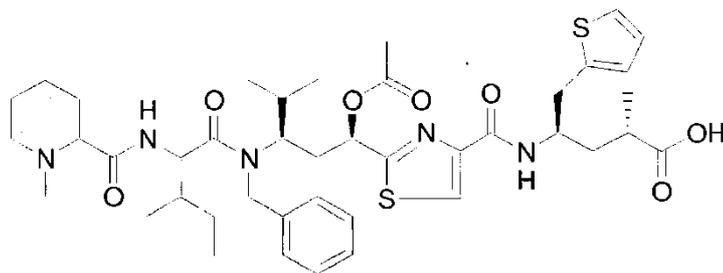
5



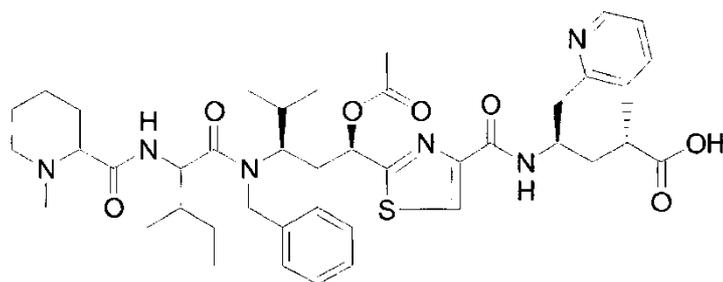
10



(AXCIV)

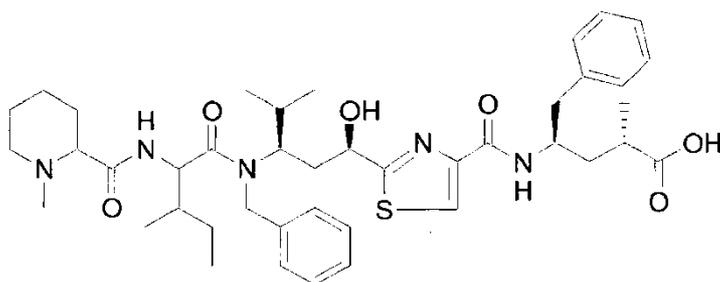


(AXCV)

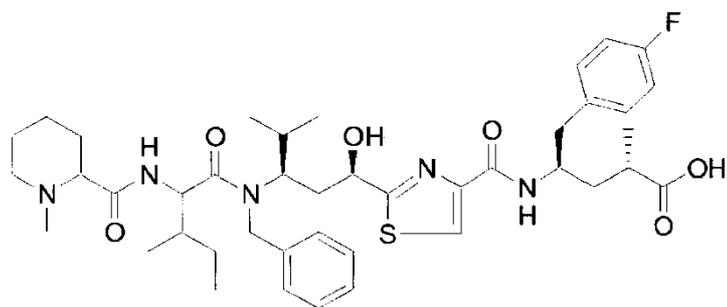


(AXCVI)

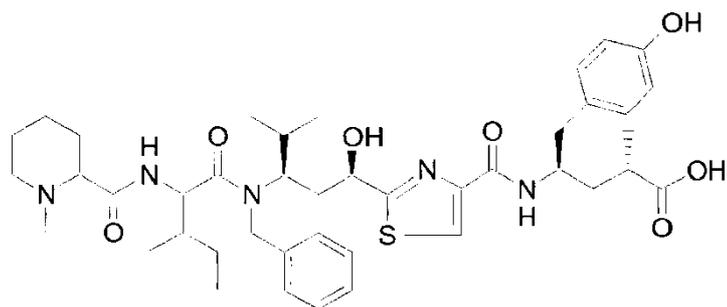
5



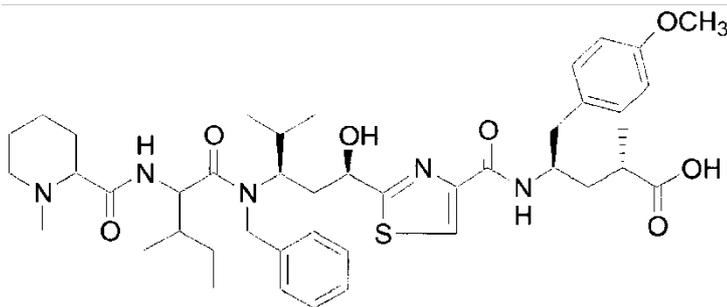
(AXCVII)



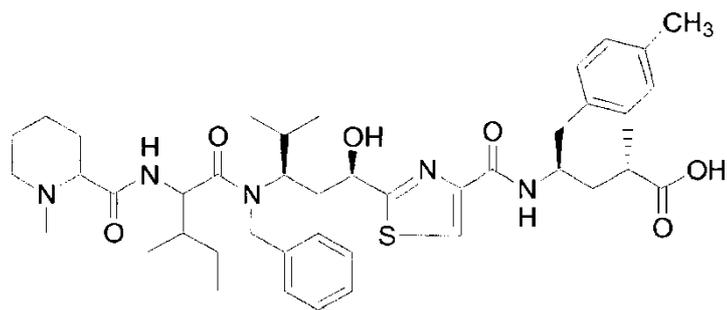
(AXCVIII)



(AIC)

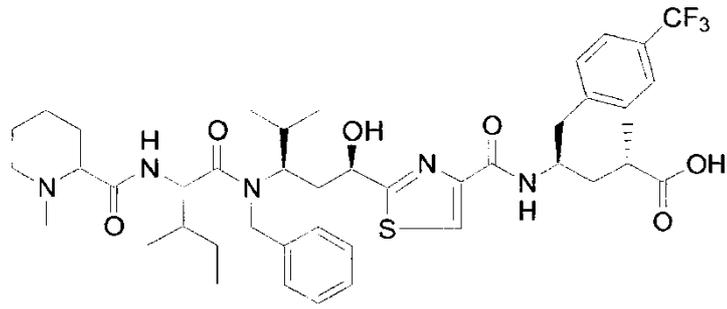


(AC)

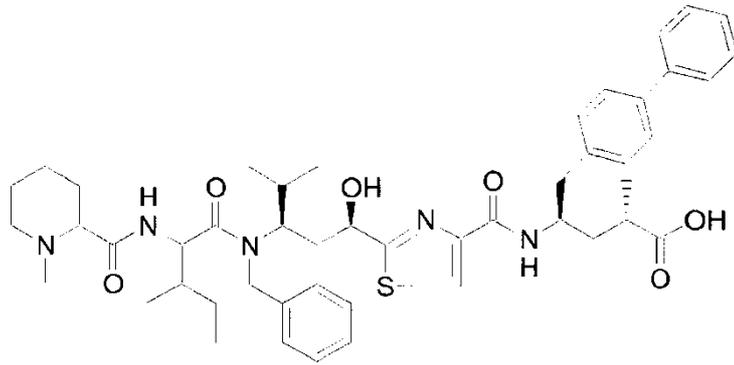


(ACI)

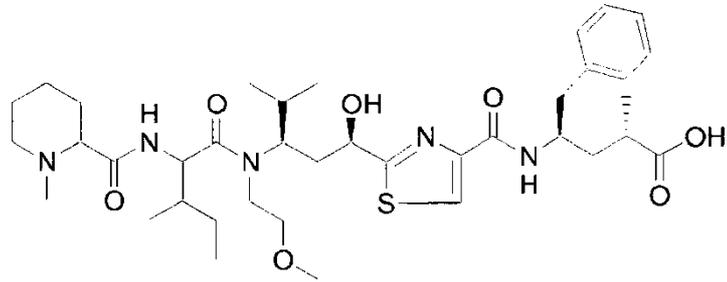
5



(ACII)

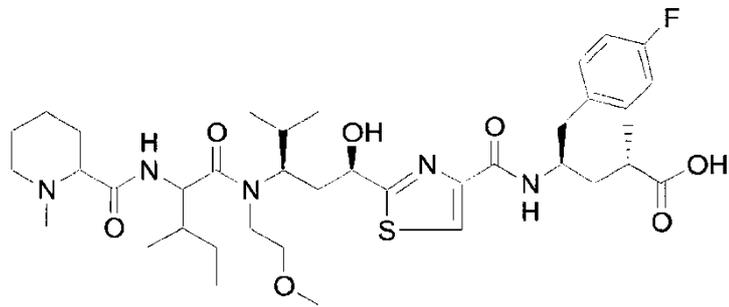


(ACIII)

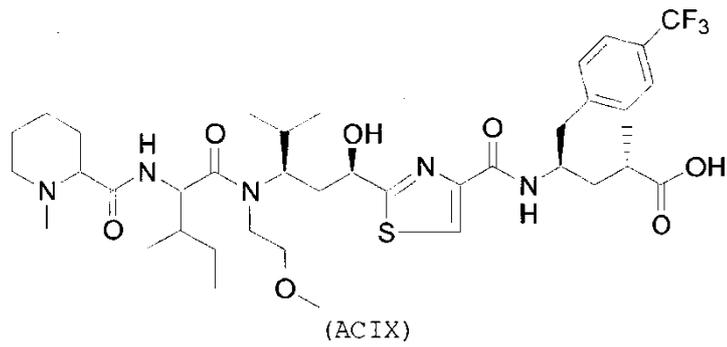
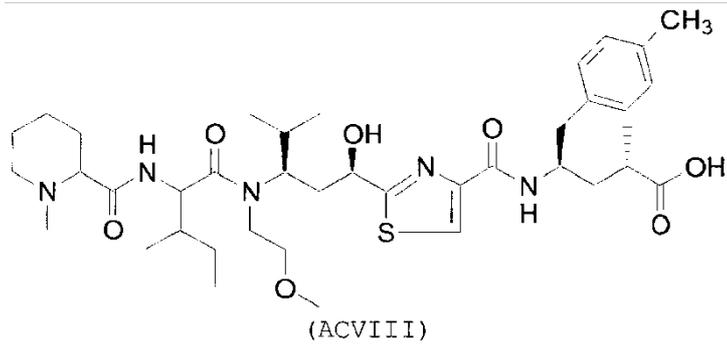
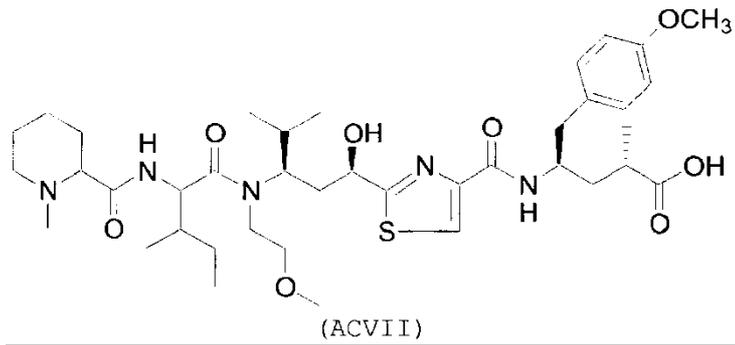
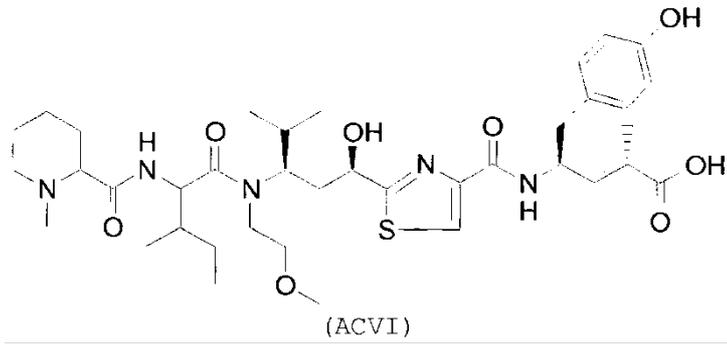


(ACIV)

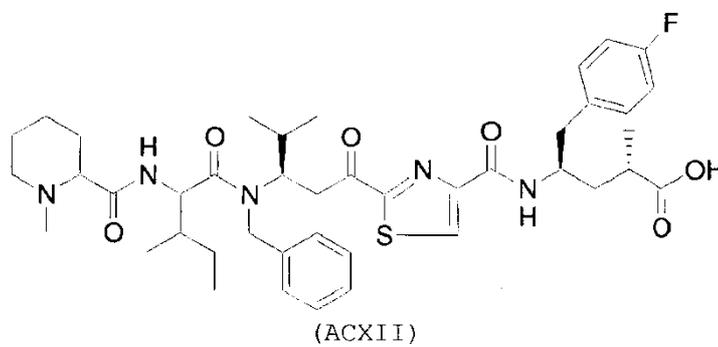
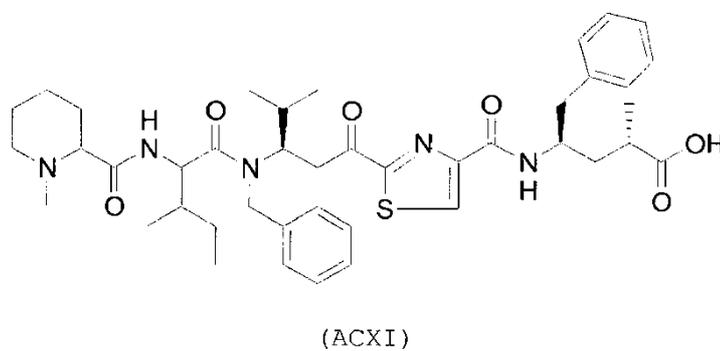
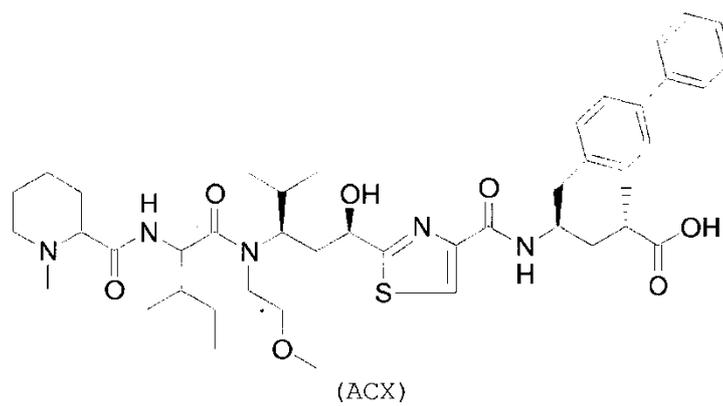
5



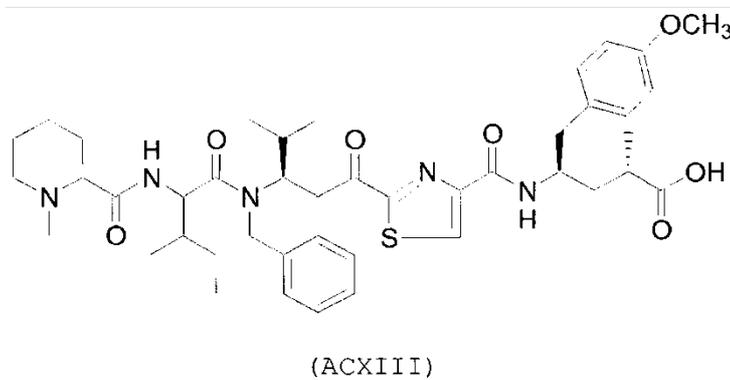
(ACV)

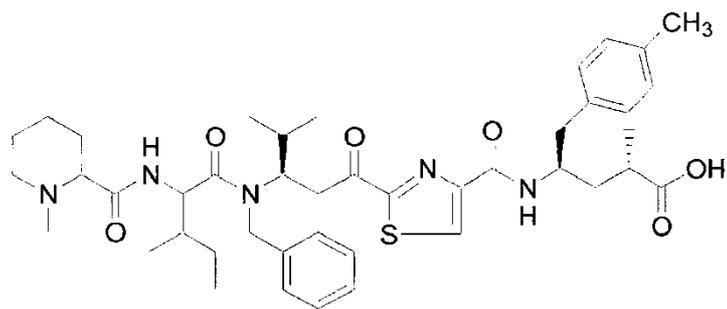


5

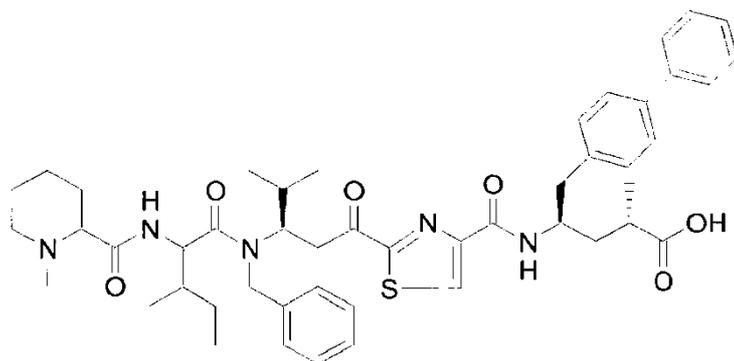


5

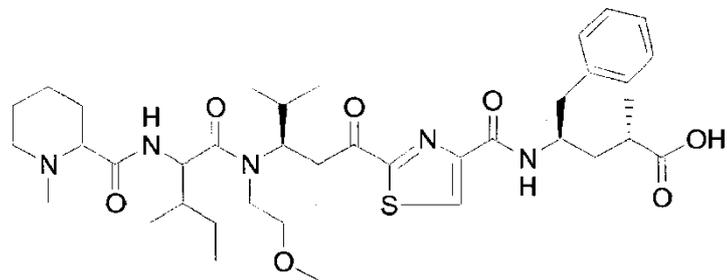




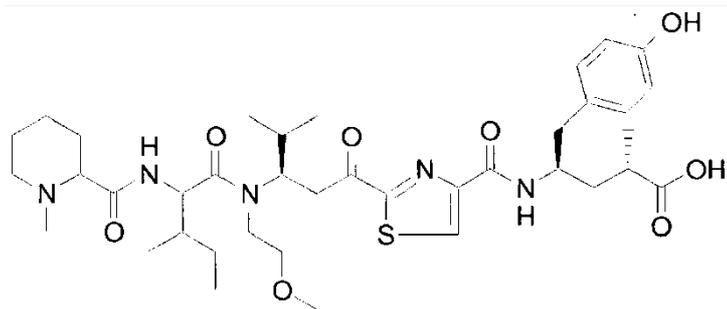
(ACXIV)



(ACXV)

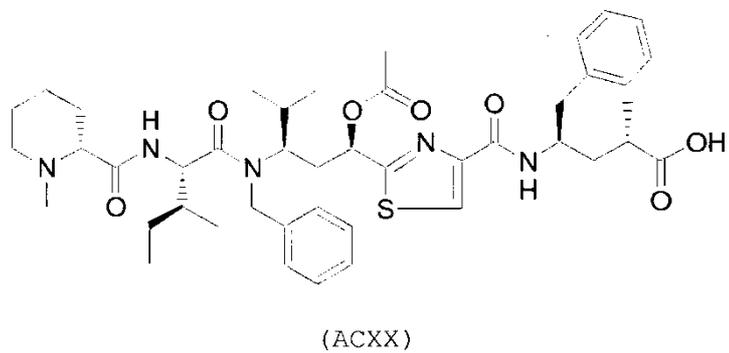
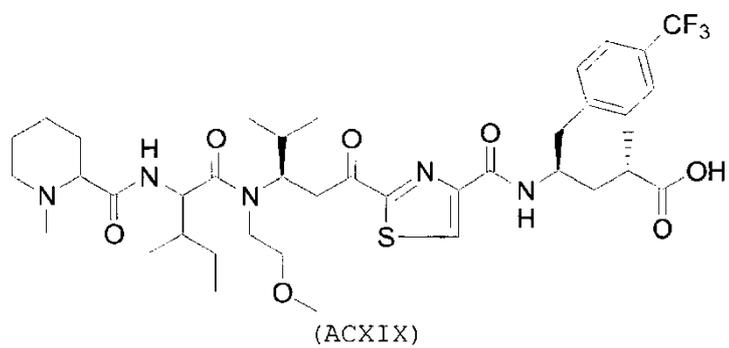
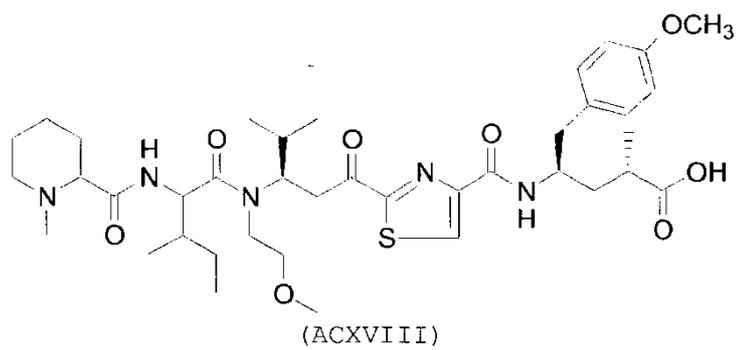


(ACXVI)

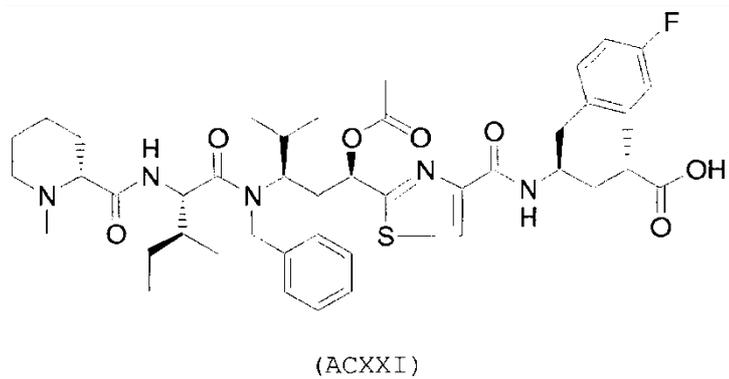


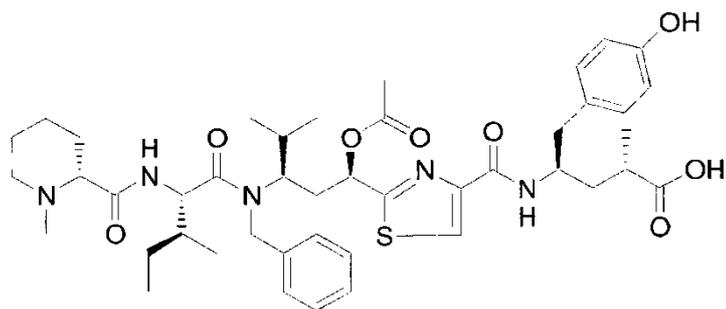
(ACXVII)

5

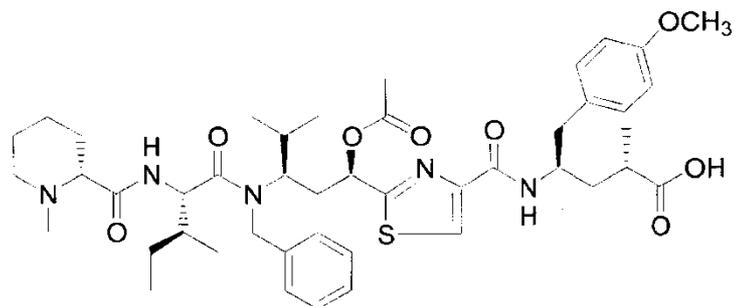


5

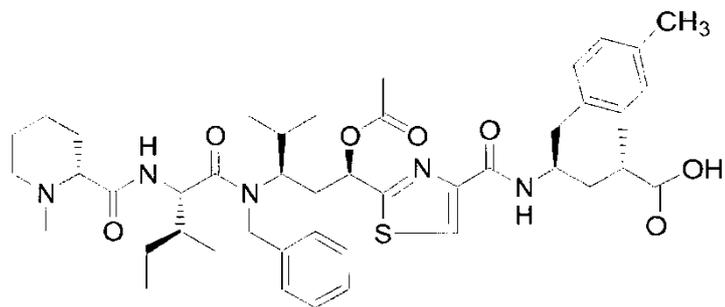




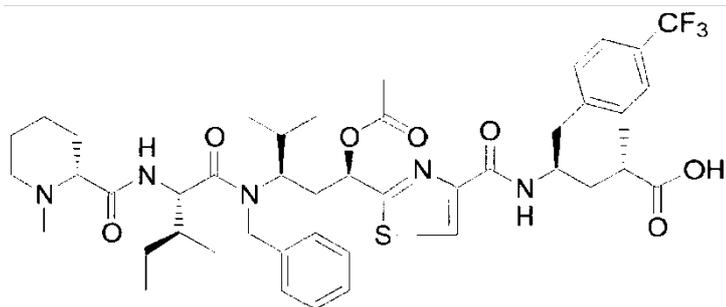
(ACXXII)



(ACXXIII)

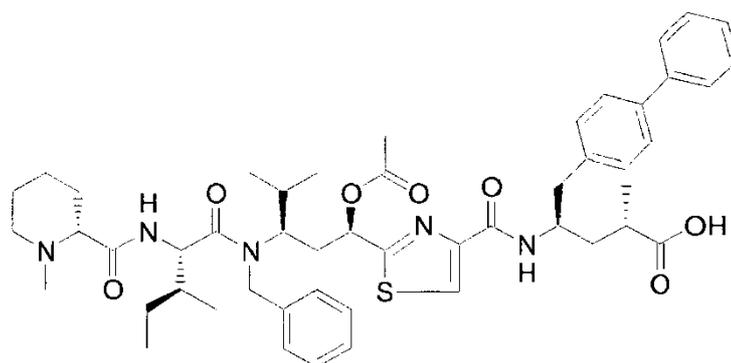


(ACXXIV)

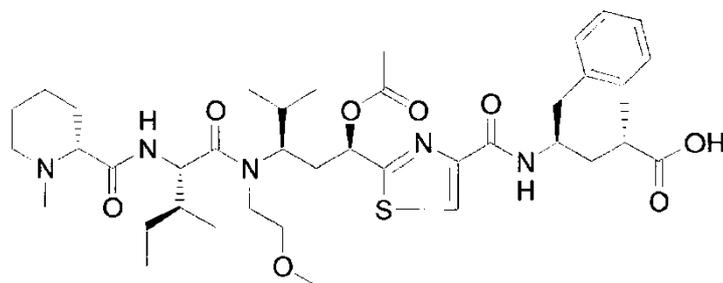


(ACXXV)

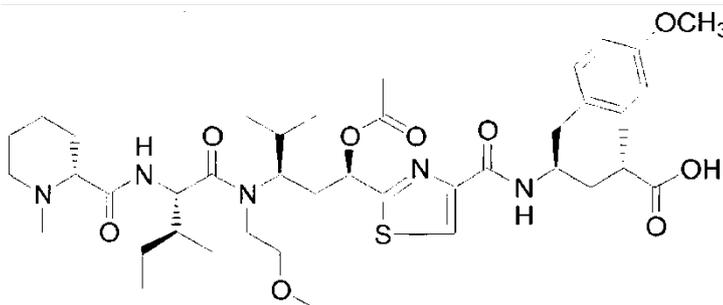
5



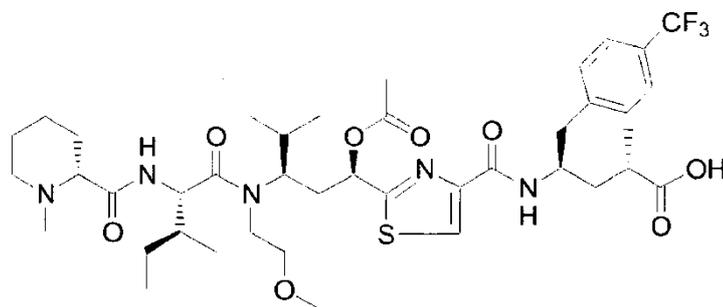
(ACXXVI)



(ACXXVII)

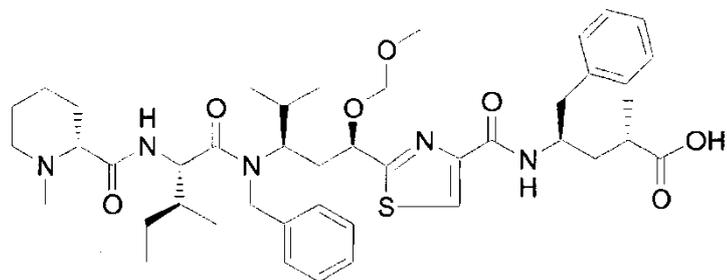


(ACXXVIII)

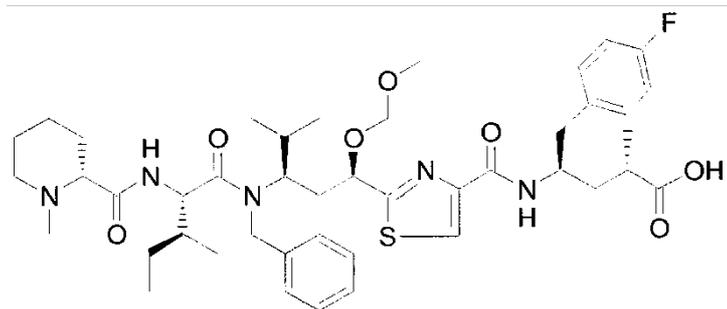


(ACXXIX)

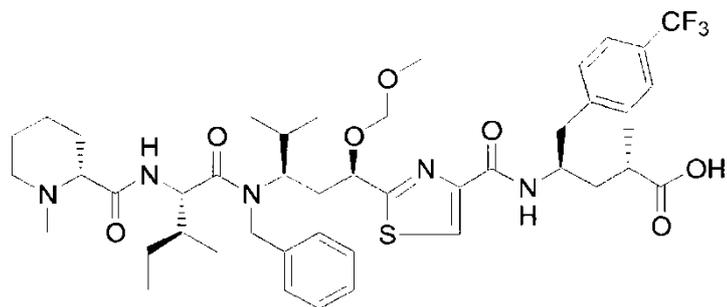
5



(ACXXX)

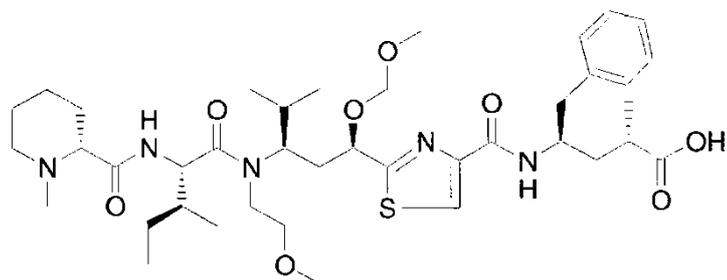


(ACXXXI)

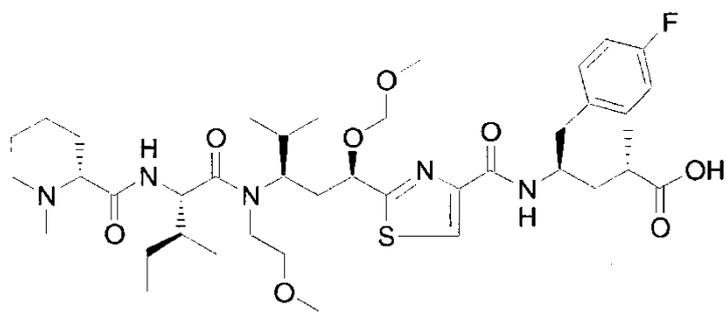


(ACXXXII)

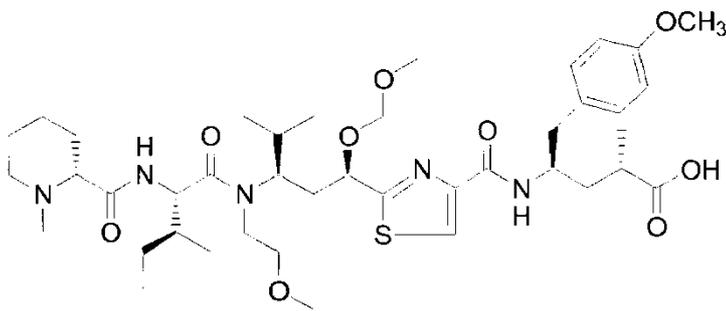
5



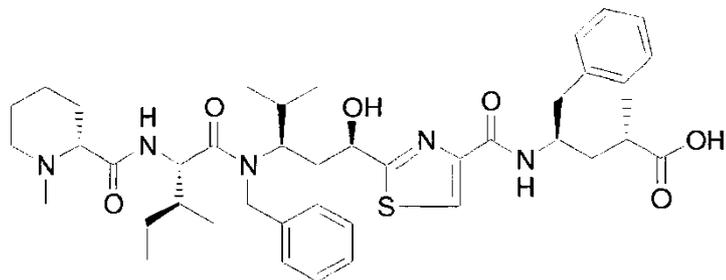
(ACXXXIII)



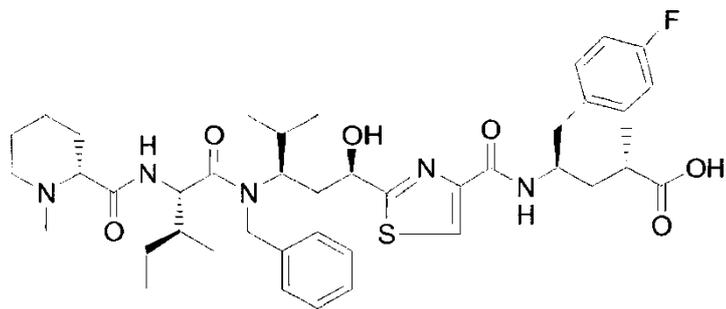
(ACXXXIV)



(ACXXXV)

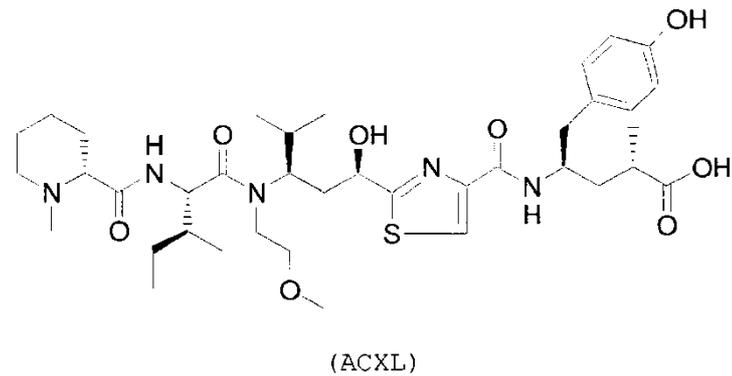
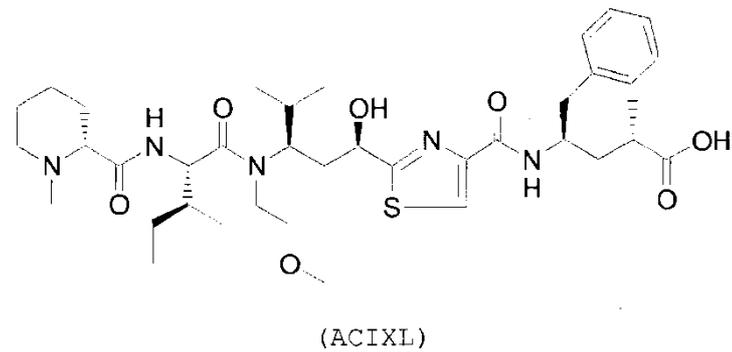
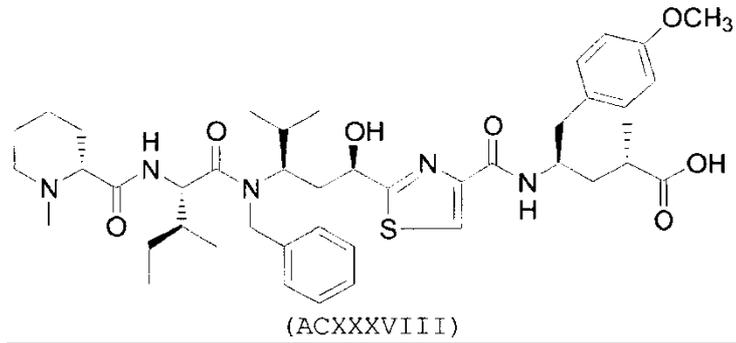


(ACXXXVI)

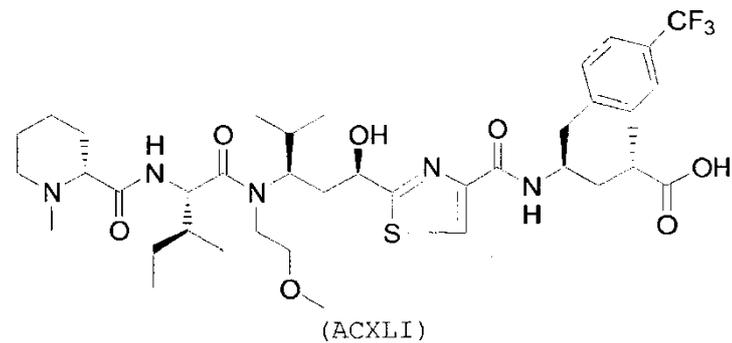


(ACXXXVII)

5



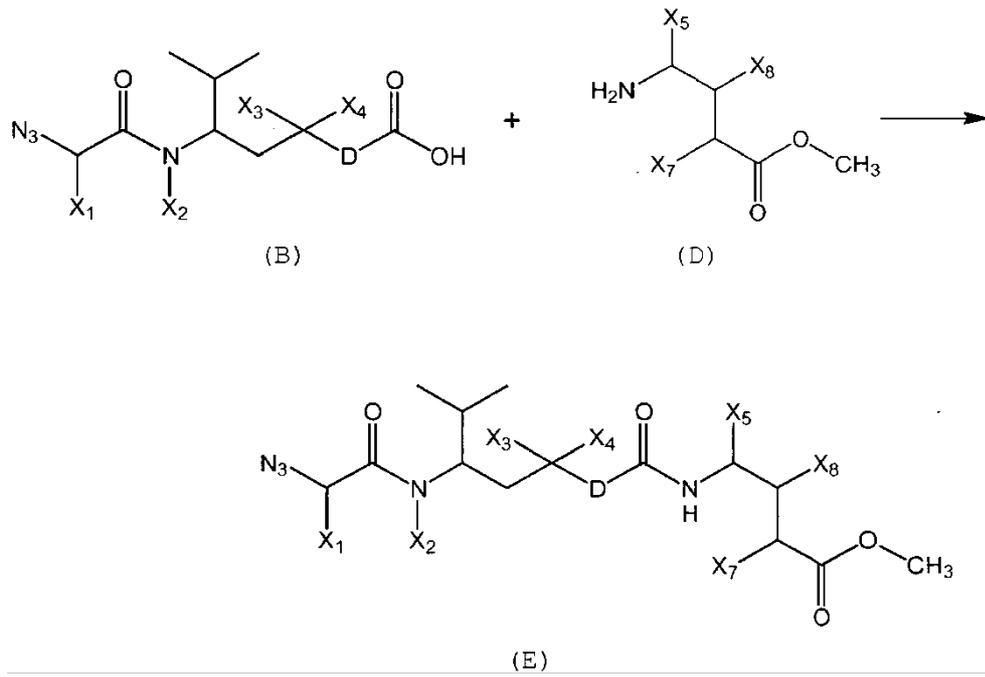
5



11. Procedimiento para preparar los compuestos de fórmula (A) según las reivindicaciones 1-10 cuando X₁, X₂, X₃, D, X₅, X₆, X₇, X₈ son como se definen anteriormente y X₄ se selecciona de halógeno, NR₆R₇, SH, (OR₅)_n-OR₆, alquilo, alqueno, que comprende las etapas siguientes:

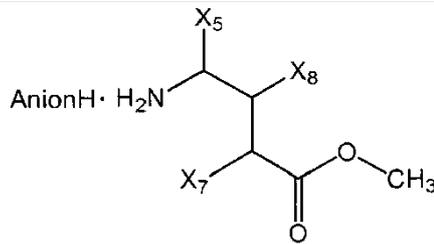
A-1) hacer reaccionar un ácido de fórmula (B) con un aminoéster de fórmula (D) para proporcionar un compuesto de fórmula (E)

15



en el que (D) se utiliza asimismo en forma de la sal correspondiente (Da) con un ácido orgánico o inorgánico AnionH,

5

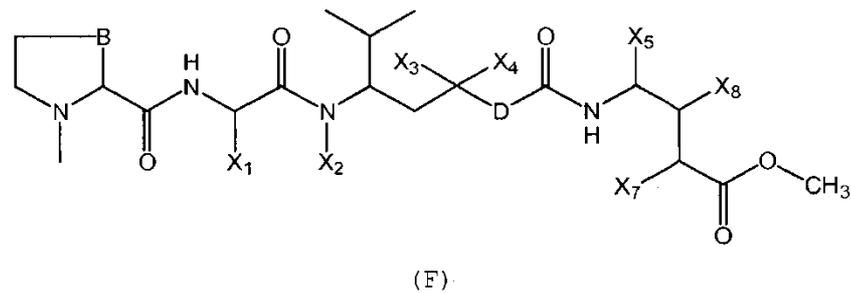
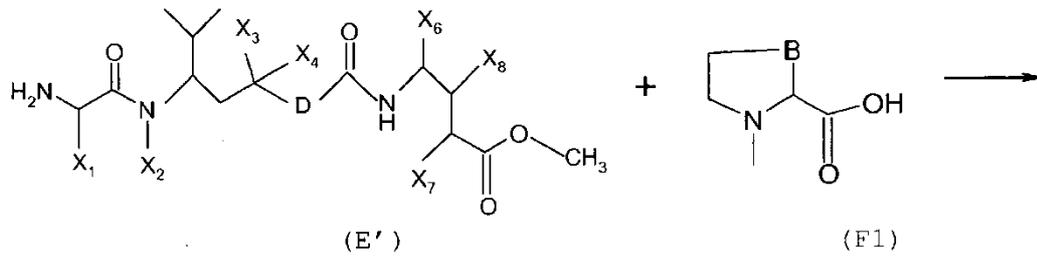


(Da)

A-2) hidrogenar el compuesto de fórmula (E) para proporcionar el aminoéster de fórmula (E'), en el que el grupo azida terminal se convierte en un grupo de amina primaria,

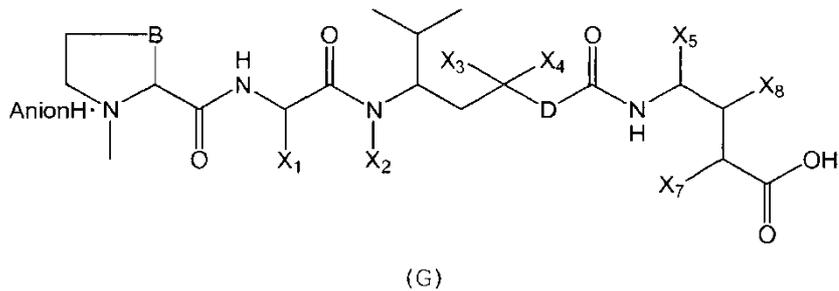
10

A-3) hacer reaccionar el aminoéster (E') con el ácido heterocíclico (F1) para proporcionar el éster (F),

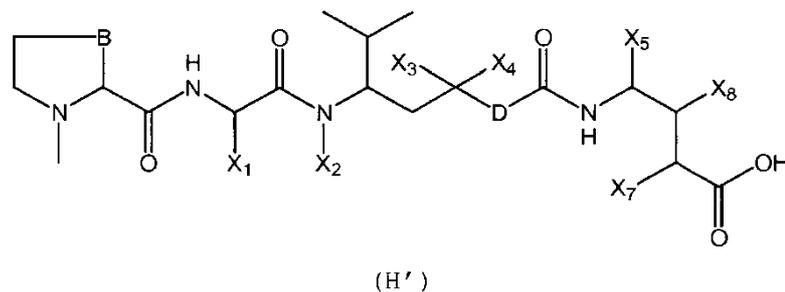


A-4) hidrolizar el grupo éster en un extremo de la cadena del compuesto (F) y tratar subsiguientemente con un ácido orgánico o inorgánico AnionH para proporcionar el compuesto (G),

5



A-5) neutralizar el compuesto (G) con una base orgánica para proporcionar el compuesto (H'),

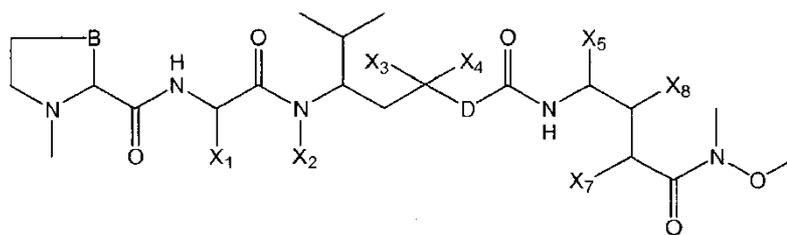


10

dependiendo del significado de X₆, se llevan a cabo las etapas A-6), A-7), A-8) siguientes

15 A-6) sintetizar los compuestos de fórmula (A) en la que X₆ se selecciona de uno de los grupos siguientes: NR₈R₉, OR₈, NH-NR₈R₉ o SR₈, mediante reacción de la función ácido carboxílico del compuesto (H') con los precursores de los grupos X₆,

20 A-7) en la alternativa, sintetizar los compuestos de fórmula (A) en la que X₆ es R₁₀, haciendo reaccionar el compuesto (H') con CH₃-O-NH-CH₃ y CH₃S(O)₂Cl, para producir el compuesto (HA1)



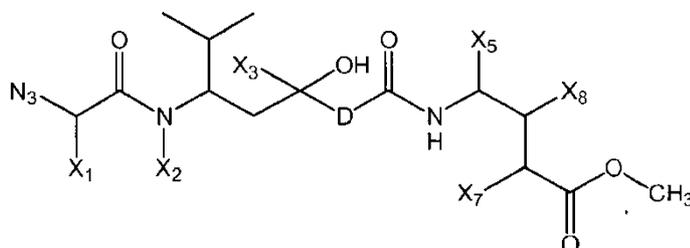
(HA1)

y la reacción subsiguiente de (HA1) con el reactivo de Grignard $R_{10}MgBr$,

- 5 A-8) para preparar los compuestos de fórmula (A) en la que $X_6 = H$, el grupo ácido carboxílico del compuesto (H') se reduce a un grupo aldehído,

cuando X_4 se selecciona de OH u $OC(O)R_7$, el procedimiento comprende las etapas siguientes, en sucesión:

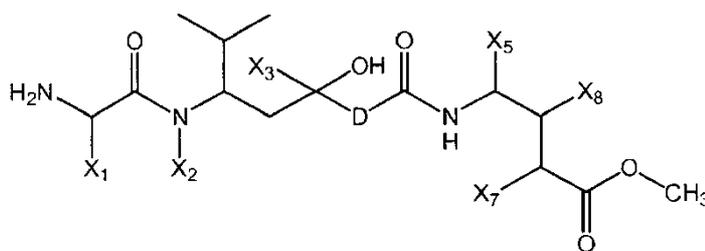
- 10 A-1') lo mismo que a-1), pero utilizando (B), en el que $X_4 = OH$, y obteniendo un compuesto de fórmula (E^I)



(E^I)

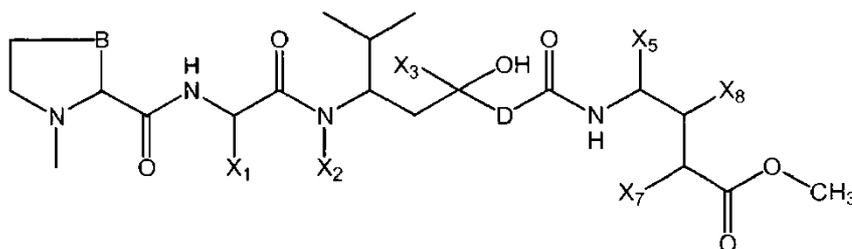
15

A-2') lo mismo que A-2), pero utilizando (E^I), para proporcionar el aminoéster de fórmula (E^{II})



(E^{II})

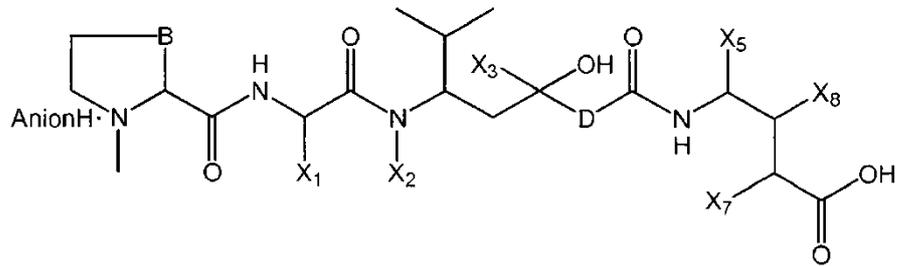
A-3') lo mismo que A-3), pero utilizando (E^{II}) para proporcionar el éster (F^I)



(F^I)

20

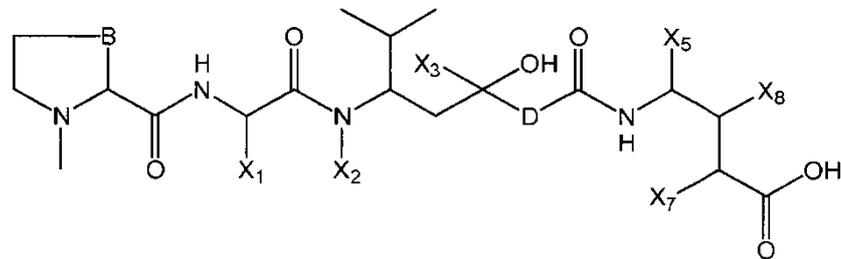
A-4') lo mismo que a-4), pero utilizando el compuesto (F^l) para obtener el compuesto (G')



(G')

5

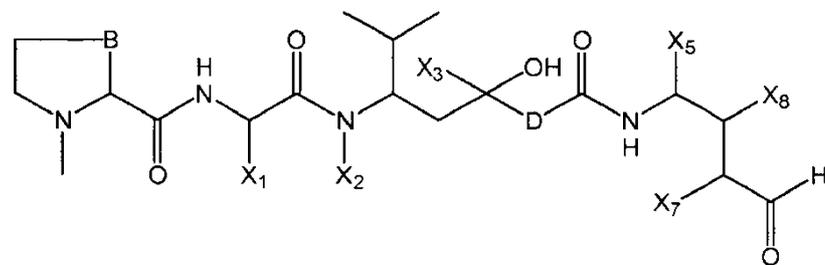
A-5') lo mismo que A-5), pero utilizando el compuesto (G') para obtener el compuesto (G[^])



(G[^])

10

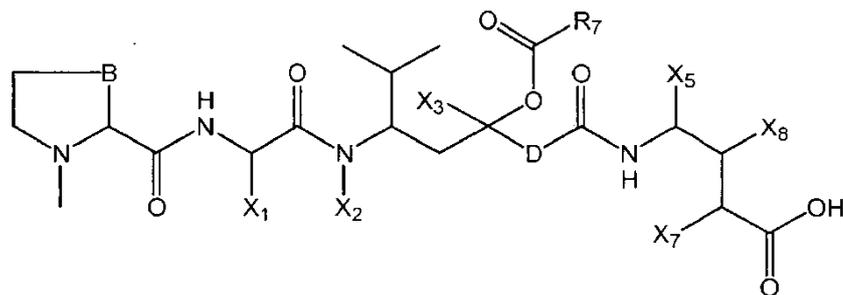
- etapa A-7') se repite la etapa A-8), pero utilizando el compuesto (G[^]) para obtener (G'')



(G'')

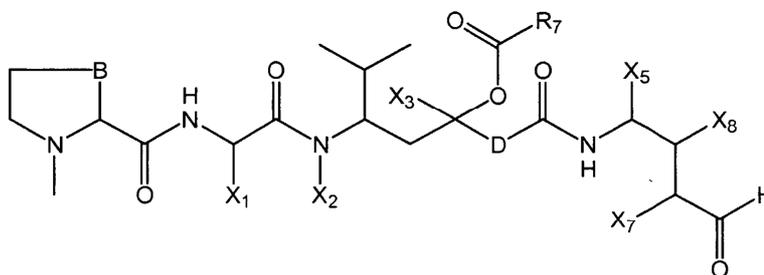
15

- etapa A-8') para preparar los compuestos de fórmula (A) en la que X₄ = OC(O)R₇ y X₆ = OH, el grupo hidroxilo del compuesto (G'), o el grupo hidroxilo del compuesto (G[^]) se acila con un ácido de fórmula R₇C(O)OH, para proporcionar el compuesto (H),



(H)

A-8'') para preparar los compuestos de fórmula (A) en la que $X_4 = OC(O)R_7$ y $X_6 = H$, se repite la etapa A-8'), pero utilizando compuesto (G''), para obtener el compuesto (H'')

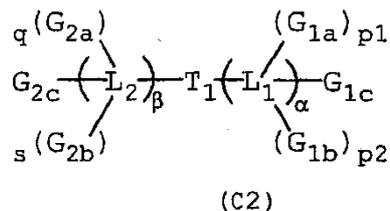
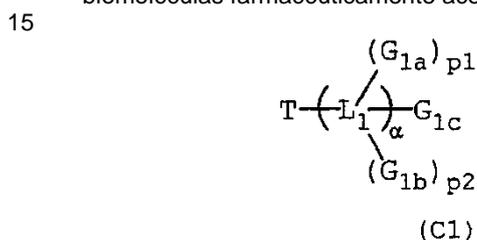


(H'')

5 - repetir la etapa A-6), pero utilizando el compuesto (H) o (H''), obteniendo los compuestos de fórmula (A) en la que X_6 presenta el mismo significado que en la etapa A-6) y $X_4 = OC(O)R_7$

10 - repetir la etapa A-7), pero utilizando el compuesto (H) o (H''), y obteniendo los compuestos de fórmula (A) en la que X_6 es R_{10} y $X_4 = OC(O)R_7$.

12. Compuestos conjugados que comprenden los compuestos según las reivindicaciones y polímeros y/o biomoléculas farmacéuticamente aceptables, que presentan las fórmulas siguientes:



en las que:

20 los índices p_1 , p_2 , q y s , iguales o diferentes entre sí, son números enteros iguales a 0 o 1,

T es un radical monovalente derivado de los compuestos de fórmula (A),

25 T_1 es un radical bivalente derivado de los compuestos de fórmula (A),

G_{1a} , G_{1b} , G_{1c} , G_{2a} , G_{2b} , G_{2c} , iguales o diferentes entre sí, son polímeros o biomoléculas farmacéuticamente aceptables,

30 L_1 y L_2 , iguales o diferentes entre sí, son ligadores que unen el radical T o T_1 de los compuestos de fórmula (A) a G_{1a} , G_{1b} , G_{1c} , G_{2a} , G_{2b} , G_{2c} , respectivamente,

α y β son números enteros iguales a cero o 1, con la condición de que cuando $\alpha = \beta = 0$, p_1 , p_2 , q y s son iguales a cero; cuando α y/o $\beta = 1$, la parte de L_1 y/o L_2 unida a los grupos G_i ($i = 1a, 1s, 1b, 2a, 2b, 2c$) es monovalente, bivalente o trivalente, dependiendo de los valores de p_1 , p_2 , s y q .

35 13. Compuestos conjugados según la reivindicación 12, en los que L_1 y L_2 se seleccionan de entre alquileno, alquenileno, alquinileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, cicloalquileno, alquilcicloalquileno, heteroalquilcicloalquileno, heterocicloalquileno, alquilenoarilo, arilalquileno, alquilenoarilalquileno, heteroarilalquileno, alquilenoheteroarilo, que contienen opcionalmente enlaces S-S y/o enlaces N-N, cadenas peptídicas, que contienen opcionalmente enlaces S-S y/o enlaces N-N.

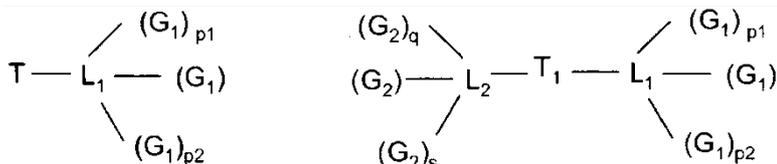
40 14. Compuestos conjugados según las reivindicaciones 12-13 de fórmula (C1), en la que $p_1 = p_2 = 0$.

45 15. Compuestos conjugados según las reivindicaciones 12-14, que comprenden uno o más polímeros y/o biomoléculas farmacéuticamente aceptables seleccionados de los compuestos siguientes: proteínas, hormonas, aptámeros, polisacáridos, anticuerpos o sus fragmentos, cadenas peptídicas o péptidos, vitaminas, avidina, estreptavidina, polietilenglicoles, polímeros naturales, dendrímeros, nanotubos de carbono, ciclodextrinas, ciclodextrinas modificadas, polímeros sintéticos.

16. Procedimiento para la síntesis de los compuestos conjugados según las reivindicaciones 12-15, que comprende las etapas siguientes:

5 - cuando en las fórmulas (C1) y (C2) tanto α como β son diferentes de cero:

Con-1) la reacción en un disolvente orgánico inerte entre uno o dos precursores de los ligadores L_1 y L_2 y el compuesto de fórmula (A), para obtener los compuestos (C1a) y (C2a):



(C1a)

(C2a)

en las que G_1 y G_2 , iguales o diferentes entre sí, presentan los significados siguientes:

hidrógeno,

OH, cuando la valencia de los ligadores a los que están enlazados G_1 y G_2 no está en un átomo de oxígeno,

p_1 , p_2 , q y s son como se definen en las fórmulas (C1) y (C2),

Con-2) la reacción entre los polímeros o biomoléculas G_{1a} , G_{1b} , G_{1c} , G_{2a} , G_{2b} , G_{2c} y los compuestos de fórmula (C1a) o (C2a), para obtener los compuestos conjugados de fórmula (C1) o (C2), respectivamente;

- cuando $\alpha = \beta = 0$, Con-1) está ausente y se lleva a cabo con-2, pero utilizando el compuesto (A) en lugar del compuesto (C1a) o (C2a);

- cuando uno de los índices α o β es igual a cero,

se llevan a cabo Con-1) y Con-2) para obtener el compuesto, o el grupo en la molécula, que presenta el índice que es diferente de cero,

se lleva a cabo Con-2) para obtener el compuesto, o el grupo en la molécula, que presenta el índice igual a cero, pero utilizando el compuesto (A) en lugar de los compuestos (C1a) o (C2a).

17. Compuestos de fórmula (C1a) o (C2a) según la reivindicación 12, obtenibles haciendo reaccionar los compuestos de las reivindicaciones 1-10 con al menos un precursor de los ligadores L_1 o L_2 .

18. Composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos según las reivindicaciones 1-10 y/o los compuestos conjugados según las reivindicaciones 12-15, y/o los compuestos según la reivindicación 17.

19. Composiciones farmacéuticas según la reivindicación 18 en forma de microemulsiones, emulsiones, o que comprenden microemulsiones o emulsiones, que comprenden los componentes (% en peso) siguientes:

S) de 0,01 a 95% de uno o más compuestos farmacéuticamente aceptables, seleccionados de entre las clases siguientes:

- tensioactivos seleccionados de entre tensioactivos no iónicos, aniónicos, catiónicos, y anfóteros, que contienen opcionalmente átomos de flúor,

- polímeros que forman estructuras organizadas como agregados, micelas, cristales líquidos, vesículas, en el líquido en el que se solubilizan,

O) de 0 a 95% de uno o más aceites seleccionados de entre las clases siguientes de compuestos farmacéuticamente aceptables:

- ésteres de ácidos de C_4 - C_{32} , que contienen opcionalmente una o más insaturaciones etilénicas,

- ácidos de C₄-C₃₂ que contienen opcionalmente una o más insaturaciones de tipo etilénico, cuando la composición final presenta un pH de manera que el ácido no se transforma en la sal correspondiente,
- 5 PA) de 0,001 a 90% de compuestos según las reivindicaciones 1-10 y/o de compuestos conjugados según las reivindicaciones 12-15, y/o de los compuestos según las reivindicaciones 17-18,
- AD) de 0 a 60% en peso de uno o más compuestos seleccionados de entre las clases siguientes:
- 10 - modificadores de la polaridad del agua y/o del aceite,
 - modificadores de la curvatura de película del componente S),
 - 15 - cotensioactivos,
- WA) de 0,001 a 99,9% de agua o de una disolución acuosa salina, opcionalmente tamponada, siendo la suma de los componentes 100%.
- 20 20. Composiciones farmacéuticas según la reivindicación 18 en forma de, o que comprenden micro- y/o nanopartículas de sílice, o lípidos y/o polímeros y/o biomoléculas farmacéuticamente aceptables, y que comprenden además los compuestos según las reivindicaciones 1-10 y/o los compuestos conjugados según las reivindicaciones 12-15, y/o los compuestos según la reivindicación 17.
- 25 21. Compuestos según las reivindicaciones 1-10 y/o compuestos conjugados según las reivindicaciones 12-15, y/o compuestos según la reivindicación 17, o sus composiciones farmacéuticas, para su utilización como un medicamento.
- 30 22. Utilización de los compuestos según las reivindicaciones 1-10 y/o de los compuestos conjugados según las reivindicaciones 12-15, y/o los compuestos según la reivindicación 17, y sus composiciones farmacéuticas, para preparar fármacos para el tratamiento en mamíferos y en seres humanos de enfermedades tumorales y/o enfermedades asociadas con la angiogénesis.
- 35 23. Utilización según la reivindicación 21, en la que los compuestos según las reivindicaciones 1-10, y/o según las reivindicaciones 12-15 y/o según la reivindicación 17 se combinan con fármacos que presentan una actividad antitumoral y/o con radioterapia.