(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 528 956**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/08 (2006.01)
C07K 7/02 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2011** **E 11725412 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.11.2014** **EP 2579887**

(54) Título: **Nuevos derivados de auristatina y su uso**

(30) Prioridad:

10.06.2010 EP 10165550
16.03.2011 EP 11158464

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2015

(73) Titular/es:

SEATTLE GENETICS, INC. (100.0%)
21823 30th Drive, S.E.
Bothell, WA 98021, US

(72) Inventor/es:

LERCHEN, HANS-GEORG;
STELTE-LUDWIG, BEATRIX;
GOLFIER, SVEN;
SCHUHMACHER, JOACHIM y
KRENZ, URSULA

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 528 956 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).

DESCRIPCION

Nuevos derivados de auristatina y su uso

La presente solicitud se refiere a nuevos derivados de monometilauristatina F, a procedimientos para la preparación de estos derivados, al uso de estos derivados para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, así como al uso de estos derivados para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o prevención de enfermedades, en particular de enfermedades hiperproliferativas y/o angiogénicas tales como, por ejemplo, enfermedades cancerígenas. Tratamientos de este tipo pueden tener lugar como monoterapia o también combinación con otros medicamentos u otras medidas terapéuticas.

Las enfermedades cancerígenas son la consecuencia de un crecimiento incontrolado de células de los más diversos tejidos. En muchos casos, las nuevas células penetran en el tejido existente (crecimiento invasivo), o metastatizan en órganos alejados. Las enfermedades cancerígenas se manifiestan en los más diversos órganos y, a menudo, tienen cursos de la enfermedad específicos para el tejido. Por lo tanto, la designación enfermedad cancerígena como concepto genérico describe un gran grupo de enfermeaddes definidas de diferentes órganos, tejidos y tipos de células.

Tumores de estadios anteriores se pueden eliminar eventualmente mediante medidas quirúrgicas y radioterapéuticas. Por norma general, tumores metastatizados pueden tratarse mediante agentes quimioterapéuticos sólo de forma paliativa. El objetivo en este caso es alcanzar la combinación óptima de una mejora de la calidad de vida y una prolongación del tiempo de vida.

La mayoría de los agentes quimioterapéuticos administrados hoy en día por vía parenteral no están, a menudo, dirigidos metódicamente al tejido tumoral o a las células tumorales, sino que, por la administración sistémica, están distribuidos en el cuerpo de manera inespecífica, es decir, también en lugares en los que no se desea una exposición de la sustancia activa tales como, por ejemplo, en células, tejidos y órganos sanos. Esto puede conducir a efectos secundarios indeseados hasta alcanzar efectos generalmente tóxicos agravantes, que entonces limitan, a menudo fuertemente, el intervalo de dosis terapéuticamente útil o requieren una supresión completa de la medficación.

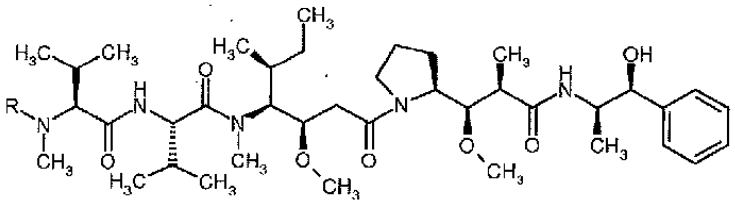
La disponibilidad mejorada y selectiva de estos agentes quimioterapéuticos en la célula tumoral o el tejido directamente circundante y el aumento de la actividad ligada con ello, por una parte, y la minimización de efectos secundarios tóxicos por otra, se encuentra desde hace muchos años en el foco del desarrollo de nuevos agentes quimioterapéuticos. Hasta la fecha se han acometido muchos intentos para desarrollar métodos eficaces para la incorporación de la sustancia activa en la célula diana. La optimización de la asociación entre sustancia activa y diana intracelular y la minimización de la distribución intercelular de la sustancia activa, por ejemplo en células vecinas, sigue representando una misión difícil.

Para el direccionamiento metódico de tejido tumoral y células tumorales son adecuados, por ejemplo, anticuerpos monoclonales. La importancia de este tipo de anticuerpos para el tratamiento clínico de enfermedades cancerígenas ha aumentado considerablemente, en general, en los últimos años, basado en la actividad de este tipo de agentes tales como Trastuzumab (Herceptina), Rituximab (Rituxan), Cetuximab (Erbitux) y Bevacizumab (Avastina), que entretanto están admitidos para la terapia de enfermedades cancerígenas individuales y específicas [véase, p. ej., G. P. Adams y L. M. Weiner, Nat. Biotechnol. 23, 1147-1157 (2005)]. Como consecuencia de ello, también ha aumentado claramente el interés por los denominados inmunoconjugados, en los que un anticuerpo internalizado, dirigido contra un antígeno asociado a un tumor está unido de manera covalente, a traves de una unidad de enlace ("enlazador") con un agente de acción citotóxica, el cual, después de la infiltración y subsiguiente disociación del conjugado dentro de la célula tumoral y puede desplegar allí, directa y selñectivamente, su acción. De este modo el deterioro de tejido normal podría mantenerse en límites significativamente más estrechos en comparación con una quimioterapia convencional de la enfermedad cancerígena [véase, p. ej. J. M. Lambert, Curr. Opin. Pharmacol. 5, 543-549 (2005); A. M. Wu y P. D. Senter, Nat. Biotechnol. 23, 1137-1146 (2005); P. D. Senter, Curr. Opin. Chem. Biol. 13, 235-244 (2009); L. Ducry y B. Stump, Bioconjugate Chem. 21, 5-13 (2010)].

En lugar de anticuerpos también pueden utilizarse ligandos del sector de sustancias activas de pequeñas moléculas, que se unen selectivamente a un sitio diana especial ("diana") tal como, por ejemplo, a un receptor [véase, p. ej., E. Ruoslahti et al., Science 279, 377-380 (1998); D. Karkan et al., PLoS ONE 3 (6), e2469 (25 de junio de 2008)]. Se conocen también conjugados a base de una sustancia activa citotóxica y ligando, que entre el ligando y la sustancia activa presentan una hendidyra definida para la liberación de la sustancia activa. Un "lugar de ruptura nominal" de este tipo puede consistir, por ejemplo, en una cadena peptídica que en lugar determinado puede ser disociada selectivamente por una enzima especial en el lugar del efecto [véase, p. ej., R. A. Firestone y L. A. Telan, solicitud de patente de EE.UU. US 2002/0147138].

Auristatina E (AE) y monometilauristatina E (MMAE) son análogos sintéticos de la dolastatina, un grupo especial de pseudo-péptidos lineales que originalmente fueron aislados de fuentes marinas y que en parte presentan una actividad citotóxica muy potente frente a células tumorales [para una recopliación, véase, p. ej., G. R. Pettit, Prog.

Chem. Org. Nat. Prod. 70, 1-79 (1997); G. R. Pettit et al., Anti-Cancer Drug Design 10, 529-544 (1995); G. R. Pettit et al., Anti-Cancer Drug Design 13, 243-277 (1998)].

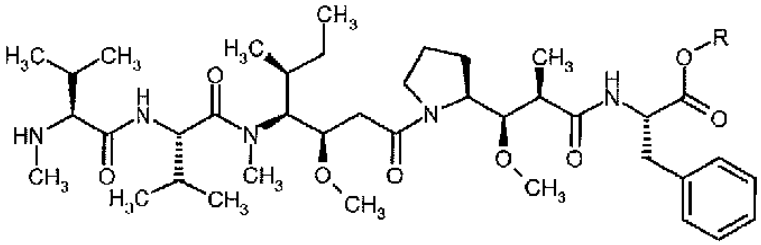


Auristatina E (AE): R = CH_3

Monometilauristatina E (MMAE): R = H

No obstante, MMAE posee el inconveniente de una toxicidad sistémica relativamente elevada. Además, este compuesto, en el caso de su empleo en forma de conjugados de anticuerpo-sustancia activa (inmunoconjugados) no es compatible con unidades de enlace (enlazadores) entre anticuerpo y sustancia activa, que no presentan lugar de ruptura nominal enzimáticamente disociable alguno [S. O. Doronina et al., Bioconjugate Chem. 17, 114-124 (2006)].

Monometilauristatina F (MMAF) es un derivado de auristatina con una unidad fenilalanina C-terminal, que presenta un efecto anti-proliferativo sólo moderado en comparación con MMAE. Muy probablemente, esto se ha de atribuir al grupo carboxilo libre el cual, en virtud de su polaridad y carga, influye negativamente sobre la accesibilidad a la célula de este compuesto. A este respecto, el éster metílico de MMAF (MMAF-OMe) se describió como un derivado de profármaco cargado de forma neutra y accesible a las células que, en comparación con MMAF, muestra una citotoxicidad in vitro incrementada en varios órdenes de magnitud con respecto a diferentes líneas de células de carcinoma [S. O. Doronina et al., Bioconjugate Chem. 17, 114-124 (2006)]. Se ha de asumir que este efecto es provocado por la propia MMAF, la cual, después de la absorción del profármaco en las células, es liberada rápidamente mediante hidrólisis intracelular del éster.



Monometilauristatina F (MMAF): R = H

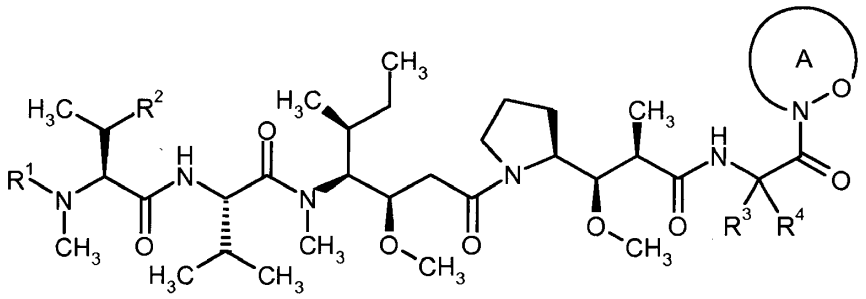
Éster metílico de monometilauristatina F (MMAF-OMe): R = CH_3

Compuestos de sustancias activas a base de derivados de éster sencillos se ven sometidos, en general, al riesgo de una inestabilidad química como consecuencia de una hidrólisis del éster inespecífica, independiente del lugar de acción previsto, por ejemplo por esterasas presentes en el plasma sanguíneo; esto puede limitar claramente la aplicabilidad de este tipo de compuestos en terapia.

Misión de la presente invención era, por lo tanto, partiendo de monometilauristatina F (MMAF) sólo moderadamente activa, identificar nuevos compuestos y habilitarlos para el tratamiento en especial de aquellas enfermedades cancerígenas que, por una parte, presenten una actividad citotóxica claramente más intensa en ensayos con células enteras y, por otra parte, posean una estabilidad en plasma incrementada en comparación con derivados de ésteres sencillos tales como MMAF-OMe. Sustancias de este tipo se podrían adecuar, de manera particular, como toxóforos para el enlace con proteínas tales como, por ejemplo, anticuerpos, o también con ligandos de bajo peso molecular a (inmuno) conjugados de acción anti-proliferativa.

Monometilauristatina F (MMAF) así como diferentes derivados de ésteres y amidas de la misma se dieron a conocer en el documento WO 2005/081711-A2. Otros análogos de auristatina con una unidad de fenilalanina C-terminal, sustituida de forma amídica se describen en el documento WO 01/18032-A2. En los documentos WO 02/088172-A2 y WO 2007/008603-A1 se reivindican análogos de MMAF que conciernen a modificaciones en la cadena lateral de la fenilalanina, y en el documento WO 2007/008848-A2 aquellos en los que el grupo carboxilo de la fenilalanina está modificado. Conjugados de auristatina enlazados a través del extremo C se describieron recientemente en el documento WO 2009/117531-A1 [véase también S. O. Doronina et al., Bioconjugate Chem. 19, 1960-1963 (2008)].

Objeto de la presente invención son entonces compuestos de la fórmula general (I)



(I),

en la que

R^1 representa hidrógeno, alquilo (C_1-C_6) o un grupo de la fórmula Q^1-L^1-* o Q^2-L^2-*, en donde

* caracteriza el lugar de enlace con el átomo de nitrógeno,

Q^1 significa hidroxicarbonilo, alcoxi (C_1-C_4)-carbonilo o benciloxicarbonilo,

L^1 significa alcano (C_1-C_{12})-diilo de cadena lineal que puede estar sustituido hasta cuatro veces con metilo y en el que (a) dos átomos de carbono, en la relación 1,2, 1,3 o 1,4 entre sí, incluyendo los átomos de carbono eventualmente existentes entre ellos, pueden estar puenteados para formar un anillo cicloalquilo (C_3-C_6) o un anillo fenilo, o (b) hasta tres grupos CH_2 no contiguos entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

Q^2 significa hidroxi, amino o mono-alquil (C_1-C_4)-amino, y

L^2 significa alcano (C_2-C_{12})-diilo de cadena lineal que puede estar sustituido hasta cuatro veces con metilo y en el que (a) dos átomos de carbono, en la relación 1,2, 1,3 o 1,4 entre sí, incluyendo los átomos de carbono eventualmente existentes entre ellos, pueden estar puenteados para formar un anillo cicloalquilo (C_3-C_6) o un anillo fenilo, o (b) hasta tres grupos CH_2 no contiguos entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

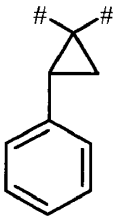
R^2 representa metilo o hidroxi,

R^3 es hidrógeno o metilo,

R^4 representa isopropilo, isobutilo, sec.-butilo, terc.-butilo, fenilo, bencilo, 4-hidroxibencilo, 4-hidroxi-3-nitrobencilo, 1-feniletilo, difenilmetilo, 1*H*-imidazol-4-ilmetilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

R^3 y R^4, junto con el átomo de carbono al que ambos están unidos, forman un grupo 2-fenil-ciclopropan-1,1-diilo de la fórmula

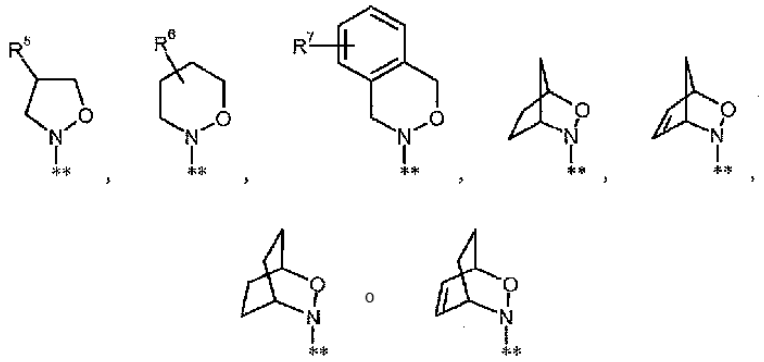


en donde

caracteriza los lugares de enlace con las partes restantes de la molécula,

y

el anillo A, con la agrupación N-O contenida en él, representa un heterociclo mono- o bi-cíclico, eventualmente sustituido, de la fórmula



en donde

** caracteriza el lugar de enlace con el grupo carbonilo,

R^5 y R^6 significan, en cada caso, hidrógeno, hidroxi, alcoxi (C_1-C_4) o benciloxi, y

R^7 significa hidrógeno, flúor, cloro, ciano, metilo o trifluorometilo,

así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

Compuestos de acuerdo con la invención son los compuestos de fórmula (I) y sus sus sales, solvatos y solvatos de las sales, los compuestos abarcados por la fórmula (I) de las fórmulas mencionadas más adelante y sus sus sales, solvatos y solvatos de las sales, así como los compuestos abarcados por la fórmula (I) mencionados más adelante como ejemplos de realización y sus sus sales, solvatos y solvatos de las sales, en la medida en que en el caso de los compuestos abarcados por la fórmula (I), mencionados más adelante, no se trate ya de sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden existir, en función de su estructura, en diferentes formas estereoisómeras, es decir, en forma de isómeros de configuración o eventualmente también en forma de isómeros de conformación (enantiómeros y/o diastereómeros, incluidos aquellos en el caso de atropisómeros). La presente invención comprende, por lo tanto, los enantiómeros y diastereómeros y sus respectivas mezclas. A partir de este tipo de mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros se pueden aislar, de manera conocida, los componentes estereoisómeros unitarios; preferiblemente, para ello se utilizan procesos cromatográficos, en particular la cromatografía HPLC en fase aquiral o bien quiral.

En la medida en que los compuestos de acuerdo con la invención puedan presentarse en formas tautómeras, la presente invención comprende todas las formas tautómeras.

Como sales se prefieren, en el marco de la presente invención, sales fisiológicamente inocuas de los compuestos de acuerdo con la invención. Quedan abarcadas también sales que por sí mismas no son adecuadas para aplicaciones farmacéuticas, pero que pueden utilizarse, por ejemplo, para el aislamiento o purificación de los compuestos de acuerdo con la invención.

Sales fisiológicamente inocuas de los compuestos de acuerdo con la invención comprenden sales por adición de ácidos de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, p. ej., sales del ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido naftalendisulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

Sales fisiológicamente inocuas de los compuestos de acuerdo con la invención comprenden también sales de bases habituales tales como, por ejemplo y preferiblemente, sales de metales alcalinos (p. ej. sales de sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (p. ej., sales de calcio y magnesio) y sales de amonio, derivadas de amoniaco o aminas orgánicas con 1 a 16 átomos de C tales como, por ejemplo y preferiblemente, etilamina, dietilamina, trietilamina, etildiisopropilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, diciclohexilamina, dimetilaminoetanol, procaína, dibencilamina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, arginina, lisina y 1,2-etilendiamina.

Como solvatos se designan en el marco de la invención aquellas fórmulas de los compuestos de acuerdo con la invención que, en estado sólido o líquido, mediante coordinación con moléculas de disolventes, forman un complejo. Hidratos son una forma especial de los solvatos en los cuales la coordinación tiene lugar con agua. Como solvatos se prefieren en el marco de la presente invención los hidratos.

Además, la presente invención comprende también profármacos de los compuestos de acuerdo con la invención. El término "profármacos" designa en este caso compuestos que pueden ser por sí mismos biológicamente activos o

inactivos, pero que durante su tiempo de permanencia en el cuerpo pueden hacerse reaccionar para formar compuestos de acuerdo con la invención (por ejemplo por vía metabólica o hidrolítica).

En el marco de la presente invención, los sustituyentes tienen, en la medida en que no se especifique de otro modo, el siguiente significado:

Alquilo (C_1-C_6) y alquilo (C_1-C_4) representan en el marco de la invención un radical alquilo con 1 a 6 o bien 1 a 4 átomos de carbono, de cadena lineal o ramificada. Se prefiere un radical alquilo con 1 a 4 átomos de carbono, de cadena lineal o ramificada. A modo de ejemplo y preferiblemente se pueden mencionar: metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec.-butilo, terc.-butilo, n-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, neopentilo, n-hexilo, 2-hexilo y 3-hexilo.

Alcano (C_1-C_{12})-diilo, alcano (C_1-C_6)-diilo, alcano (C_1-C_{12})-diilo y alcano (C_2-C_6)-diilo representan en el marco de la invención un radical alquilo α,ω-divalente con 1 a 12, 1 a 6, 2 a 12 o bien 2 a 6 átomos de carbono de cadena lineal. A modo de ejemplo y preferiblemente se pueden mencionar: metileno, etano-1,2-diilo (1,2-etileno), propano-1,3-diilo (1,3-propileno), butano-1,4-diilo (1,4-butileno), pentano-1,5-diilo (1,5-pentileno), hexano-1,6-diilo (1,6-hexileno), heptano-1,7-diilo (1,7-hexileno), octano-1,8-diilo (1,8-octileno), nonano-1,9-diilo (1,9-nonileno), decano-1,10-diilo (1,10-decileno), undecano-1,11-diilo (1,11-undecileno) y dodecano-1,12-diilo (1,12-dodecileno).

Cicloalquilo (C_3-C_6) representa en el marco de la invención un grupo cicloalquilo con 3 a 6 átomos de carbono monocíclico, saturado. A modo de ejemplo y preferiblemente se pueden mencionar: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Alcoxi (C_1-C_4) representa en el marco de la invención un radical alcoxi con 1 a 4 átomos de carbono de cadena lineal o ramificada. A modo de ejemplo y preferiblemente se pueden mencionar: metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, sec.-butoxi y terc.-butoxi.

Alcoxi (C_1-C_4)-carbonilo representa en el marco de la invención un radical alcoxi con 1 a 4 átomos de carbono, de cadena lineal o ramificada que está enlazado a través de un grupo carbonilo [-C(=O)-]. A modo de ejemplo y preferiblemente se pueden mencionar: metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, n-propoxi-carbonilo, isopropoxicarbonilo, n-butoxicarbonilo y terc.-butoxicarbonilo.

Mono-alquil (C_1-C_4)-amino representa en el marco de la invención un grupo amino con un sustituyente alquilo de cadena lineal o ramificada que presenta 1 a 4 átomos de carbono. A modo de ejemplo y preferiblemente se pueden mencionar: metilamino, etilamino, n-propilamino, isopropilamino, n-butilamino y terc.-butilamino.

En el marco de la presente invención se cumple que para todos los radicales que aparecen varias veces su significado es independiente entre sí. Cuando radicales en los compuestos de acuerdo con la invención están sustituidos, los radicales pueden estar sustituidos una o varias veces, si no se especifica de otro modo. Se prefiere una sustitución con uno dos sustituyentes iguales o diferentes. Se prefiere particularmente una sustitución con un sustituyente.

En el marco de la presente invención se prefieren compuestos de la fórmula (I), en la que

R^1 representa hidrógeno, alquilo (C_1-C_4) o un grupo de la fórmula Q^1-L^1-* o Q^2-L^2-*, en donde

* caracteriza el lugar de enlace con el átomo de nitrógeno,

Q^1 significa hidroxicarbonilo o alcoxi (C_1-C_4)-carbonilo,

L^1 significa alcano (C_1-C_{12})-diilo de cadena lineal, en el que (a) dos átomos de carbono en la relación 1,3 o 1,4 entre sí, bajo la inclusión de uno o de los dos átomos de carbono situados entre ellos pueden estar puenteados para formar un anillo fenilo o (b) hasta tres grupos CH_2 no contiguos entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

Q^2 significa hidroxi, amino o metilamino,

y

L^2 significa alcano (C_2-C_{12})-diilo de cadena lineal, que puede estar sustituido una o dos veces con metilo y en el que hasta tres grupos CH_2 no contiguos entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

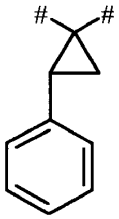
R^2 representa metilo o hidroxi,

R^3 representa hidrógeno,

R^4 representa bencilo, 4-hidroxibencilo, 1-feniletilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

R^3 y R^4, junto con el átomo de carbono al que ambos están unidos, forman un grupo 2-fenil-ciclopropan-1,1-diilo de la fórmula

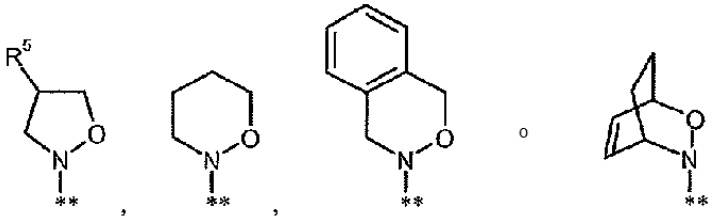


en donde

caracteriza los lugares de enlace con las partes restantes de la molécula,

y

el anillo A, con la agrupación N-O contenida en él, representa un heterociclo mono- o bi-cíclico, eventualmente sustituido, de la fórmula



en donde

** caracteriza el lugar de enlace con el grupo carbonilo,

y

R^5 significa hidrógeno, hidroxi o benciloxi,

así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

En el marco de la presente invención se prefieren particularmente compuestos de la fórmula (I), en la que

R^1 representa hidrógeno, metilo o un grupo de la fórmula Q^1-L^1-* o Q^2-L^2-*, en donde

* caracteriza el lugar de enlace con el átomo de nitrógeno,

Q^1 significa hidroxicarbonilo, metoxicarbonilo o etoxicarbonilo,

L^1 significa alcano (C_1-C_6)-diilo de cadena lineal, en el que dos átomos de carbono en la relación 1,4 entre sí, bajo la inclusión de los dos átomos de carbono situados entre ellos pueden estar puenteados para formar un anillo fenilo,

Q^2 significa hidroxi o amino,

y

L^2 significa alcano (C_1-C_6)-diilo de cadena lineal,

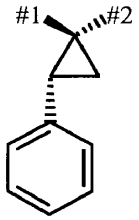
R^2 representa metilo,

R^3 representa hidrógeno,

R^4 representa bencilo, 1-feniletilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

R^3 y R^4, junto con el átomo de carbono al que ambos están unidos, forman un grupo (1S,2R)-2-fenil-ciclopropan-1,1-diilo de la fórmula



en donde

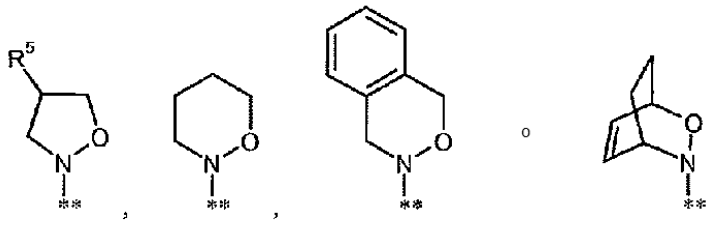
#1 caracteriza el lugar de enlace con el átomo de nitrógeno contiguo

y

#2 caracteriza el lugar de enlace con el grupo carbonilo,

y

el anillo A, con la agrupación N-O contenida en ella, representa un heterociclo mono- o bi-cíclico, eventualmente sustituido, de la fórmula



en donde

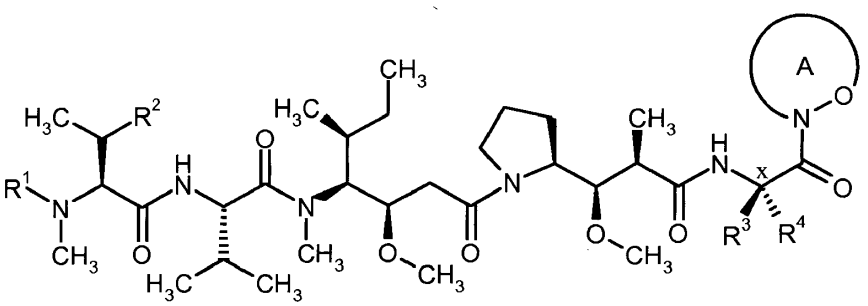
** caracteriza el lugar de enlace con el grupo carbonilo,

y

R^5 significa hidrógeno, hidroxi o benciloxi,

así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

De particular importancia en el marco de la presente invención son compuestos de la fórmula (I-A)



(I-A),

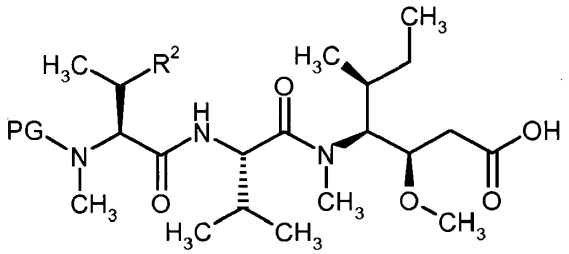
en la que R^1, R^2, R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba definidos y el átomo de carbono C^x que porta los radicales R^3 y R^4 presenta la configuración S representada,

así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

Las definiciones de los radicales indicadas en particular en las respectivas combinaciones o bien combinaciones preferidas de radicales son reemplazadas, independientemente de las respectivas combinaciones indicadas de los radicales, arbitrariamente también por definiciones de radicales de otras combinaciones.

Muy particularmente preferidas son combinaciones de dos o más de los intervalos preferidos arriba mencionados.

Otro objeto de la invención es un procedimiento para la preparación de los compuestos de la fórmula (I) de acuerdo con la invención, caracterizado por que un compuesto de fórmula (II)



(II),

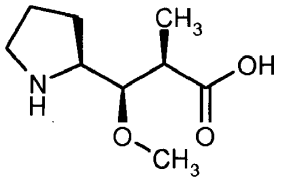
en la que R^2 tiene los significados arriba indicados

y

PG representa un grupo protector de amino tal como, por ejemplo, (9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo, *terc.*-butoxicarbonilo o benciloxicarbonilo,

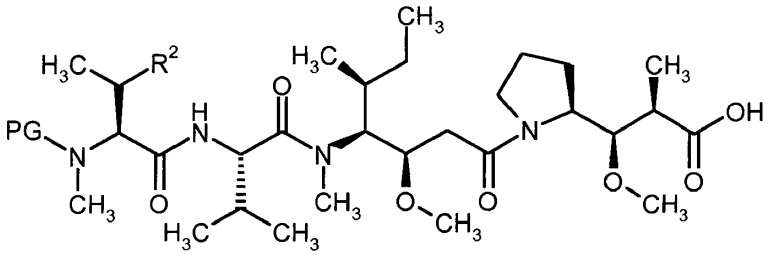
en un disolvente inerte y bajo activación de la función carboxilo en (II)

[A] se acopla primero con el compuesto de la fórmula (III)



(III)

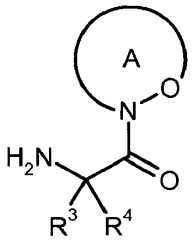
o una sal del mismo, para formar un compuesto de la fórmula (IV)



(IV),

en la que R^2 y PG tienen los significados arriba indicados,

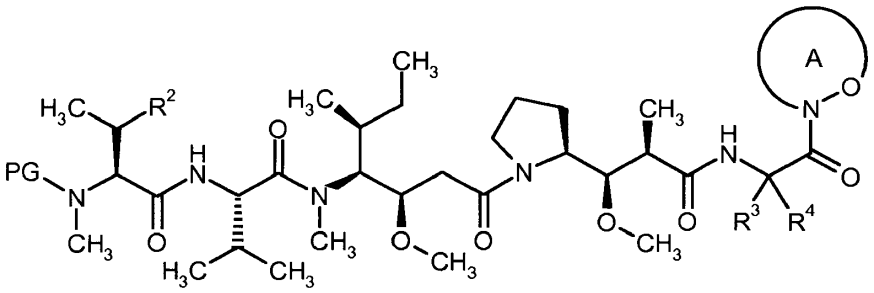
y éste, a continuación, en un disolvente inerte y bajo activación de la función carboxilo, se acopla con un compuesto de fórmula (V)



(V),

en la que R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba indicados,

o una sal de este compuesto, para formar un compuesto de la fórmula (VI)

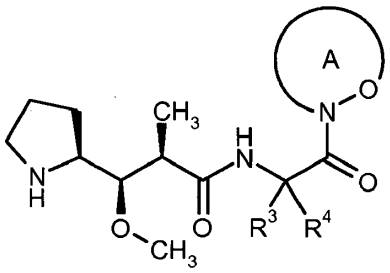


(VI),

en la que R^2, R^3, R^4, el anillo A y PG tienen los significados arriba indicados,

o

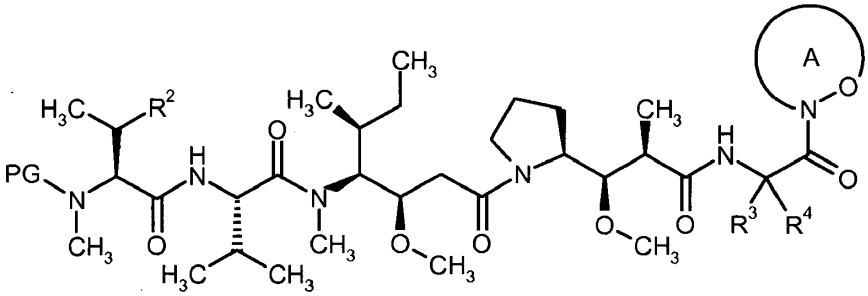
[B] se acopla con un compuesto de la fórmula (VII)



(VII),

en la que R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba indicados,

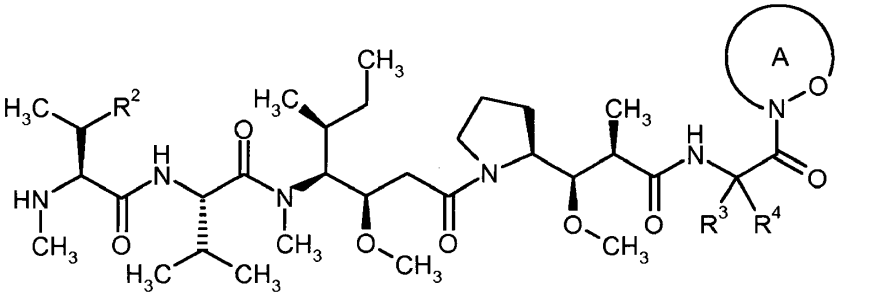
o una sal de este compuesto, asimismo para formar el compuesto de la fórmula (VI)



(VI),

en la que R^2, R^3, R^4, el anillo A y PG tienen los significados arriba indicados,

y el compuesto que resulta en cada caso de la fórmula (VI) se desprotege entonces, según métodos habituales de la química de los péptidos, para formar un compuesto de fórmula (I-B) de acuerdo con la invención



(I-B),

en la que R^2, R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba indicados,

y éste a continuación, en caso de que se desee, se transforma (i) mediante alquilación inducida por bases con un compuesto de la fórmula (VIII)

$$R^{1A}\text{-}X \qquad \text{(VIII)},$$

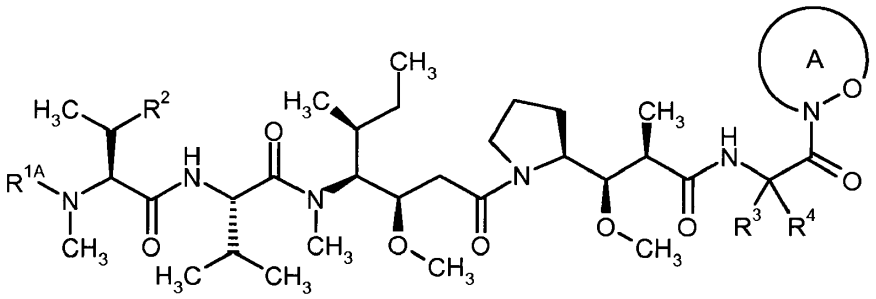
en la que

R^{1A} tiene el significado de R^1 arriba indicado, pero no representa hidrógeno,

y

X representa un grupo lábil tal como, por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro, mesilato, triflato o tosilato,

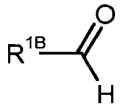
en un compuesto de acuerdo con la invención de la fórmula (I-C)



(I-C),

en la que R^{1A}, R^2, R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba indicados,

o (ii) mediante reacción con un compuesto de la fórmula (IX)

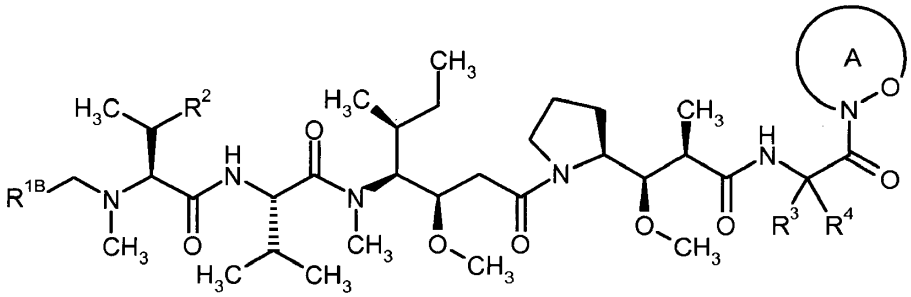


(IX),

en la que

R^{1B} tiene el significado arriba indicado de R^{1A}, pero acortado en la longitud de cadena de alquilo en una unidad CH_2,

en presencia de un agente reductor adecuado, se transforma en un compuesto de acuerdo con la invención de la fórmula (I-D)



(I-D),

en la que R^{1B}, R^2, R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba indicados,

y los compuestos de las fórmulas (I-B), (I-C) o bien (I-D), así obtenidos, se separan eventualmente en sus enantiómeros y/o diastereómeros y/o se hacen reaccionar con los correspondientes (i) disolventes y/o (ii) bases o ácidos para dar sus solvatos, sales y/o solvatos de las sales.

Las reacciones de acoplamiento (formación de amidas a partir del correspondiente componente de amina y ácido carboxílico) arriba descritas se llevan a cabo según métodos generalmente habituales de la química de los péptidos [véase, p. ej., M. Bodanszky, Principles of Peptide Synthesis, editorial Springer, Berlin, 1993; M. Bodanszky y A. Bodanszky, The Practice of Peptide Synthesis, editorial Springer, Berlin, 1984; H.-D. Jakubke y H. Jeschkeit, Aminosäuren, Peptide, Proteine, editorial Chemie, Weinheim, 1982].

Disolventes inertes para las reacciones de acoplamiento (II) + (III) → (IV), (IV) + (V) → (VI) y (II) + (VII) → (VI) son, por ejemplo, éteres tales como dietiléter, diisopropiléter, *terc.*-butilmetiléter, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, 1,2-dimetoxietano o bis-(2-metoxietil)-éter, hidrocarburos tales como benceno, tolueno, xileno, pentano, hexano, heptano, ciclohexano o fracciones del petróleo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, triclorometano, tetraclorometano, 1,2-dicloroetano, tricloroetileno o clorobenceno, o disolventes dipolar-apróticos tales como acetona, metiletilcetona, acetonitrilo, acetato de etilo, piridina, dimetilsulfóxido (DMSO), N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida (DMA), N,N'-dimetilpropilenurea (DMPU) o N-metilpirrolidinona

(NMP). Asimismo, es posible utilizar mezclas de este tipo de disolventes. Preferiblemente, se emplea N,N-dimetilformamida.

Como agentes de activación/condensación para estos acoplamientos se adecuan, por ejemplo, carbodiimidas tales como N,N'-dietil-, N,N'-dipropil-, N,N'-diisopropil-, N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) o hidrocloruro de N-(3-dimetilaminoisopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC), derivados de fosgeno tales como N,N'-carbonildiimidazol (CDI) o cloroformiato de isobutilo, compuestos de 1,2-oxazolio tales como 3-sulfato de 2-etil-5-fenil-1,2-oxazolio o perclorato de 2-terc.-butil-5-metilisoxazolio, compuestos de acilamino tales como 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, compuestos de fósforo tales como anhídrido del ácido propanofosfónico, éster dietílico del ácido cianofosfónico, cloruro de bis-(2-oxo-3-oxazolidinil)-fosforilo, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)fosfonio o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(pirrolidino)fosfonio (PyBOP), o compuestos de uronio tales como tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU), hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de 2-(2-oxo-1-(2H)-piridil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TPTU), hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) o tetrafluoroborato de O-(1H-6-clorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TCTU), eventualmente en combinación con otros coadyuvantes tales como 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) o N-hidroxisuccinimida (HOSu), así como en calidad de bases carbonatos de metales alcalinos, p. ej. carbonato de sodio o potasio, o bases de aminas terciarias tales como trietilamina, N-metilmorfolina, N-metilpiperidina, N,N-diisopropiletilamina, piridina o 4-N,N-dimetilaminopiridina.

En el marco de la presente invención, como agente de activación/condensación para reacciones de acoplamiento de este tipo se utiliza preferiblemente hidrocloruro de N-(3-dimetilaminoisopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC) en combinación con 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) y N,N-diisopropiletilamina, o hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU), asimismo en unión con N,N-diisopropiletilamina.

Las reacciones de acoplamiento (II) + (III) → (IV), (IV) + (V) → (VI) y (II) + (VII) → (VI) se llevan a cabo, por norma general, en un intervalo de temperaturas de -20°C a +60°C, preferiblemente a 0°C hasta +40°C. Las reacciones pueden tener lugar a presión normal, a presion elevada o a baja presión (p. ej. de 0,5 a 5 bar); por lo general, se trabaja a la presión normal.

Como disolventes inertes para la reacción (I-B) + (VIII) → (I-C) se adecuan, por ejemplo, éteres tales como dietiléter, diisopropiléter, metil-terc.-butiléter, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, 1,2-dimetoxietano o bis-(2-metoxietil)-éter, hidrocarburos tales como benceno, tolueno, xileno, pentano, hexano, heptano, ciclohexano o fracciones del petróleo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, triclorometano, tetraclorometano, 1,2-dicloroetano, tricloroetileno o clorobenceno, o disolventes dipolar-apróticos tales como acetona, metiletilcetona, acetonitrilo, dimetilsulfóxido (DMSO), N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida (DMA), N,N'-dimetilpropilenurea (DMPU), N-metilpirrolidinona (NMP) o piridina. Asimismo, es posible emplear mezcla de este tipo de disolventes. Preferiblemente se utiliza N,N-dimetilformamida.

Bases adecuadas para esta reacción de alquilación son, en particular, hidróxidos de metales alcalinos tales como, por ejemplo, hidróxido de litio, sodio o potasio, carbonatos de metales alcalinos o alcalinotérreos tales como carbonato de litio, sodio, potasio, calcio o cesio, o aminas orgánicas habituales tales como trietilamina, N-metilmorfolina, N-metilpiperidina, N,N-diisopropiletilamina, piridina o 4-N,N-dimetilaminopiridina. Preferiblemente se utiliza carbonato de potasio o de cesio. Eventualmente, es ventajosa la adición de un catalizador de alquilación tal como, por ejemplo, bromuro o yoduro de litio, yoduro de sodio o potasio, bromuro o yoduro de tetra-n-butilamonio o bromuro de benciltrietilamonio.

La reacción (I-B) + (VIII) → (I-C) se lleva a cabo, por lo general, en un intervalo de temperaturas de -20°C a +60°C, preferiblemente a 0°C hasta +40°C. La reacción puede tener lugar a presión normal, a presión elevada o a baja presión (p. ej. de 0,5 a 5 bar); por norma general, se trabaja a la presión normal.

La reacción (I-B) + (IX) → (I-D) tiene lugar en los disolventes inertes bajo las condiciones de reacción, habituales para una aminación reductora, eventualmente en presencia de un ácido y/o de un agente sustractor de agua como catalizador. A disolventes de este tipo pertenecen, por ejemplo, alcoholes tales como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o terc.-butanol, éteres tales como tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, 1,2-dimetoxietano o bis-(2-metoxietil)-éter, u otros disolventes tales como diclorometano, 1,2-dicloroetano, N,N-dimetilformamida o también agua. Asimismo, es posible emplear mezcla de estos disolventes. Preferiblemente, como disolvente se utiliza una mezcla de 1,4-dioxano/agua bajo adición de ácido acético o ácido clorhídrico diluido como catalizador.

Como agente reductor se adecuan para esta reacción, en particular, borohidruros complejos tales como, por ejemplo, borohidruro de sodio, cianoborohidruro de sodio, triacetoxiborohidruro de sodio o borohidruro de tetra-n-butilamonio. Preferiblemente, se emplea cianoborohidruro de sodio.

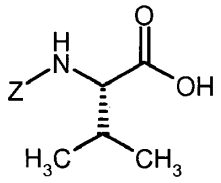
La reacción (I-B) + (IX) → (I-D) tiene lugar, por lo general, en un intervalo de temperaturas de 0°C a +120°C, preferiblemente a +50°C hasta +100°C. La reacción puede llevarse a cabo a presión normal, a presión elevada o a baja presión (p. ej. de 0,5 a 5 bar); por norma general, se trabaja a la presión normal.

Grupos funcionales eventualmente presentes en los radicales R^1, R^{1A}, R^{1B}, R^2, R^4, R^5 y/o R^6 - tales como, en particular grupos amino, hidroxi y carboxilo - pueden presentarse, en las etapas de procedimiento precedentemente

descritas, caso de que sea conveniente o necesario, temporalmente también en forma protegida. La introducción y eliminación de este tipo de grupos protectores tiene lugar en este caso según métodos habituales, conocidos por la química de los péptidos [véase, p. ej. T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, Nueva York, 1999; M. Bodanszky y A. Bodanszky, The Practice of Peptide Synthesis, editorial Springer, Berlin, 1984]. En el caso de la presencia de varios grupos protegidos, su liberación renovada puede efectuarse eventualmente de forma simultánea en una reacción en un solo recipiente o también en etapas de reacción separadas.

Como grupo protector de amino se utiliza preferiblemente *terc.*-butoxicarbonilo (Boc), benciloxicarbonilo (Z) o (9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo (Fmoc); para una función hidroxi o carboxilo se emplea preferiblemente *terc.*-butilo o bencilo como grupo protector. La separación de un grupo grupo *terc.*-butilo o *terc.*-butoxicarbonilo sucede habitualmente mediante tratamiento con un ácido fuerte tal como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno o ácido trifluoroacético, en un disolvente inerte tal como dietiléter, 1,4-dioxano, diclorometano o ácido acético; eventualmente, esta reacción también se puede llevar a cabo sin la adición de un disolvente inerte. En el caso de bencilo o benciloxicarbonilo como grupo protector, éstos se separan preferiblemente mediante hidrogenolisis en presencia de un catalizador de paladio adecuado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón activo. El grupo (9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo se separa generalmente con ayuda de una base de amina secundaria tal como dietilamina o piperidina.

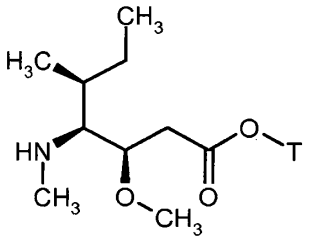
Los compuestos de la fórmula (II) pueden prepararse según métodos habituales de la química de los péptidos, por ejemplo acoplando primero N-(benciloxicarbonil)-L-valina de la fórmula (X)



(X),

en la que Z representa el grupo protector benciloxicarbonilo,

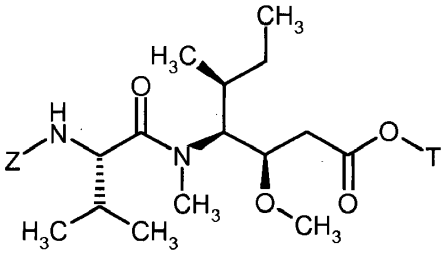
con ayuda de un agente de condensación con un compuesto de la fórmula (XI)



(XI),

en la que T representa alquilo (C_1-C_4),

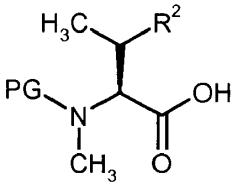
o una sal de este compuesto, para formar un compuesto de la fórmula (XII)



(XII),

en la que T y Z tienen los significados arriba indicados,

éste se acopla, después de la separación hidrogenolítica del grupo protector Z, en presencia de un agente de condensación, con N-metil-L-valina o N-metil-L-treonina, N-protegida, de la fórmula (XIII)



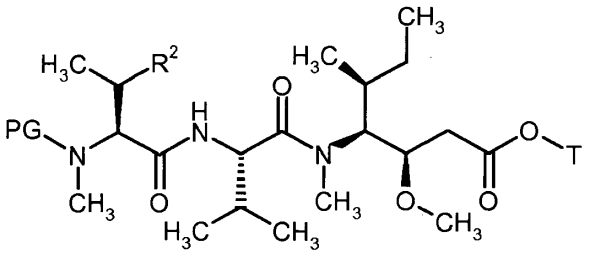
(XIII),

en la que R^2 tiene los significados arriba indicados

y

PG representa un grupo protector de amino tal como, por ejemplo, (9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo, *terc.*-butoxicarbonilo o benciloxicarbonilo,

para dar un compuesto de fórmula (XIV)



(XIV),

en la que R^2, PG y T tienen los significados arriba indicados,

y, a continuación, la agrupación éster -C(O)OT en (XIV) se transforma, según métodos habituales, en el ácido carboxílico libre.

Los acoplamientos (X) + (XI) → (XII) y Z desprotegido (XII) + (XIII) → (XIV) se llevan a cabo bajo condiciones de reacción análogas tal como se describe antes en las etapas de acoplamiento representadas en los procedimientos [A] y [B].

La hidrólisis del grupo éster -C(O)OT en la etapa de procedimiento (XIV) → (II) se lleva a cabo según métodos habituales, tratando el éster en un disolvente inerte con un ácido o una base, en donde en el caso de esta última variante la sal carboxilato que resulta primeramente se transforma, mediante la subsiguiente adición de un ácido, en el ácido carboxílico libre. En el caso de un éster terc.-butílico la separación tiene lugar preferiblemente mediante un ácido.

El radical alquilo T en el compuesto (XI) se elige en este caso de manera que las condiciones de su separación sean compatibles con el grupo protector PG empleado en cada caso del compuesto (XIII).

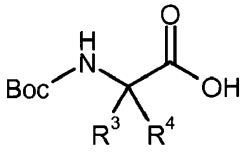
Como base para la hidrólisis del éster son adecuadas las bases inorgánicas habituales. A ellas pertenecen, en particular, hidróxidos de metales alcalinos o alcalinotérreos tales como, por ejemplo, hidróxido de litio, sodio, potasio o bario, o carbonatos de metales alcalinos o alcalinotérreos tales como carbonato de sodio, potasio o calcio. Se prefiere hidróxido de litio, sodio o potasio.

Como ácido se adecuan para la separación del éster, por lo general, ácido sulfúrico, cloruro de hidrógeno/ácido clorhídrico, bromuro de hidrógeno/ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido trifluoracético, ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido trifluorometanosulfónico o sus mezclas, eventualmente bajo la adición de agua. Se prefieren cloruro de hidrógeno o ácido trifluoroacético en el caso de un éster *terc.*-butílico, y ácido clorhídrico en el caso de un éster metílico.

Como disolventes inertes se adecuan para esta reacción agua o los disolventes orgánicos habituales para una separación de ésteres. A ellos pertenecen preferiblemente alcoholes inferiores tales como metanol, etanol, n-propanol o isopropanol, éteres tales como dietiléter, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano o 1,2-dimetoxietano, u otros diolventes tales como diclorometano, acetona, metiletilcetona, N,N-dimetilformamida o dimetilsulfóxido. Asimismo, es posible emplear mezcla de estos disolventes. En el caso de una hidrólisis del éster de carácter básico se utilizan preferiblemente mezclas de agua con 1,4-dioxano, tetrahidrofurano, metanol, etanol y/o dimetilformamida. En el caso de la reacción con ácido trifluoroacético se emplea preferiblemente diclorometano, y en el caso de la reacción con cloruro de hidrógeno se emplea preferiblemente tetrahidrofurano, dietiléter, 1,4-dioxano o agua.

La separación del éster tiene lugar, por lo general, en un intervalo de temperaturas de -20°C a +100°C, preferiblemente a 0°C hasta +50°C.

Los compuestos de la fórmula (V) pueden prepararse en analogía a procedimientos conocidos, por ejemplo acoplando un aminoácido protegido de la fórmula (XV)

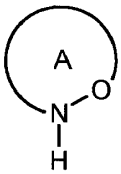


(XV),

en la que R^3 y R^4 tienen los significados arriba indicados y Boc representa el grupo protector *terc.*-butoxicarbonilo,

bajo activación de la función carboxilo

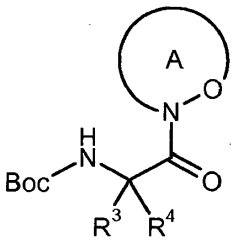
[C] con un compuesto de la fórmula (XVI)



(XVI),

en la que el anillo A tiene el significado arriba indicado,

o una sal de este compuesto, para formar un compuesto de la fórmula (XVII)

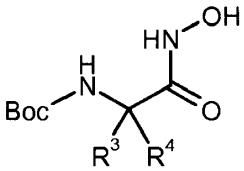


(XVII),

en la que R^3, R^4, el anillo A y Boc tienen los significados arriba indicados,

o

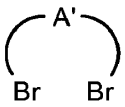
[D] primero con hidroxilamina o una sal de la misma para dar un compuesto de la fórmula (XVIII)



(XVIII),

en la que R^3, R^4 y Boc tienen los significados arriba indicados,

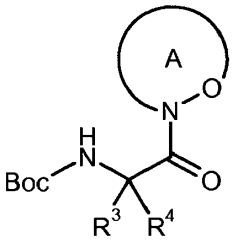
y éste, a continuación, en presencia de una base, se alquila con un dibromuro de la fórmula (XIX)



(XIX),

en la que el grupo A' de unión corresponde a los restantes elementos, eventualmente sustituidos del anillo A arriba definido - exceptuada la agrupación N-O -,

bajo ciclación, asimismo para dar el compuesto de la fórmula (XVII)



(XVII),

en la que R^3, R^4, el anillo A y Boc tienen los significados arriba indicados,

y luego se disocia el grupo protector Boc en (XVII), de modo habitual, mediante tratamiento con un ácido.

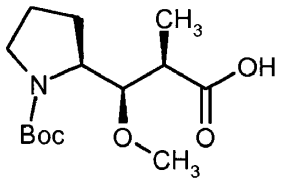
Los acoplamientos (XV) + (XVI) → (XVII) + hidroxilamina → (XVIII) se llevan a cabo bajo condiciones de reacción análogas tal como se describe antes en las etapas de acoplamiento representadas en los procedimientos [A] y [B].

Como base para la ciclo-alquilación en la etapa de procedimiento (XVIII) + (XIX) → (XVII) se emplean preferiblemente hidróxidos de metales alcalinos tales como, por ejemplo, hidróxido de litio, sodio o potasio, o carbonatos de metales alcalinos o alcalinotérreos tales como carbonato de litio, sodio, potasio, calcio o cesio.

Como disolventes inertes se adecuan para esta reacción, en particular alcoholes tales como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o terc.-butanol, o disolventes dipolares-apróticos tales como acetona, metiletilcetona, N,N-dimetilformamida o dimetilsulfóxido. Preferiblemente, se utiliza acetona.

La reacción (XVIII) + (XIX) → (XVII) tiene lugar, por lo general, en un intervalo de temperaturas de +20°C a +120°C, preferiblemente a +50°C hasta +80°C. La reacción puede llevarse a cabo a presión normal, a presión elevada o a baja presión (p. ej. de 0,5 a 5 bar); por norma general, se trabaja a la presión normal.

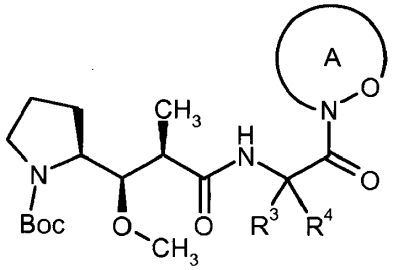
Los compuestos de la fórmula (VII) son accesibles, por su parte, mediante acoplamiento del compuesto (V) arriba descrito con el compuesto (XX)



(XX),

en la que Boc representa el grupo protector *terc.*-butoxicarbonilo,

para dar un compuesto de fórmula (XXI)



(XXI),

en la que R^3, R^4, el anillo A y Boc tienen los significados arriba indicados,

y subsiguiente disociación del grupo protector Boc. El propio compuesto (XX) se puede obtener a través de una correspondiente introducción de grupos protectores a partir del compuesto (III).

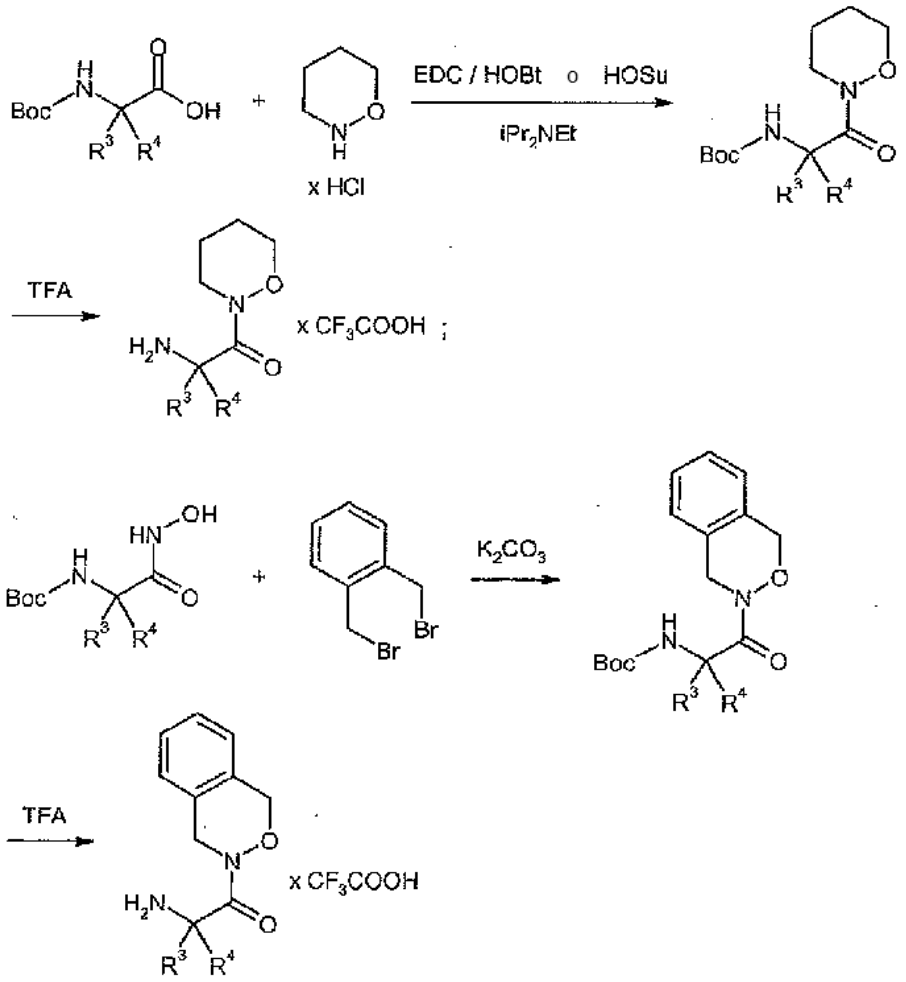
La reacción de acoplamiento (V) + (XX) → (XXI) se lleva a cabo, de nuevo, bajo condiciones análogas a las de antes en las etapas de acoplamiento representadas en los procedimientos [A] y [B].

Los compuestos de las fórmulas (III), (VIII), (IX), (X), (XI), (XIII), (XV), (XVI) y (XIX) inclusive, en donde proceda, formas quirales o diastereómeras de los mismos se pueden adquirir en el comercio o se describen como tales en la bibliografía, o se pueden preparar de un modo evidente para el experto en la materia, en analogía a métodos publicados en la bibiliografía. Numerosas prescripciones detalladas, así como citas bibiliográficas para la preparación de los materiales de partida se encuentran también en la Parte Experimental en el párrafo para la preparación de los compuestos de partida y compuestos intermedios.

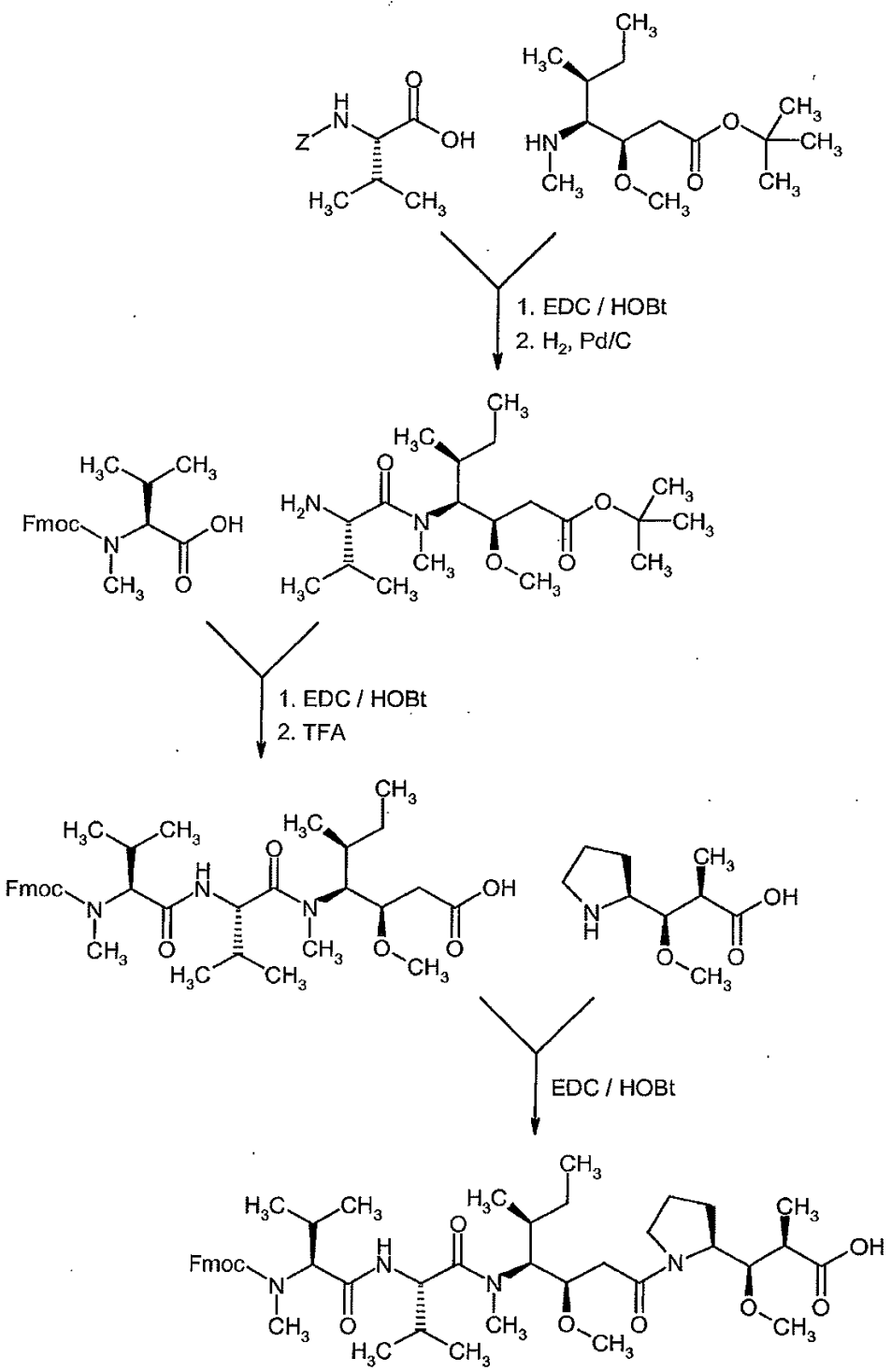
Si no estuvieran disponibles correspondientes materiales de partida puros en cuanto a los isómeros, entonces puede tener lugar una separación de los compuestos de acuerdo con la invención en los correspondientes enantiómeros y/o diastereómeros, convenientemente también ya en la etapa de los compuestos (V), (VI), (VII), (XV), (XVI), (XVII), (XVIII) o (XXI), los cuales se hacen reaccionar entonces ulteriormente, en forma separada, conforme a las etapas de reacción precedentemente descritas. Una separación de este tipo de los estereoisómeros se puede llevar a cabo según métodos habituales, conocidos por el experto en la materia. Preferiblemente, se emplean procedimientos cromatográficos en fases de separación aquirales o bien quirales; en el caso de ácidos carboxílicos libres como productos intermedios puede tener lugar alternativamente también una separación a través de sales diastereómeras con ayuda de bases quirales.

La preparación de los compuestos de acuerdo con la invención puede ilustrarse, a modo de ejemplo, mediante los siguientes esquemas de reacción:

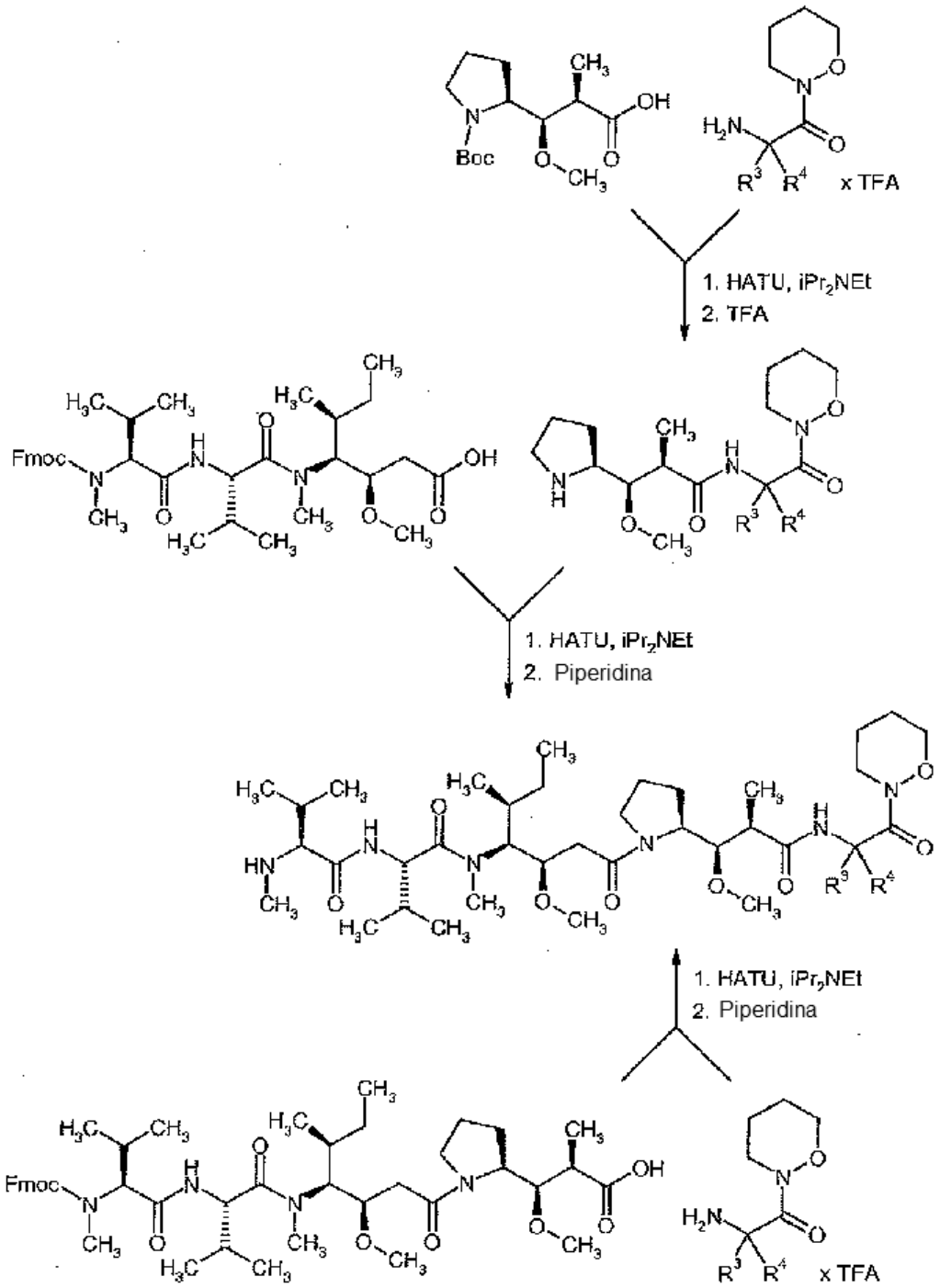
Esquema 1


Boc
OH
R3 R4
x HCl
EDC / HOBt o HOSu
iPr2NEt
TFA
H2N
x CF3COOH ;
HN
OH
K2CO3
Br
Br
TFA
x CF3COOH

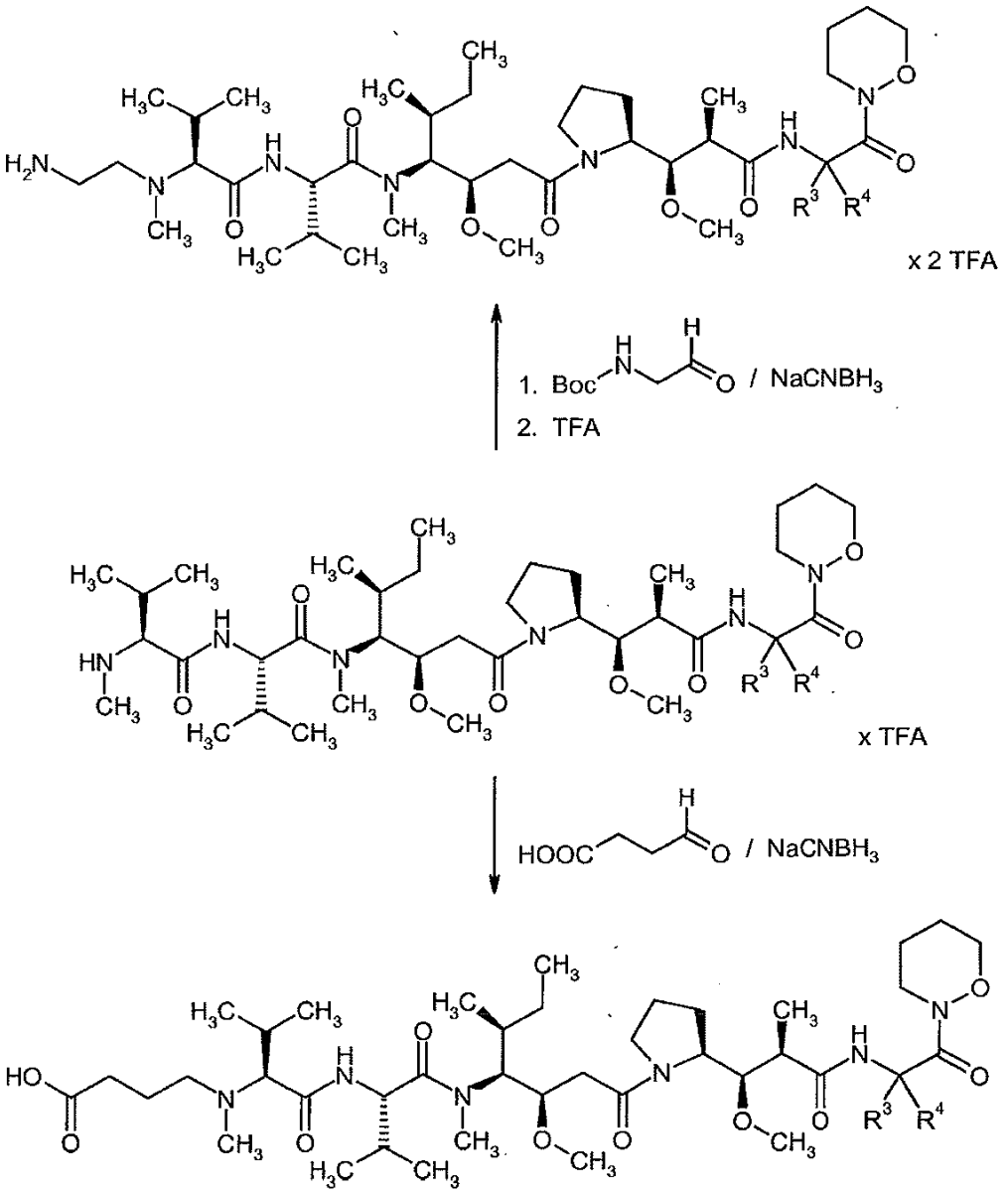
Esquema 2



Esquema 3


Boc
x TFA
1. HATU, iPr2NEt
2. TFA
Fmoc
1. HATU, iPr2NEt
2. Piperidina
1. HATU, iPr2NEt
2. Piperidina
x TFA

Esquema 4



Los compuestos de acuerdo con la invención poseen valiosas propiedades farmacológicas y pueden utilizarse para la prevención y el tratamiento de enfermedades en los seres humanos y animales.

Los compuestos de acuerdo con la invención presentan, en comparación con monometilauristatina F (MMAF), una actividad citotóxica claramente más intensa y poseen, además, una estabilidad en plasma significativamente incrementada con respecto a derivados de éster conocidos de MMAF tal como MMAF-OMe. Los compuestos de acuerdo con la invención son adecuados por lo tanto, en virtud de este perfil de propiedades, en particular medida para el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas en el ser humano y en mamíferos en general. Los compuestos pueden, por un lado, inhibir, bloquear, disminuir o reducir la proliferación celular y la división celular y, por otro lado, potenciar la apoptosis.

A las enfermedades hiperproliferativas, para cuyo tratamiento se pueden emplear los compuestos de acuerdo con la invención, pertenece, en particular, el grupo de las enfermedades cancerígenas y tumorales. Entre ellas se entiende en el marco de la presente invención, en particular las siguientes enfermedades, pero sin estar limitados a ellas: carcinoma de mama y tumores de mama (formas ductales y lobulares, también in situ), tumores de las vías respiratorias (carcinoma de células pequeñas y de células no pequeñas, carcinoma bronquial), tumores del cerebro (p. ej. del tronco cerebral y del hipotálamo, astrocitoma, meduloblastoma, ependimoma, así como tumores neuro-ectodermales y pineales), tumores de los órganos digestivos (esófago, estómago, vesícula biliar, intestino delgado,

intestino grueso, recto), tumores hepáticos (entre otros, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma y colangiocarcinoma hepatocelular mixto), tumores de la zona de la cabez y el cuello (laringe, hipofaringe, nasofaringe, orofaringe, labios y paladar), tumores de la piel (epitelioma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, carcinoma de células de Merkel y cáncer de piel de tipo no melánomo), tumores de las partes blandas (entre otros, sarcoma de las partes blandas, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma y rabdomiosarcoma), tumores de los ojos (entre otros, melanoma intraocular y retinoblastoma), tumores de las glándulas endocrinas y exocrinas (p. ej. glándulas tiroides y paratiroides, páncreas y glándula salival), tumores del tracto urinario (tumores de la vejiga, pene, riñones, pelvis renal y uréter) así como tumores de los órganos reproductores (carcinoma del endometrio, cérvix, ovarios, vaginal, de la vulva y del útero de la mujer, así como carcinomas de próstata testicular del hombre). A ellos pertencen también enfermedades proliferativas de la sangre en forma sólida y como células de la sangre circulantes tales como linfomas, leucemias y enfermedades mieloproliferativas, p. ej. leucemia mieloide, linfoblástica aguda, crónica-linfocítica, crónica-mielógena y de células pilosas, así como linfomas relacionados con el SIDA, linfoma de Hodgkin y linfoma no de Hodgkin, linfoma de células T cutáneo, linfoma de Burkitt y linfoma en el sistema nervioso central.

Estas enfermedades del hombre bien descritas pueden presentarse con una etiología equiparable también en otros mamíferos y pueden tratarse allí con los compuestos de la presente invención.

El término "tratamiento" o "tratar" se utiliza de forma convencional en el marco de esta invención y significa el abastecimiento, el cuidado y la asistencia de un paciente, con el objetivo de combatir, reducir, debilitar o aliviar una enfermedad o una anomalía en la salud, y mejorar las condiciones de vida que se ven perjudicadas por esta enfermedad tal como, por ejemplo, en el caso de una enfermedad cancerígena.

Otro objeto de la presente invención es, por lo tanto, el uso de los compuestos de acuerdo con la invención para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en particular de las enfermedades precedentemente mencionadas.

Otro objeto de la presente invención es, por lo tanto, el uso de los compuestos de acuerdo con la invención para la producción de un medicamento el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en particular de las enfermedades precedentemente mencionadas.

Otro objeto de la presente invención es, por lo tanto, el uso de los compuestos de acuerdo con la invención en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en particular de las enfermedades precedentemente mencionadas.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en particular de las enfermedades precedentemente mencionadas, utilizando una cantidad eficaz de al menos uno de los compuestos de acuerdo con la invención.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden emplearse solos o, en caso necesario, en combinación con una o varias de otras sustancias farmacológicamente eficaces, siempre que esta combinación no conduzca a efectos secundarios indeseados e inaceptables. Otro objeto de la presente invención son, por lo tanto, medicamentos que contienen al menos uno de los compuestos de acuerdo con la invención y una o varias sustancias activas adicionales, en particular para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades precedentemente mencionadas.

Por ejemplo, los compuestos de la presente invención se pueden combinar con sustancias anti-hiperproliferativas, citostáticas o citotóxicas conocidas para el tratamiento de enfermedades cancerígenas. Como sustancias activas de combinación adecuadas se pueden mencionar, a modo de ejemplo:

Aldesleucina, ácido alendrónico, Alfaferon, Alitretinoina, Alopurinol, Aloprim, Aloxi, Altretamina, Aminoglutetimida, Amifostina, Amrubicina, Amsacrina, Anastrozol, Anzmet, Aranesp, Arglabina, trióxido arsénico, Aromasina, 5-Azacitidina, Azatioprina, BCG o tice-BCG, Bestatina, Betametasona-acetato, Betametasona-fosfato sódico, Bexaroten, Bleomicina-sulfato, Broxuridina, Bortezomib, Busulfan, Calcitonina, Campath, Capecitabina, Carboplatino, Casodex, Cefeson, Celmoleucina, Cerubidina, Clorambucilo, Cisplatino, Cladribina, ácido clodrónico, Ciclofosfamida, Citarabina, Dacarbazina, Dactinomicina, DaunoXome, Decadron, Decadron-fosfato, Delestrogen, Denileucina Diftitox, Depomedrol, Deslorelina, Dexrazoxan, Dietilestilbestrol, Diflucan, Docetaxel, Doxifluridina, Doxorubicina, Dronabinol, DW-166HC, Eligard, Elitek, Ellence, Emend, Epirubicina, Epoetin-alfa, Epogen, Eptaplatino, Ergamisol, Estrace, Estradiol, Estramustina-fosfato sódico, Etinilestradiol, Etiol, ácido etidrónico, Etopofos, Etoposido, Fadrozol, Farston, Filgrastim, Finasterida, Fligrastim, Floxuridina, Fluconazol, Fludarabina, 5-Fluorodesoxiuridins-monofosfato, 5-Fluoruracilo (5-FU), Fluoximesterona, Flutamid, Formestan, Fosteabina, Fotemustina, Fulvestrant, Gammagard, Gemcitabina, Gemtuzumab, Gleevec, Gliadel, Goserelina, Granisetron-hidrocloruro, Histrelina, Hicamtina, Hidrocorton, eritro-hidroxinoniladenina, Hidroxiurea, Ibritumomab Tiuxetan, Idarubicina, Ifosfamida, Interferón-alfa, Interferón-alfa-2, Interferón-alfa-2a, Interferón-alfa-2β, Interferón-alfa-n1, Interferón-alfa-n3, Interferón-beta, Interferón-gamma-1α, Interleucina-2, Intron A, Iressa, Irinotecan, Kitril, Lentinan-sulfato, Letrozol, Leucovorina, Leuprolid, Leuprolid-acetato, Levamisol, ácido levofólico-sal de calcio, Levotroid, Levoxil, Lomustina, Lonidamina, Marinol, Mecloretamina, Mecobalamina, Medroxiprogesterona-acetato, Megestrol-Acetato, Melfalan, Menest, 6-Mercaptopurina, Mesna, Metotrexato, Metvix, Miltefosins, Minociclina, Mitomicina C,

Mitotan, Mitoxantron, Modrenal, Miocet, Nedaplatino, Neulasta, Neumega, Neupogen, Nilutamid, Nolvadex, NSC-631570, OCT-43, Octreotid, Ondansetron-hidrocloruro, Orapred, Oxaliplatino, Paclitaxel, Pediapred, Pegaspargasa, Pegasys, Pentostatina, Picibanil, Pilocarpina-hidrocloruro, Pirarubicina, Plicamicina, Porfimer-sódico, Prednimustina, Prednisolona, Prednisona, Premarina, Procarbazina, Procrit, Raltitrexed, Rebif, Renio-186-Etidronat, Rituximab, Roferon-A, Romurtid, Salagen, Sandostatina, Sargramostim, Semustina, Sizofiran, Sobuzoxan, Solu-Medrol, Estreptozocina, Cloruro de etroncio-89, Sintroid, Tamoxifen, Tamsulosina, Tasonermina, Tastolacton, Taxoter, Teceleucina, Temozolomid, Teniposido, Testosterona-propionato, Testred, Tioguanina, Tiotepa, Tirotropina, ácido tiludrónico, Topotecan, Toremifen, Tositumomab, Tastuzumab, Teosulfan, Tretinoin, Trexall, TrimetIlmelaminA, Trimetrexat, Triptorelin-acetato, Triptorelina-pamoato, UFT, Uridina, Valrubicina, Vesnarinon, Vinblastina, Vincristina, Vindesina, Vinorelbina, Virulizina, Zinecard, Zinostatin-Stimalamer, Zofran; ABI-007, Acolbifen, Actimmun, Affinitak, Aminopterina, Arzoxifen, Asoprisnil, Atamestan, Atrasentan, Avastina, BAY 43-9006 (Sorafenib), CCI-779, CDC-501, Celebrex, Cetuximab, Crisnatol, Ciproteron-acetato, Decitabina, DN-101, Doxorubicina-MTC, dSLIM, Dutasterida, Edotecarina, Eflornitina, Exatecan, Fenretinid, dihidrocloruro de histamina, Implante de Histrelina-Hidrogel, Holmio-166-DOTMP, ácido ibandrónico, Interferón-gamma, Intron-PEG, Ixabepilon, Hemocianina de la lamprea bocallave, L-651582, Lanreotid, Lasofoxifen, Libra, Lonafarnib, Miproxifen, Minodronato, MS-209, MTP-PE liposomal, MX-6, Nafarelina, Nemorubicina, Neovastat, Nolatrexed, Oblimersen, Onko-TCS, Osidem, Paclitaxel-poliglutamato, Pamidronat-disódico, PN-401, QS-21, Quazepam, R-1549, Raloxifen, Ranpirnas, ácido 13-cis-retinoico, Satraplatino, Seocalcitol, T-138067, Tarceva, Taxoprexina, Timosina-alfa-1, Tiazofurina, Tipifarnib, Tirapazamina, TLK-286, Toremifen, TransMID-107R, Valspodar, Vapreotid, Vatalanib, Verteporfina, Vinflunina, Z-100, ácido zoledrónico, así como combinaciones de los mismos.

En una forma de realización preferida, los compuestos de la presente invención pueden combinarse con agentes anti-hiperproliferativos, que a modo de ejemplo - sin que este listado sea excluyente - pueden ser:

Aminoglutetimida, L-asparaginasa, Azatioprina, 5-Azacitidina, Bleomicina, Busulfan, Carboplatino, Carmustina, Clorambucilo, Cisplatino, Colaspasa, Ciclofosfamida, Citarabina, Dacarbazina, Dactinomicina, Daunorubicina, Dietilestilbestrol, 2',2'-Difluorodesoxicitidina, Docetaxel, Doxorubicina (Adriamicina), Epirubicina, Epotilon y sus derivados, eritro-hidroxinoniladenina, Etinilestradiol, Etoposido, Fludarabina-fosfato, 5-Fluorodesoxiuridina, 5-Fluorodesoxiuridina-monofosfato, 5-Fluoruracilo, Fluoximesterona, Flutamid, Hexametilmelamina, Hidroxiurea, Hidroxiprogesterona-caproato, Idarubicina, Ifosfamida, Interferón, Irinotecan, Leucovorina, Lomustina, Mecloretamina, Medroxiprogesterona-acetato, Megestrol-acetato, Melfalan, 6-Mercaptopurina, Mesna, Metotrexato, Mitomicina C, Mitotan, Mitoxantron, Paclitaxel, Pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), Plicamicina, Prednisolona, Prednisona, Procarbazina, Raloxifen, Semustina, Estreptozocina, Tamoxifeno, Teniposido, Testosterona-propionato, Tioguanina, Tiotepa, Topotecan, Trimetilmelamina, Uridina, Vinblastina, Vincristina, Vindesina y Vinorelbina.

De una manera muy prometedora, los compuestos de acuerdo con la invención se pueden combinar también con agentes terapéuticos biológicos tales como anticuerpos (p. ej. Avastina, Rituxan, Erbitux, Herceptina). Los compuestos de acuerdo con la invención pueden alcanzar efectos positivos también en combinación con terapias dirigidas contra la angiogénesis tales como, por ejemplo, con Avastina, Axitinib, Recentina, Regorafenib, Sorafenib o Sunitinib. Combinaciones con inhibidores del proteasoma y de mTOR, así como combinaciones con antihormonas e inhibidores enzimáticos metabólicos esteroides son asimismo particularmente adecuados debido a su favorable perfil de efectos secundarios.

En general, con la combinación de compuestos de la presente invención con otros agentes citostática o citotóxicamente eficaces se persiguen los siguientes objetivos:

- Una actividad mejorada en la ralentización del crecimiento de un tumor, en la reducción de su tamaño o incluso en su total eliminación en comparación con un tratamiento con una sustancia activa individual;
- la posibilidad de emplear los agentes quimioterapéuticos utilizados en una dosis menor que en la monoterapia;
- la posibilidad de una terapia compatible con menos efectos secundarios en comparación con la administración única;
- la posibilidad de un tratamiento de un espectro más amplio de enfermedades tumorales;
- el alcanzar una tasa de respuesta más elevada a la terapia;
- un mayor tiempo de supervivencia de los pacientes en comparación con la terapia estándar de hoy en día.

Además de ello, los compuestos de acuerdo con la invención pueden emplearse también en combinación con una terapia de radiación y/o de una intervención quirúrgica.

Otro objeto de la presente invención son medicamentos que contienen almenos un compuesto de acuerdo con la invención, habitualmente junto con uno o varios coadyuvantes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados, así como su uso en los fines precedentemente mencionados.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden actuar de forma sistémica y/o local. Para este fin, pueden aplicarse de manera adecuada tal como, por ejemplo por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dermal, transdermal, conjuntival, ótica o como implante o bien estent.

Para estas vías de aplicación, los compuestos de acuerdo con la invención pueden administrarse en formas de aplicación adecuadas.

Para la aplicación por vía oral se adecuan, según el estado conocido de la técnica, formas de aplicación funcionales que entregan los compuestos de acuerdo con la invención de forma rápida y/o modificada, que contienen los compuestos de acuerdo con la invención en froma cristalina y/o amorfa y/o disuelta tales como, p. ej., comprimidos (comprimidos no revestidos o revestidos, por ejemplo con revestimientos resistentes a los jugos gástricos o que se disuelven de forma retardada o insolubles, que controlan la liberación del compuesto de acuerdo con la invención), comprimidos que se descomponen rápidamente en el paladar o películas/obleas, películas/liofilizados, cápsulas (por ejemplo, cápsulas de gelatina dura o blanda), grageas, granulados, nódulos, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o disoluciones.

La aplicación parenteral puede suceder evitando una etapa de resorción (p. ej. por vía intravenosa, intraarterial, intracardial, intraespinal o intralumbar) o con intervención de una resorción (p. ej. por vía intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la aplicación parenteral se adecuan como formas de aplicación, entre otros, prepardos de inyección e infusión en forma de disoluciones, suspensiones, emulsiones, liofilizados o polvos estériles.

Para las demás vías de aplicación se adecuan, p. ej., formas medicamentosas de inhalación (entre otros inhaladores de polvos, nebulizadores), gotas, disoluciones o sprays nasales, comprimidos a aplicar por vía lingual, sublingual o bucal, películas/obleas o cápsulas, supositorios, preparados para los oídos o los ojos, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas agitadas), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdermales (p. ej., emplastos), leche, pastas, espumas, polvos para espolvorear, implantes o estents.

Se prefiere la aplicación oral o parenteral, en particular la aplicación oral y la aplicación intravenosa.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden transformarse en las formas de aplicación indicadas. Esto puede suceder de manera en sí conocida, mediante mezcladura con coadyuvantes inertes, no tóxicos y farmacéuticamente adecuados. A estos coadyuvantes pertenecen, entre otros, sustancias de soporte (por ejemplo celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (p. ej., polietilenglicoles líquidos), emulsionantes y agentes dispersantes o humectantes (por ejemplo dodecilsulfato sódico, oleato de polioxisorbitan), aglutinantes (por ejemplo polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo albúmina), estabilizadores (p. ej., antioxidantes tales como, por ejemplo, ácido ascórbico), colorantes (p. ej., pigmentos inorgánicos tales como, por ejemplo, óxidos de hierro) y correctores del sabor y/o del aroma.

Por lo general, se ha manifestado ventajoso, en el caso de la aplicación parenteral, administrar cantidades de aproximadamente 0,001 a 1 mg/kg, de preferencia aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/kg de peso corporal para alcanzar resultados eficaces. En el caso de la aplicación por vía oral, la dosificación asciende a aproximadamente 0,01 hasta 100 mg/kg, de preferencia a aproximadamente 0,01 hasta 20 mg/kg y de manera muy particularmente preferida, a 0,1 hasta 10 mg/kg de peso corporal.

A pesar de ello, puede ser eventualmente necesario desviarse de las cantidades mencionadas, a saber en función del peso corporal, de la vía de administración, del comportamiento individual frente a la sustancia activa, del tipo de preparado y del instante o bien intervalo en el que tiene lugar la aplicación. Así, en algunos casos puede ser suficiente con contentarse con menos de la cantidad mínima antes mencionada, mientras que en otros casos debe rebasarse el límite superior mencionado. En el caso de la aplicación de grandes cantidades, puede ser aconsejable dividir éstas en varias dosis individuales a lo largo del día.

Los siguientes Ejemplos de realización detallan la invención. La invención no se limita a los Ejemplos.

Los datos en porcentaje en los siguientes Ensayos y Ejemplos son, si no se indica lo contrario, porcentajes en peso; las partes son partes en peso. Las relaciones de disolventes, relaciones de dilución y los datos de concentraciones de disoluciones líquido/líquido se reiferen en cada caso al volumen.

A. Ejemplos

Abreviaturas y acrónimos:

abs. absoluto

Ac acetilo

ac. acuoso, disolución acuosa

Boc terc.-butoxicarbonilo

br. ancho (en el caso de RMN)

Ej. Ejemplo

aprox. aproximado

CI ionización química (en MS)

dD doblete (en el caso de RMN)

d día(s)

DC cromatografía de capa fina

DCI ionización química directa (en el caso de MS)

dd doblete de doble (en el caso de RMN)

DMAP 4-N,N-dimetilaminopiridina

DME 1,2-dimetoxietano

DMF N,N-dimetilformamida

DMSO dimetilsulfóxido

DPBS disolución salina tamponada con fosfato de Dulbecco

dt doblete de triplete (en el caso de RMN)

d. T. de la teoría (en el caso de rendimiento químico)

EDC hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida

EI ionización por impacto de electrones (en el caso de MS)

eq. equivalente(s)

ESI ionización por electroproyección (en el caso de MS)

FCS suero de ternero fetal

Fmoc (9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo

sat. saturado(a)

GTP guanosin-5'-trifosfato

h hora(s)

HATU hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio

HEPES ácido 4-(2-hidroxietil)piperazin-1-etanosulfónico

HOAc ácido acético

HOBt 1-hidroxi-1H-benzotriazol-hidrato

HOSu N-hidroxisuccinimida

HPLC	cromatografía líquida de alta presión, de alto rendimiento
conc.	concentrado(a)
LC-MS	espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida
m	multiplete (en el caso de RMN)
min	minuto(s)
MS	espectrometría de masas
MTT	bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazolio
NMM	N-metilmorfolina
NMP	N-metil-2-pirrolidinona
RMN	resonancia magnética nuclear
PBS	disolución salina tamponada con fosfato
Pd/C	paladio sobre carbón activo
cuant.	cuantitativo (en el caso de rendimiento)
cuart	cuartete (en el caso de RMN)
quint	quintete (en el caso de RMN)
R_f	índice de retención (en el caso de DC)
TA	temperatura ambiente
R_t	tiempo de retención (en el caso de HPLC)
s	singulete (en el caso de RMN)
t	triplete (en el caso de RMN)
terc.	terciario
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
UV	espectrometría ultravioleta
v/v	relación volumen a volumen (de una disolución)
Z	benciloxicarbonilo
jun.	juntos

Métodos HPLC y LC-MS:

Método 1 (LC-MS):

Instrumento: Sistema Waters Acquity SQD UPLC; Columna: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8µ 50 mm x 1 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,25 ml de ácido fórmico al 99%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,25 ml de ácido fórmico al 99%; gradiente: 0,0 min 90% de A → 1,2 min 5% de A → 2,0 min 5% de A; caudal: 0,40 ml/min; horno: 50°C, detección UV: 210-400 nm.

Método 2 (LC-MS):

Instrumento: Micromass QuattroPremier con Waters UPLC Acquity; Columna: Thermo Hypersil GOLD 1,9µ 50 mm x 1 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A → 0,1 min 90% de A → 1,5 min 10% de A → 2,2 min 10% de A; caudal: 0,33 ml/min; horno: 50°C, detección UV: 210 nm.

Método 3 (LC-MS):

Instrumento: Micromass Quattro Micro MS con HPLC Agilent Serie 1100; Columna: Thermo Hypersil GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 100% de A → 3,0 min 10% de A → 4,0 min 10% de A → 4,01 min 100% de A (caudal 2,5 ml/min) → 5,00 min 100% de A; horno: 50°C, caudal: 2 ml/min; detección UV: 210 nm.

Método 4 (LC-MS):

Tipo de aparato MS: Micromass ZQ; tipo de aparato HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; Columna: Phenomenex Gemini 3µ 30 mm x 3,00 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A → 2,5 min 30% de A → 3,0 min 5% de A → 4,5 min 5% de A; caudal: 0,0 min 1 ml/min → 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C, detección UV: 210 nm.

Método 5 (HPLC):

Aparato: HP 1090 Serie II; Columna: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4,6 mm; antecolumna: Merck Chromolith Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4,6 mm; Volumen de inyección: 5 µl; eluyente A: $HClO_4$ al 70% en agua (4 ml/litro), eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0,00 min 20% de B → 0,50 min 20% de B → 3,00 min 90% de B → 3,50 min 90% de B → 3,51 min 20% de B→ 4,00 min 20% de B; caudal: 5 ml/min; temperatura de la columna: 40°C.

Método 6 (HPLC):

Aparato: Waters 2695 con DAD 996; Columna: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4,6 mm; antecolumna: Merck Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4,6 mm; eluyente A: $HClO_4$ al 70% en agua (4 ml/litro), eluyente B: acetonitrilo;gGradiente: 0,00 min 5% de B → 0,50 min 5% de B → 3,00 min 95% de B → 4,00 min 95% de B; caudal: 5 ml/min.

Método 7 (LC-MS):

Tipo de aparato MS: Waters ZQ; tipo de aparato HPLC: Agilent 1100 Series; UV DAD; Columna: Thermo Hypersil GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 100% de A → 3,0 min 10% de A → 4,0 min 10% de A → 4,1 min 100% de A (caudal 2,5 ml/min) min % de A; horno: 55°C, caudal: 2 ml/min; detección UV: 210 nm.

Método 8 (LC-MS):

Tipo de aparato MS: Waters ZQ; tipo de aparato HPLC: Agilent 1100 Series; UV DAD; Columna: Thermo Hypersil GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 100% de A → 2,0 min 60% de A → 2,3 min 40% de A → 3,0 min 20% de A → 4,0 min 10% de A → 4,2 min 100% de A (caudal 2,5 ml/min); horno: 55°C, caudal: 2 ml/min; detección UV: 210 nm.

Método 9 (LC-MS):

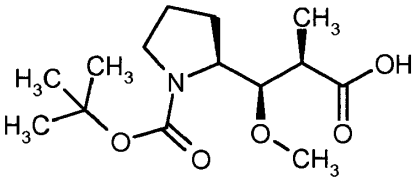
Instrumento: Sistema Waters Acquity SQD UPLC; Columna: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8µ 50 mm x 1 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,25 ml de ácido fórmico al 99%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,25 ml de ácido fórmico al 99%; gradiente: 0,0 min 95% de A → 6,0 min 5% de A → 7,5 min 5% de A; horno: 50°C, caudal: 0,35 ml/min; detección UV: 210-400 nm.

Para todos los reaccionantes o reactivos, cuya preparación no se describe en lo que sigue de forma explícita, se cumple que se adquirieron comercialmente de fuentes generalmente accesibles. Para todos los reaccionantes o reactivos restantes, cuya preparación tampoco se describe en lo que sigue y que no se adquirieron comercialmente o que se adquirieron de fuentes que no son generalmente accesibles, se hace una llamada a la bibliografía publicada en la cual se describe su preparación.

Compuestos de partida y compuestos intermedios:

Compuesto de partida 1

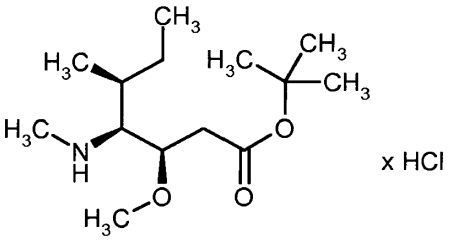
Ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-(*terc.*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (Boc-dolaproína)



El compuesto del título se puede preparar por diferentes vías según prescripciones de la bibliografía, véase, p. ej., Pettit et al., Synthesis 1996, 719; Shioiri et al., Tetrahedron Lett. 1991, 32, 931; Shioiri et al., Tetrahedron 1993, 49, 1913; Koga et al., Tetrahedron Lett. 1991, 32, 2395; Vidal et al., Tetrahedron 2004, 60, 9715; Poncet et al., Tetrahedron 1994, 50, 5345. Se preparó en este caso en forma de ácido libre (tal como se representa) o en forma de la correspondiente sal de diciclohexilamina.

Compuesto de partida 2

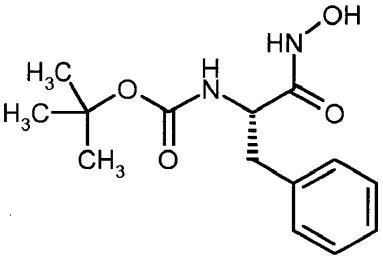
(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-(metilamino)heptanoato-hidrocloruro de *terc.*-butilo (dolaisoleucina-OtBu x HCl)



El compuesto del título se puede preparar por diferentes vías según prescripciones de la bibliografía, véase, p. ej., Pettit et al., J. Org. Chem. 1994, 59, 1796; Koga et al., Tetrahedron Lett. 1991, 32, 2395; Shioiri et al., Tetrahedron Lett. 1991, 32, 931; Shioiri et al., Tetrahedron 1993, 49, 1913.

Compuesto de partida 3

N^{α}-(t*erc.*-butoxicarbonil)-*N*-hidroxi-L-fenilalaninamida



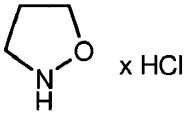
El compuesto del título se preparó según la prescripción de la bibliografía (A. Ritter et al., J. Org. Chem. 1994, 59, 4602).

Rendimiento: 750 mg (75% d. T.)

LC-MS (Método 3): R_t = 1,67 min; MS (ESIpos): m/z = 281 $(M+H)^+$.

Compuesto de partida 4

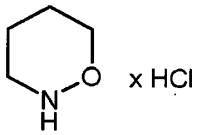
Hidrocloruro de 1,2-oxazolidina



El compuesto del título se puede preparar según prescripciones de la bibliografía, véase, p. ej., H. King, J. Chem. Soc. 1942, 432; también se puede adquirir en el comercio.

Compuesto de partida 5

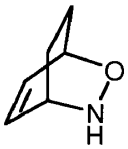
Hidrocloruro de 1,2-oxazinano



El compuesto del título se puede preparar según prescripciones de la bibliografía, véase, p. ej., H. King, J. Chem. Soc. 1942, 432;

Compuesto de partida 6

2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-eno

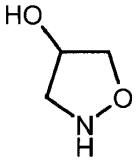


El compuesto del título se puede preparar en forma Boc-protegida según la prescripción de la bibliografía (véase, p. ej., C. Johnson et al., Tetrahedron Lett. 1998, 39, 2059); la desprotección tuvo lugar de manera habitual mediante tratamiento con ácido trifluoroacético y subsiguiente neutralización.

Rendimiento: 149 mg (89% d. T.)

Compuesto de partida 7

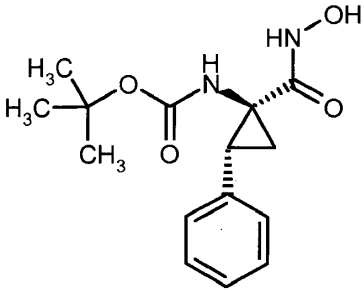
1,2-oxazolidin-4-ol



El compuesto del título se puede preparar según prescripciones de la bibliografía, véase, p. ej.,N. Amlaiky, Synthesis 1982, 5, 426.

Compuesto de partida 8

[(1S,2R)-1-(hidroxicarbamoil)-2-fenilciclopropil]carbamato de *terc.*-butilo



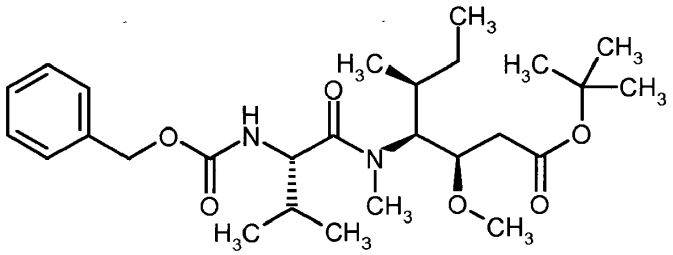
El compuesto del título se preparó según una prescripción de la bibliografía (A. Ritter et al., J. Org. Chem. 1994, 59, 4602) partiendo de ácido (1S,2R)-1-[(terc.-butoxicarbonil)amino]-2-fenilciclopropanocarboxílico adquirible en el comercio (C. Cativiela et al., Chirality 1999, 11, 583).

Rendimiento: 339 mg (59% d. T.)

LC-MS (Método 1): R_t = 0,82 min; MS (ESIpos): m/z = 293 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 1

(3R,4S,5S)-4-[{*N*-[(benciloxi)carbonil]-L-valil}(metil)amino]-3-metoxi-5-metil-heptanoato de *terc.*-butilo



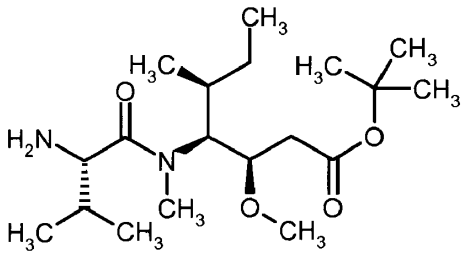
425 mg (1,7 mmol) de *N*-[(benciloxi)carbonil]-L-valina se disolvieron en 50 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 500 mg (1,7 mmol) de (3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-(metilamino)-heptanoato-hidrocloruro de *terc.*-butilo (compuesto de partida 2), 356 mg (1,9 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 285 mg (1,9 mmol) de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol-hidrato, así como 655 mg (5,1 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se agitó durante 20 h a TA. A continuación, se añadieron de nuevo 142 mg (0,5 mmol) de *N*-[(benciloxi)carbonil]-L-valina, 119 mg (0,6 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 95 mg (0,6 mmol) 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol-hidrato, así como 218 mg (1,7 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina, y la mezcla se trató durante 90 min con ultrasonidos. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. El residuo se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron 329 mg (40% d. T.) del compuesto del título en forma de un aceite incoloro.

HPLC (Método 5): R_t = 2,5 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,45 min; MS (ESIpos): m/z = 493 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 2

(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoato de *terc.*-butilo



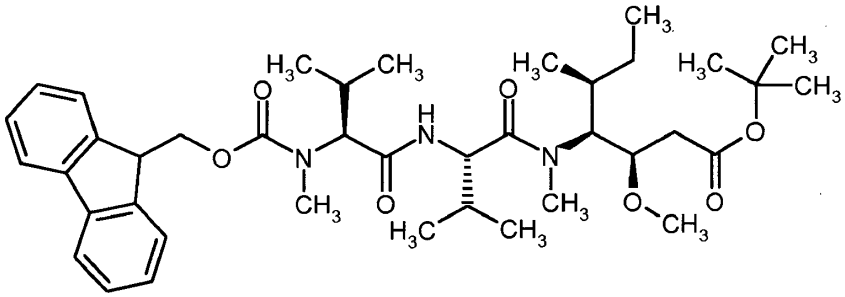
500 mg (1 mmol) de (3R,4S,5S)-4-[{*N*-[(benciloxi)carbonil]-L-valil}(metil)amino]-3-metoxi-5-metil-heptanoato de *terc.*-butilo (compuesto intermedio 1) se disolvieron en 50 ml de metanol y, después de la adición de 100 mg de paladio al 10% sobre carbón activo, se hidrogenó durante 1 h a TA bajo presión normal. El catalizador se separó después por filtración y el disolvente se separo al vacío. Se obtuvieron 370 mg (cuant.) del compuesto del título en forma de un aceite casi incoloro.

HPLC (Método 5): R_t = 1,59 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,74 min; MS (ESIpos): m/z = 359 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 3

N-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-*terc.*-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



396 mg (1,1 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valina se disolvieron en 20 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 365 mg (1 mmol) de (3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoato de *terc.*-butilo (compuesto intermedio 2), 234 mg (1,2 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, así como 187 mg (1,2 mmol) de 1-hidroxi-1H-benzotriazol-hidrato. Se agitó la mezcla de reacción durante una noche a TA. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. El residuo se empleó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

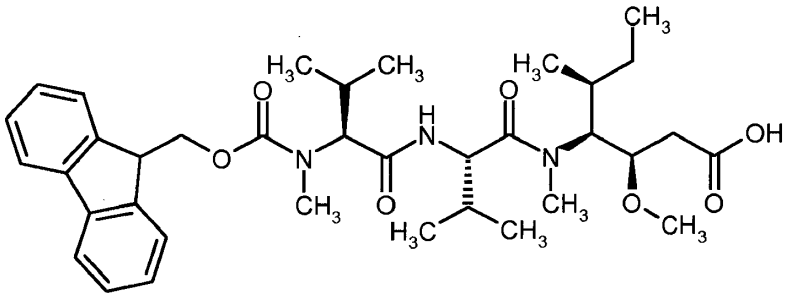
Rendimiento: 660 mg (68% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 3,0 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,61 min; MS (ESIpos): m/z = 694 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 4

N-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida



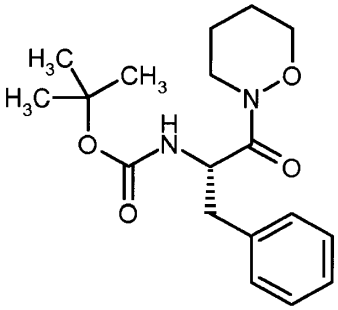
650 mg (0,94 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-terc.-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 3) se recogieron en 5 ml de diclorometano, se mezclaron con 5 ml de ácido trifluoracético y se agitaron durante una noche a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron 430 mg (72% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 5): R_t = 2,4 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,51 min; MS (ESIpos): m/z = 638 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 5

[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *terc.*-butilo



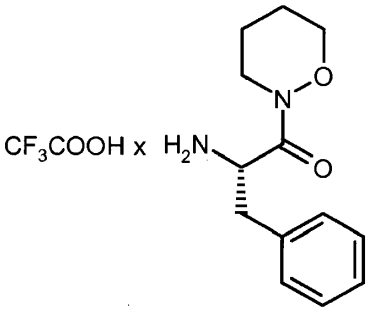
500 mg (1,9 mmol) de *N*-(terc.-butoxicarbonil)-L-fenilalanina se disolvieron en 10 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 466 mg (3,8 mmol) de hidrocloruro de 1,2-oxazinano (compuesto de partida 5), 433 mg (2,3 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 382 mg (2,8 mmol) de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol-hidrato así como 731 mg (5,7 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla de reacción durante una noche a TA. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. Se obtuvieron 620 mg (98% d. T.) del compuesto del título.

HPLC (Método 5): R_t = 1,8 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,62 min; MS (ESIpos): m/z = 235 $(M-C_4H_8-CO_2+H)^+$.

Compuesto intermedio 6

(2S)-2-amino-1-(1,2-oxazinan-2-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



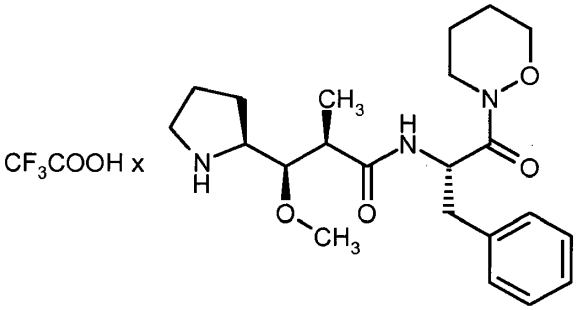
620 mg (1,85 mmol) de [(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *terc.*-butilo (compuesto intermedio 5) se recogieron en 5 ml de diclorometano, se mezclaron con 10 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 30 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se liofilizó en agua/acetonitrilo. De este modo se obtuvieron 750 mg del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 5): R_t = 0,45 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,09 min; MS (ESIpos): m/z = 235 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 7

(2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético



Primero se liberó ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-(terc.-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (compuesto de partida 1) a partir de 50 mg (0,11 mmol) de su sal de diciclohexilamina mediante absorción en acetato de etilo y separación con agitación con disolución acuosa de hidrógeno-sulfato de potasio. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se recogió en 10 ml de DMF y se mezcló sucesivamente con 49 mg (0,11 mmol) de (2S)-2-amino-1-(1,2-oxazinan-2-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 6), 61 mg (0,16 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) así como 56 µl (0,16 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a TA. La tanda se concentró después y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron, así, 44 mg (82% d. T.) del compuesto intermedio Boc-protegido (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc.*-butilo.

HPLC (Método 5): R_t = 1,9 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,27 min; MS (ESIpos): m/z = 504 $(M+H)^+$.

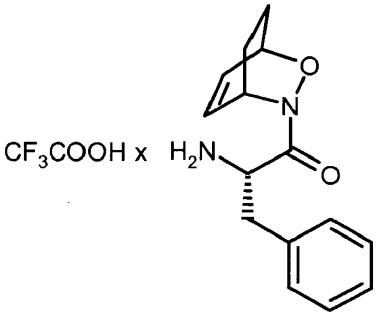
44 mg (0,09 mmol) de este compuesto intermedio se recogieron en 3 ml de diclorometano, se mezclaron con 1 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 30 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se liofilizó en agua/acetonitrilo. De este modo se obtuvieron 39 mg (86% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 5): R_t = 0,94 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,65 min; MS (ESIpos): m/z = 404 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 8

(2S)-2-amino-1-(2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-3-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



41 mg (0,37 mmol) de 2,5-dioxopirrolidin-1-il-*N*-(terc.-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato se recogieron en 10 ml de DMF y se mezclaron con 149 mg (0,41 mmol) de 2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-eno (compuesto de partida 6), así como 72 µl (0,41 mmol) de N,N-diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a TA. El disolvente se separó después en vacío, el residuo se recogió en acetato de etilo y se separó con agitación con disolución de ácido cítrico al 5% y, a continuación, con disolución de hidrógeno-carbonato de sodio al 5%. La fase orgánica se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea en gel de sílice con tolueno/etanol 10:1 como eluyente. Las fracciones correspondientes se reunieron y el disolvente se separó en vacío. Después de secar el residuo en alto vacío se obuvieron de esta forma 69 mg (47% d. T.) del compuesto intermedio Boc-protegido [(2S)-1-(2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *terc.*-butilo en forma de una mezcla de diastereómeros.

LC-MS (Método 1): R_t = 1,1 min; MS (ESIpos): m/z = 359 $(M+H)^+$.

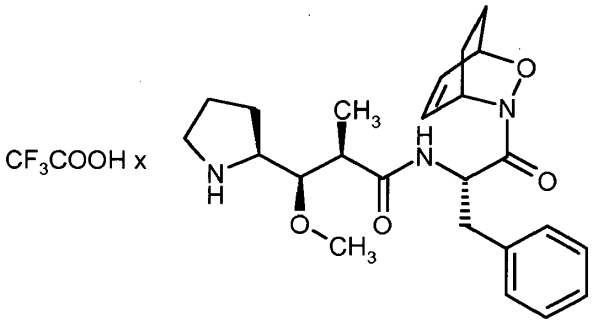
64 mg (0,18 mmol) de este compuesto intermedio se recogieron en 10 ml de diclorometano, se mezclaron con 1 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 30 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se liofilizó en agua/dioxano. De este modo se obtuvieron 66 mg (cuant.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 6): R_t = 1,45 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,12 min; MS (ESIpos): m/z = 259 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 9

(2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S)-1-(2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-3-il)-1-oxo-3-fenil-propan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-yl]propanamida sal del ácido trifluoroacético



Primero se liberó ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-(terc.-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (compuesto de partida 1) a partir de 83 mg (0,18 mmol) de su sal de diciclohexilamina mediante absorción en acetato de etilo y separación con agitación con disolución acuosa de hidrógeno-sulfato de potasio. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se recogió en 10 ml de DMF y se mezcló sucesivamente con 66 mg (0,18 mmol) de (2S)-2-amino-1-(2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-3-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 8), 101 mg (0,266 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N'*,*N'*-tetrametiluronio (HATU) así como 93 µl (0,53 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a TA. La tanda se concentró después y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron, así, 52 mg (56% d. T.) del compuesto intermedio Boc-protegido (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(2-oxa-3-azabiciclo[2.22.2]oct-5-en-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc.*-butilo.

HPLC (Método 6): R_t = 2,13 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,13 min; MS (ESIpos): m/z = 528 $(M+H)^+$.

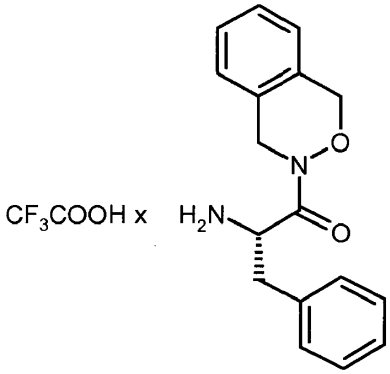
52 mg (0,1 mmol) de este compuesto intermedio se recogieron en 10 ml de diclorometano, se mezclaron con 1 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 20 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se mezcló agitando con 20 ml de dietiléter. Después de 10 min se separó mediante filtración y el residuo del filtro se secó en alto vacío. De este modo se obtuvieron 39 mg (72% d. T) del compuesto del título.

HPLC (Método 6): R_t = 1,62 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,68 min; MS (ESIpos): m/z = 428 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 10

(2S)-2-amino-1-(1,4-dihidro-3H-2,3-benzoxazin-3-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



Primero se preparó, partiendo de 75 mg (0,27 mmol) de N^{α}-(terc.-butoxicarbonil)-*N*-hidroxi-L-fenil-alaninamida (compuesto de partida 3), mediante reacción con 1,2-bis(bromometil)benceno análogamente a una prescripción bibliográfica (véase H. King, J. Chem. Soc. 1942, 432), el compuesto intermedio Boc-protegido [(2S)-1-(1,4-dihidro-3H-2,3-benzoxazin-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *terc.*-butilo.

Rendimiento: 36 mg (35% d. T.)

LC-MS (Método 3): R_t = 2,49 min; MS (ESIpos): m/z = 383 $(M+H)^+$.

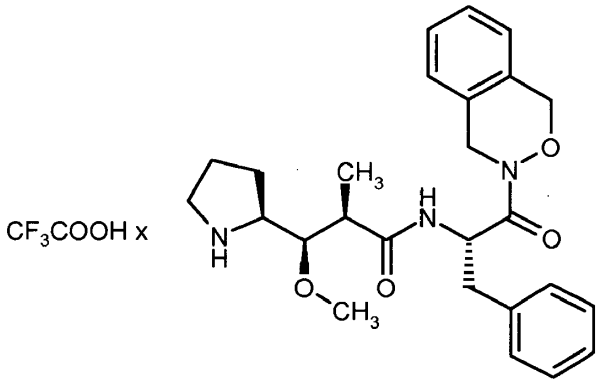
36 mg (0,094 mmol) de este compuesto intermedio se recogieron en 5 ml de diclorometano, se mezclaron con 0.5 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 20 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa. Las fracciones correspondientes se reunieron, se concentraron a un volumen de aprox. 15 ml y a continuación se liofilizaron. Se obtuvieron 16 mg (43% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 6): R_t = 1,7 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,69 min; MS (ESIpos): m/z = 283 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 11

(2R,3R)-*N*-[(2S)-1-(1,4-dihidro-3H-2,3-benzoxazin-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético



Primero se liberó ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-(*terc.*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (compuesto de partida 1) a partir de 15 mg (0,031 mmol) de su sal de diciclohexilamina mediante recogida en acetato de etilo y separación con agitación con disolución acuosa de hidrógeno-sulfato de potasio. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se recogió en 10 ml de DMF y se mezcló sucesivamente con 16 mg (0,031 mmol) de (2S)-2-amino-1-(1,4-dihidro-3H-2,3-benzoxazin-3-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 10), 18 mg (0,047 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametiluronio (HATU) así como 16 µl (0,53 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h a TA. La tanda se concentró después y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron, así, 14 mg (81% d. T.) del compuesto intermedio Boc-protegido (2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(1,4-dihidro-

3H-2,3-benzoxazin-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc.*-butilo.

HPLC (Método 6): R_t = 2,35 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,39 min; MS (ESIpos): m/z = 552 $(M+H)^+$.

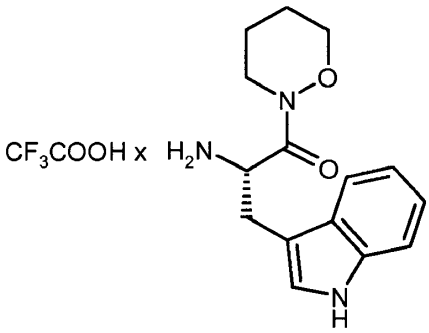
14 mg (0,025 mmol) de este compuesto intermedio se recogieron en 5 ml de diclorometano, se mezclaron con 1 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 20 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se liofilizó en dioxano. De este modo se obtuvieron 14 mg (98% d. T) del compuesto del título.

HPLC (Método 6): R_t = 1,83 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,78 min; MS (ESIpos): m/z = 452 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 12

(2S)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-il)-1-(1,2-oxazinan-2-il)propan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



130 mg (0,324 mmol) de 2,5-dioxopirrolidin-1-il-*N*-(*terc.*-butoxicarbonil)-L-triptofanato se recogieron en 15 ml de DMF y se mezclaron con 50 mg (0,405 mmol) de hidrocloruro de 1,2-oxazinano (compuesto de partida 5), así como 140 µl de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se agitó durante 24 h a TA. Después se añadió de nuevo la misma cantidad de hidrocloruro de 1,2-oxazinano y *N*,*N*-diisopropiletilamina. Después de agitar durante otras 4 h a TA, la tanda se concentó en vacío, el residuo se recogió en diclorometano y primero se separó con agitación con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y luego con agua. La fase orgánica se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea en gel de sílice con diclorometano/acetato de etilo 4:1 como eluyente. Las fracciones correspondientes se concentraron y el residuo se secó en alto vacío. Se obtuvieron, así, 63 mg (52% d. Th.) del compuesto intermedio Boc-protegido [(2S)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]carbamato de *terc.*-butilo.

HPLC (Método 6): R_t = 2,05 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 2,16 min; MS (ESIpos): m/z = 374 $(M+H)^+$.

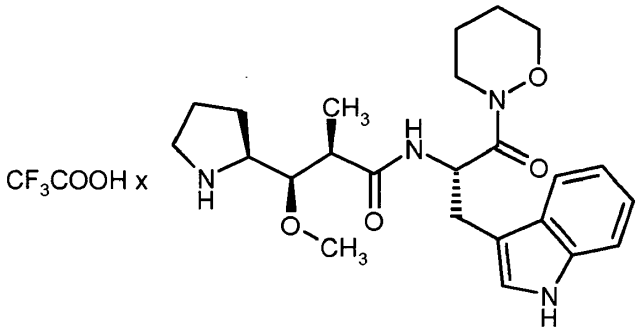
63 mg (0,167 mmol) de este compuesto intermedio se recogieron en 15 ml de diclorometano, se mezclaron con 2 ml de ácido trifluoroacético y se trataron durante 40 min en un baño de ultrasonidos. La tanda se concentró después en vacío y el residuo se liofilizó en dioxano/agua. De este modo se obtuvieron 65 mg (90% d. T) del compuesto del título.

HPLC (Método 6): R_t = 1,53 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,61 min; MS (ESIpos): m/z = 274 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 13

(2R,3R)-*N*-[(2S)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-(1,2-oxozinan-2-il]-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del compuesto intermedio 7 a través de dos etapas, a partir de la sal de diciclohexilamina del compuesto de partida 1 y (2S)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-il)-1-(1,2-oxazinan-2-il)propan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 12).

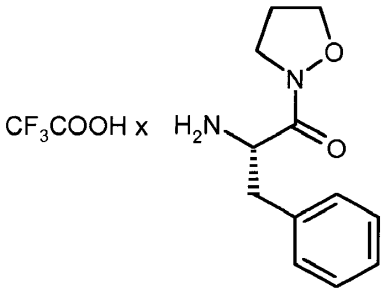
Rendimiento a través de 2 etapas: 62 mg (67% d. T.)

HPLC (Método 6): R_t = 1,65 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,7 min; MS (ESIpos): m/z = 443 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 14

(2S)-2-amino-1-(1,2-oxazolidin-2-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis de los compuestos intermedios 5 y 6 a través de dos etapas, a partir de *N*-(*terc.*-butoxicarbonil)-L-fenilalanina e hidrocloruro de 1,2-oxazolidina (compuesto de partida 4).

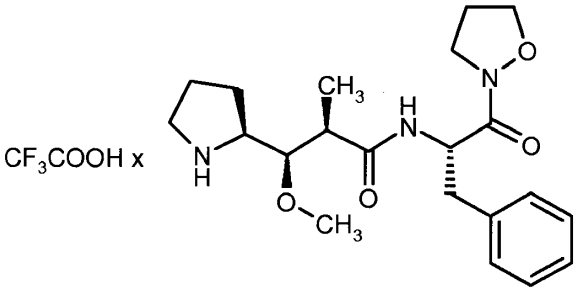
Rendimiento a través de 2 etapas: 1650 mg (97% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 0,29 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,41 min; MS (ESIpos): m/z = 221 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 15

(2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S)-1-(1,2-oxazolidin-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del compuesto intermedio 7 a través de dos etapas, a partir de la sal de diciclohexilamina del compuesto de partida 1 y (2S)-2-amino-1-(1,2-oxazolidin-2-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 14).

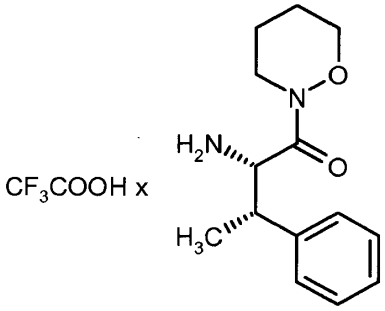
Rendimiento a través de 2 etapas: 110 mg (97% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 0,52 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,15 min; MS (ESIpos): m/z = 390 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 16

(2S,3S)-2-amino-1-(1,2-oxazinan-2-il)-3-fenilbutan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis de los compuestos intermedios 5 y 6 a través de dos etapas, a partir de (βS)-*N*-(*terc.*-butoxicarbonil)-β-metil-L-fenilalanina e hidrocloruro de 1,2-oxazinano (compuesto de partida 5).

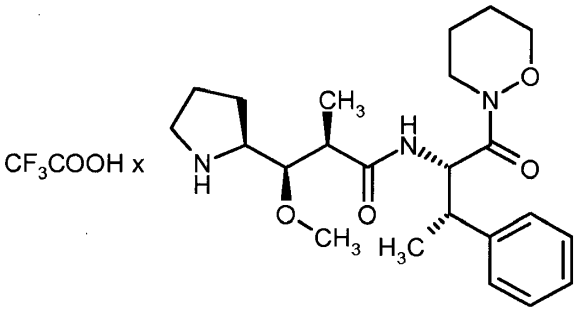
Rendimiento a través de 2 etapas: 652 mg (63% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 0,53 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,25 min; MS (ESIpos): m/z = 249 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 17

(2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilbutan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del compuesto intermedio 7 a través de dos etapas, a partir de la sal de diciclohexilamina del compuesto de partida 1 y (2S,3S)-2-amino-1-(1,2-oxazinan-2-il)-3-fenilbutan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 16).

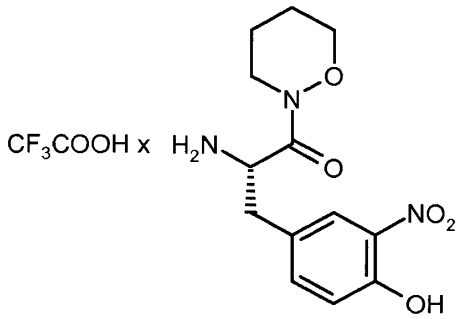
Rendimiento a través de 2 etapas: 101 mg (90% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 1,07 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,33 min; MS (ESIpos): m/z = 418 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 18

(2S)-2-amino-3-(4-hidroxi-3-nitrofenil)-1-(1,2-oxazinan-2-il)propan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis de los compuestos intermedios 5 y 6 a través de dos etapas, a partir de *N*-(*terc.*-butoxicarbonil)-3-nitro-L-tirosina e hidrocloruro de 1,2-oxazinano (compuesto de partida 5).

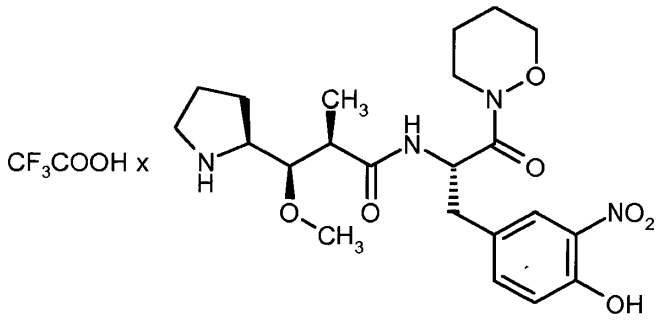
Rendimiento a través de 2 etapas: 374 mg (47% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 0,4 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,5 min; MS (ESIpos): m/z = 296 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 19

(2R,3R)-*N*-[(2S)-3-(4-hidroxi-3-nitrofenil)-1-(1,2-oxozinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del compuesto intermedio 7 a través de dos etapas, a partir de la sal de diciclohexilamina del compuesto de partida 1 y (2S)-2-amino-3-(4-hidroxi-3-nitrofenil)-1-(1,2-oxazinan-2-il)propan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 18). El producto, obtenido en una pureza de 63%, se empleó como tal, sin purificación adicional, en las reacciones consecutivas.

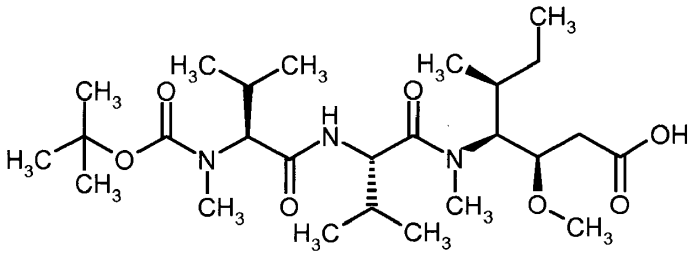
Rendimiento a través de 2 etapas: 128 mg (61% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 0,8 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,24 min; MS (ESIpos): m/z = 465 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 20

N-(*terc.*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida



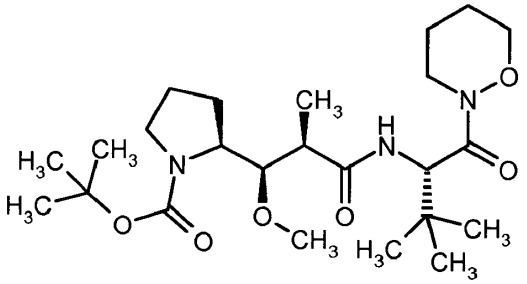
51 mg (0,08 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se disolvieron en 10 ml de diclorometano y se mezclaron con 0,5 ml de piperidina. Después de agitar durante 10 min a TA, la tanda se concentró en vacío y el residuo se mezcló agitando con dietiléter. Los componentes insolubles se separaron mediante filtración y se lavaron varias veces con dietiléter. Después, el residuo del filtro se recogió en 5 ml de dioxano/agua (1:1) y la disolución se ajustó a pH 11 con lejía de sosa 1 N. Después de tratamiento con ultrasonidos se añadieron en varias porciones, en total, 349 mg (1,6 mmol) de dicarbonato de di-terc.-butilo, manteniéndose el valor del pH de la disolución en 11. Después de finalizada la reacción, el dioxano se separó mediante evaporación y la disolución acuosa se ajustó con ácido cítrico a un valor del pH de 2-3. Se extrajo dos veces con sendos 50 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas se reunieron, se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentran al vacío. El residuo se recogió en dietiléter y el producto se precipitó con pentano. Mediante decantación se separó el disolvente. El residuo se digerió todavía varias veces con pentano y finalmente se secó en alto vacío. Se obtuvieron así 31 mg (93% d. T) del compuesto del título.

HPLC (Método 6): R_t = 2,2 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,32 min; MS (ESIpos): m/z = 516 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 21

(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3,3-diimetil-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxobutan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc.*-butilo



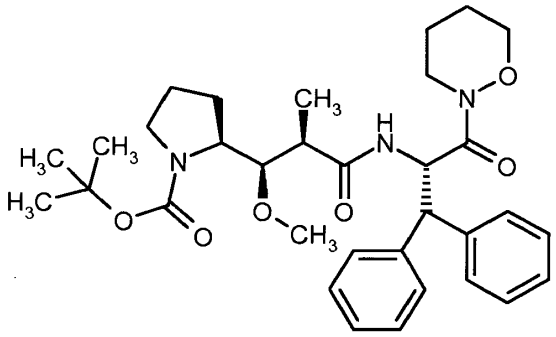
El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis de los compuestos intermedios 5 y 6 a través de tres etapas, mediante acoplamiento de *N*-(terc.-butoxicarbonil)-3-metil-L-valina, adquirible en el comercio, con hidrocloruro de 1,2-oxazinano (compuesto de partida 5), subsiguiente desprotección con ácido trifluoroacético y acoplamiento renovado con el compuesto de partida 1. El producto final se purificó por HPLC preparativa.

HPLC (Método 5): R_t = 1,92 min;

LC-MS (Método 7): R_t = 2,19 min; MS (ESIpos): m/z = 470 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 22

(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3,3-difenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc.*-butilo



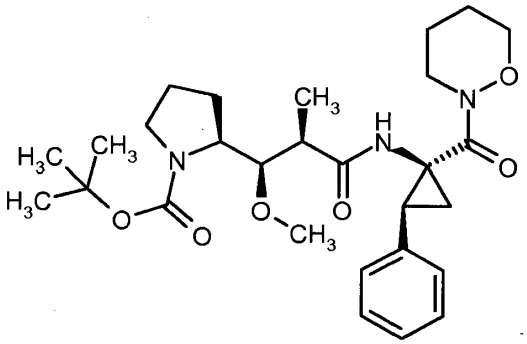
El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis de los compuestos intermedios 5 y 6 a través de tres etapas, mediante acoplamiento de *N*-(terc.-butoxicarbonil)-β-fenil-L-fenilalanina, adquirible en el comercio, con hidrocloruro de 1,2-oxazinano (compuesto de partida 5), subsiguiente desprotección con ácido trifluoroacético y acoplamiento renovado con el compuesto de partida 1. El producto final se purificó por HPLC preparativa.

HPLC (Método 5): R_t = 2,07 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,22 min; MS (ESIpos): m/z = 580 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 23

(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2S)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc.*-butilo



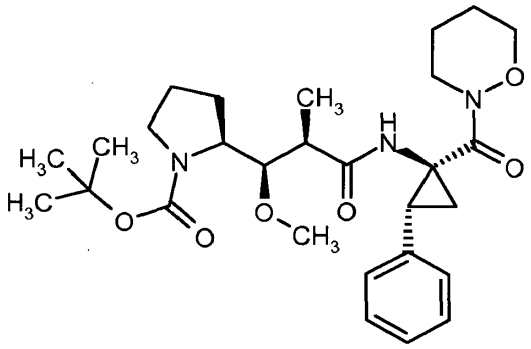
El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis de los compuestos intermedios 5 y 6 a través de tres etapas, mediante acoplamiento de ácido (1S,2S)-1-[(*terc.*-butoxicarbonil)amino]-2-fenil-ciclopropancarboxílico, adquirible en el comercio, con hidrocloruro de 1,2-oxazinano (compuesto de partida 5), subsiguiente desprotección con ácido trifluoroacético y acoplamiento renovado con el compuesto de partida 1. El producto final se purificó por HPLC preparativa.

HPLC (Método 5): R_t = 2,19 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 2,28 min; MS (ESIpos): m/z = 516 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 24

(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc.*-butilo



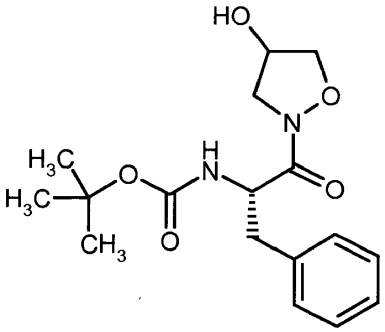
El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis de los compuestos intermedios 5 y 6 a través de tres etapas, mediante acoplamiento de ácido (1S,2R)-1-[(*terc.*-butoxicarbonil)amino]-2-fenil-ciclopropancarboxílico, adquirible en el comercio, con hidrocloruro de 1,2-oxazinano (compuesto de partida 5), subsiguiente desprotección con ácido trifluoroacético y acoplamiento renovado con el compuesto de partida 1. El producto final se purificó por HPLC preparativa.

HPLC (Método 5): R_t = 2,12 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,25 min; MS (ESIpos): m/z = 516 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 25

[(2S)-1-(4-hidroxi-1,2-oxazolidin-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *terc.*-butilo (diastereómeros 1 y 2)



200 mg (1,59 mmol) de 1,2-oxazolidin-4-ol (compuesto de partida 7) se recogieron en 10 ml de DMF y se mezclaron con 606 mg (1,67 mmol) de 2,5-dioxopirrolidin-1-il-*N*-(terc.-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato, así como 277 µl de *N*,*N*-diisopropiletilamina. Después de agitar durante 60 h a TA, la tanda se concentró en vacío y el residuo se recogió en 100 ml de acetato de etilo.En cada caso se separó con agitación dos veces con disolución de ácido cítrico al 5% y disolución de hidrógeno-carbonato de sodio al 10%. A continuación, la fase orgánica se concentra al vacío. La purificación ulterior y la separación de los dos diastereómeros tuvieron lugar mediante cromatografía de resolución instantánea en gel de sílice con diclorometano/metanol 98:2 como eluyente. Las fracciones correspondientes se concentraron y el residuo se secó en alto vacío.

Diastereómero 1:

Rendimiento: 154 mg [aún impurificados mediante *N*-(terc.-butoxicarbonil)-L-fenilalanina, la cual se separó en la etapa consecutiva]

R_f 0,44 (diclorometano:metanol 95:5).

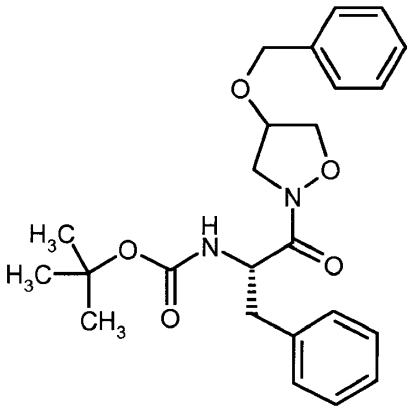
Diastereómero 2:

Rendimiento: 86 mg (16% d. T.)

R_f 0,40 (diclorometano:metanol 95:5).

Compuesto intermedio 26

{(2S)-1-[4-(benciloxi)-1,2-oxazolidin-2-il]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il}carbamato de *terc.*-butilo (diastereómero 1)



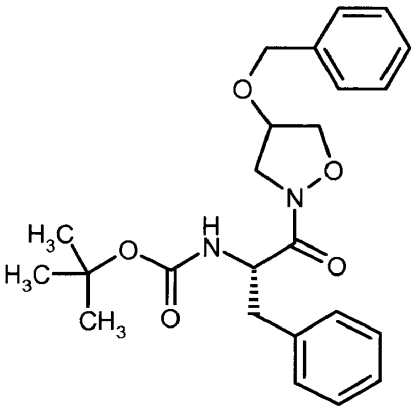
75 mg (aprox. 0,22 mmol) del diastereómero 1 del compuesto intermedio 25 se recogieron en 10 ml de acetona y se mezclaron con 228 mg (1,34 mmol) de bromuro de bencilo, 616 mg (4,46 mmol) de carbonato potásico, así como con una pizca de yoduro de tetra-n-butilamonio. La tanda se calentó durante 20 h a reflujo y luego se concentró en vacío. El residuo se mezcló agitando con 100 ml de diclorometano, se filtro y, a continuación, la fase en diclorometano se concentró. El residuo remanente se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron 68 mg (72% d. T) del compuesto del título.

HPLC (Método 6): R_t = 2,31 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,18 min; MS (ESIpos): m/z = 427 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 27

{(2S)-1-[4-(benciloxi)-1,2-oxazolidin-2-il]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il}carbamato de *terc.*-butilo (diastereómero 2)



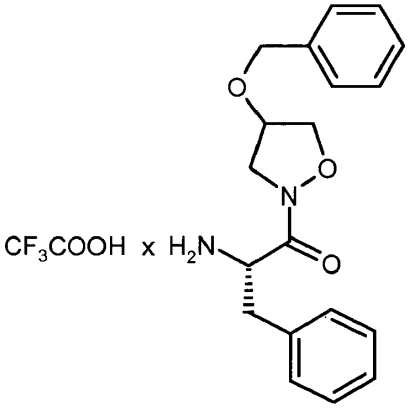
83 mg (0,25 mmol) del diastereómero 2 del compuesto intermedio 25 se recogieron en 15 ml de acetona y se mezclaron con 127 mg (0,74 mmol) de bromuro de bencilo, 682 mg (4,93 mmol) de carbonato potásico, así como con una pizca de yoduro de tetra-n-butilamonio. La tanda se calentó durante 20 h a reflujo y luego se concentró en vacío. El residuo se mezcló agitando con 100 ml de diclorometano, se filtro y, a continuación, la fase en diclorometano se concentró. El residuo remanente se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron 87 mg (83% d. T) del compuesto del título.

HPLC (Método 6): R_t = 2,30 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,22 min; MS (ESIpos): m/z = 427 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 28

(2S)-2-amino-1-[4-(benciloxi)-1,2-oxazolidin-2-il]-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (diastereómero 1)



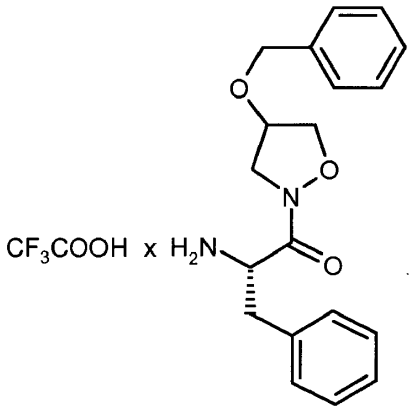
68 mg (0,16 mmol) de {(2S)-1-[4-(benciloxi)-1,2-oxazolidin-2-il]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il}carbamato de *terc.*-butilo (diastereómero 1, compuesto intermedio 26) se recogieron en 10 ml de diclorometano, se mezclaron con 1 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 30 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se liofilizó en dioxano/agua. Se obtuvieron 69 mg (98% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 6): R_t = 1,72 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,41 min; MS (ESIpos): m/z = 327 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 29

(2S)-2-amino-1-[4-(benciloxi)-1,2-oxazolidin-2-il]-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (diastereómero 2)



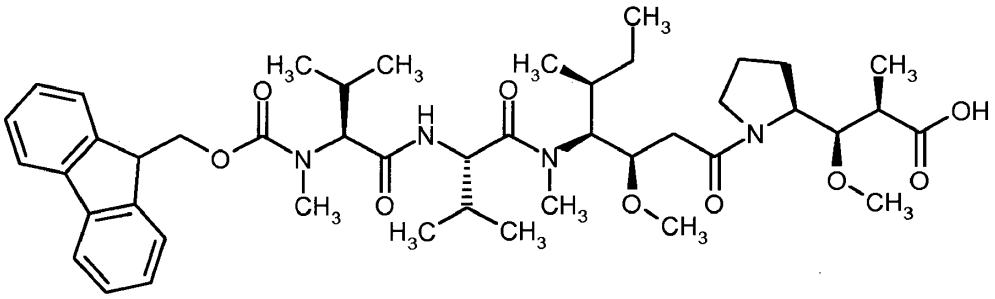
82 mg (0,19 mmol) de {(2S)-1-[4-(benciloxi)-1,2-oxazolidin-2-il]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il}carbamato de *terc*.-butilo (diastereómero 2, compuesto intermedio 27) se recogieron en 10 ml de diclorometano, se mezclaron con 1 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 30 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se liofilizó en dioxano/agua. Se obtuvieron 80 mg (95% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 6): R_t = 1,80 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,50 min; MS (ESIpos): m/z = 327 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 30

N-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



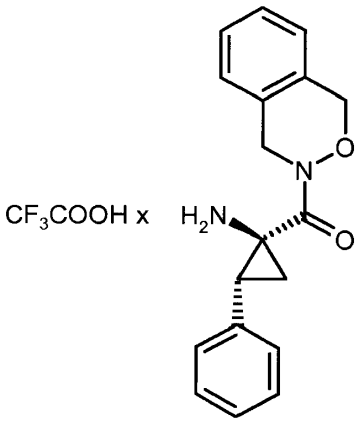
315 mg (0,494 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se disolvieron en 12 ml de DMF, se mezclaron con 104 mg (0,543 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, así como 83 mg (0,543 mmol) de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol-hidrato y se agitó durante 90 min a TA. A continuación, se añadieron 112 µl de *N*,*N*-diisopropiletilamina, así como 149 mg (0,494 mmol) de ácido (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanoico sal del ácido trifluoroacético, que previamente se había preparado a partir del compuesto de partida 1 mediante disociación del grupo protector de Boc mediante ácido trifluoroacético. La mezcla se agitó durante 2 h a TA y, a continuación, se concentró en alto vacío. El residuo remanente se purificó por HPLC preparativa durante dos veces. Se obtuvieron 140 mg (35% d. T) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 5): R_t = 2,40 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,38 min; MS (ESIpos): m/z = 807 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 31

[(1S,2R)-1-amino-2-fenilciclopropil](1,4-dihidro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-il)metanona sal del ácido trifluoroacético



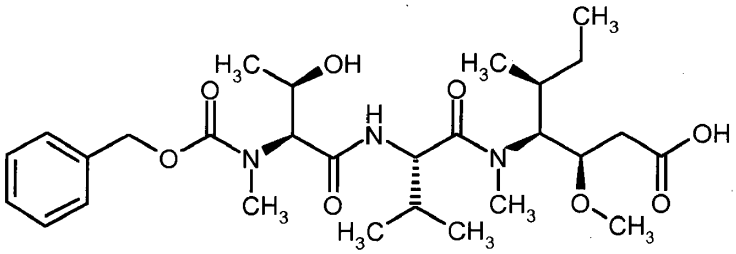
El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del compuesto intermedio 10, partiendo de [(1S,2R)-1-(hidroxicarbamoil)-2-fenilciclopropil]carbamato de *terc.*-butilo (compuesto de partida 8).

HPLC (Método 6): R_t = 1,60 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,70 min; MS (ESIpos): m/z = 295 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 32

N-[(benciloxi)carbonil]-*N*-metil-L-treonil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida



Primero se liberó *N*-[(benciloxi)carbonil]-*N*-metil-L-treonina a partir de 237 mg (0,887 mmol) de su sal de diciclohexilamina mediante recogida en acetato de etilo y separación con agitación con ácido sulfúrico acuoso al 5%. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se recogió en 16 ml de DMF y se mezcló sucesivamemnte con 365 mg (1 mmol) de (3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoato de *terc.*-butilo (compuesto intermedio 2), 185 mg (0,967 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, así como 148 mg (0,967 mmol) de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol-hidrato. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a TA. La tanda se vierte luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. El residuo se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron así 283 mg (53% d. T.) del compuesto intermedio éster *terc.*-butílico de *N*-[(benciloxi)carbonil]-*N*-metil-L-treonil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-*terc.*-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 5): R_t = 2,17 min.

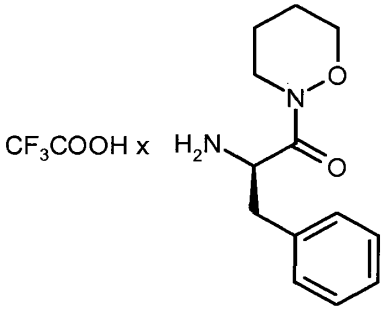
283 mg (0,466 mmol) de este compuesto intermedio se recogieron en 5 ml de diclorometano, se mezclaron con 5 ml de ácido trifluoroacético anhidro y se agitaron durante 2 h a TA. A continuación, la tanda se concentró en alto vacío y el residuo remanente se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron 156 mg (61% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 5): R_t = 1,50 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,09 min; MS (ESIpos): m/z = 552 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 33

(2R)-2-amino-1-(1,2-oxazinan-2-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



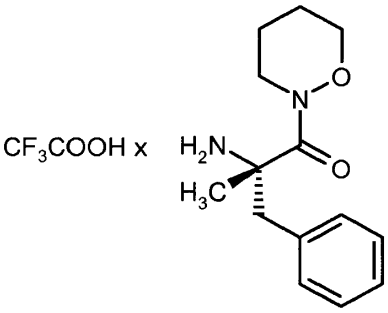
El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del compuesto intermedio 6, partiendo de *N*-(*terc.*-butoxicarbonil)-D-fenilalanina.

HPLC (Método 6): R_t = 1,40 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,50 min; MS (ESIpos): m/z = 235 $(M+H)^+$.

Compuesto intermedio 34

(2S)-2-amino-2-metil-1-(1,2-oxazinan-2-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del compuesto intermedio 6, partiendo de *N*-(*terc.*-butoxicarbonil)-α-metil-L-fenilalanina, adquirible en el comercio.

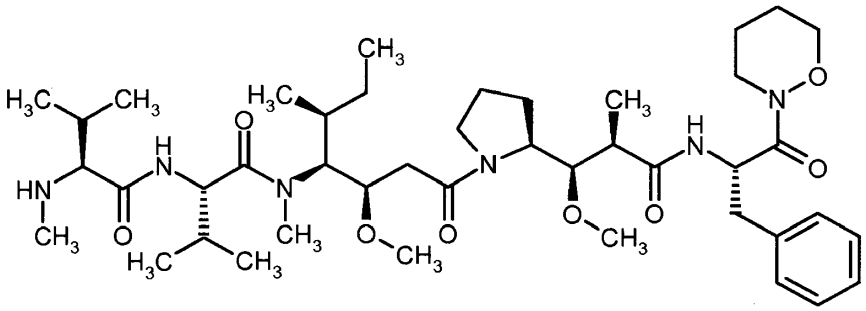
HPLC (Método 5): R_t = 0,45 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 0,61 min; MS (ESIpos): m/z = 249 $(M+H)^+$.

Ejemplos de realización:

Ejemplo 1

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

143 mg (0,223 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-N-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se recogieron en 15 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 141 mg (0,22 mmol) de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 7), 102 mg (0,27 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametiluronio (HATU), así como 128 µl (0,74 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletil-amina. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h a TA. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. Se obtuvieron así 275 mg (cuant.) del compuesto intermedio Fmoc-protegido *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 5): R_t = 2,73 min;

LC-MS (Método 4): R_t = 3,19 min; MS (ESIpos): m/z = 1023 $(M+H)^+$.

46 mg (0,045 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 4 ml de DMF. Después de la adición de 1 ml de piperidina, la tanda se agitó durante 1 h a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,01% / agua + TFA al 0,01%). Se obtuvieron 22 mg (54% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

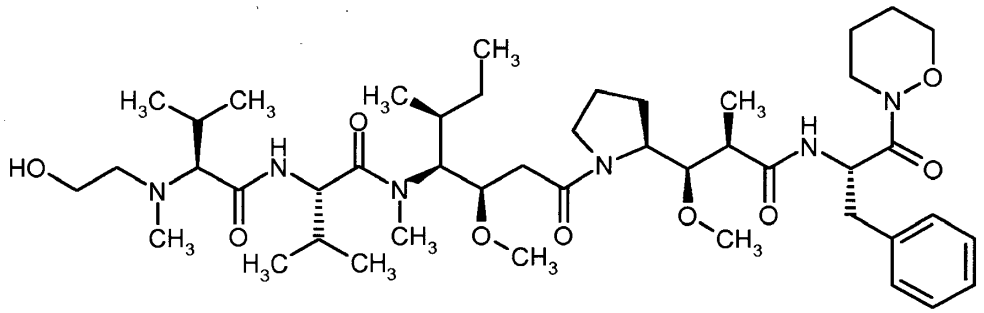
HPLC (Método 5): R_t = 1,68 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,03 min; MS (ESIpos): m/z = 801 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,8 (m, 2H), 8,7 (m, 1H), 8,42 y 8,15 (2d, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 5,12 y 4,95 (2m, 1H), 4,70 y 4,62 (2m, 1H), 4,62 y 4,50 (2t, 1H), 4,1-3,9 (m, 3H), 3,85 (m, 1H), 3,75-3,6 (m, 2H), 3,23, 3,18, 3,17, 3,14, 3,02 y 2,96 (6s, 9H), 3,1-2,9 y 2,75 (2m, 2H), 2,46 (m, 3H), 2,4-2,1 (m, 2H), 2,05 (m br, 2H), 1,85-1,55 (m br, 6H), 1,5-1,2 (m br, 3H), 1,1-0,8 (m, 18H), 0,75 (t, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 2

N-(2-hidroxietil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



50 mg (0,0411 mmol) de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 1) se disolvieron en 3 ml de dioxano/agua (1:1) y se mezclaron con 4,9 mg (0,081 mmol) de glicolaldehído dímero. A continuación, se añadieron 2,8 mg (0,045 mmol) de cianoborohidruro de sodio. La mezcla se ajustó luego a pH 4-5 con 50 µl de ácido clorhídrico 0,1 N y se agitó durante 1 h a 100°C. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de hidrógeno-carbonato de sodio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó con disolución saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron 21 mg (61% d. T) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

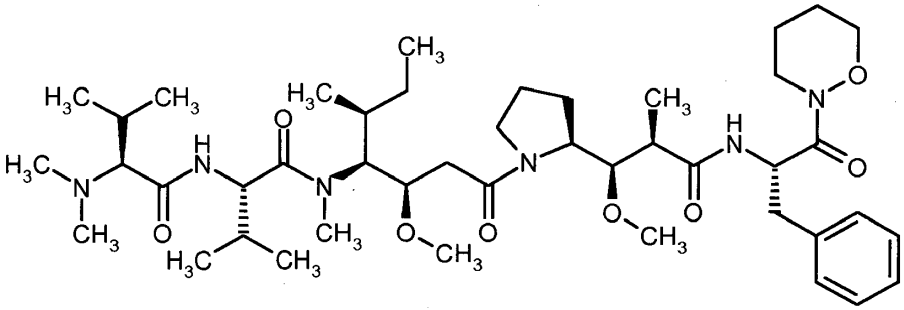
HPLC (Método 5): R_t = 1,69 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,92 min; MS (ESIpos): m/z = 845 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 9,2 (m, 1H), 8,9 (m, 1H), 8,4 y 8,15 (2d, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 5,12 y 4,95 (2m, 1H), 4,70 y 4,62 (2m, 1H), 4,62 y 4,55 (2t, 1H), 4,1-3,9 (m, 3H), 3,9-3,7 (m, 5H), 3,23, 3,18, 3,17, 3,15, 3,02 y 2,98 (6s, 9H), 2,95 y 2,75 (2m, 2H), 2,8 (m, 3H), 2,46-2,00 (m, 4H), 1,85 -1.55 (m br, 6H), 1,5-1,2 (m br, 3H), 1,1-0,8 (m , 18H), 0,75 (t, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 3

N,*N*-dimetil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



20 mg (0,022 mmol) de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 1) se disolvieron en 1 ml de DMF, se mezclaron con 3,4 mg (1 µl) de yodometano, así como 7,6 mg (0,055 mmol) de carbonato de potasio y se agitaron durante 1 h a TA. A continuación, se añadió de nuevo la misma cantidad de carbonato de potasio y la tanda se trató durante 10 min en el baño de ultrasonidos. El disolvente se separó luego por destilación y el residuo remanente se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron 8 mg (44% d. T.) del compuesto del título.

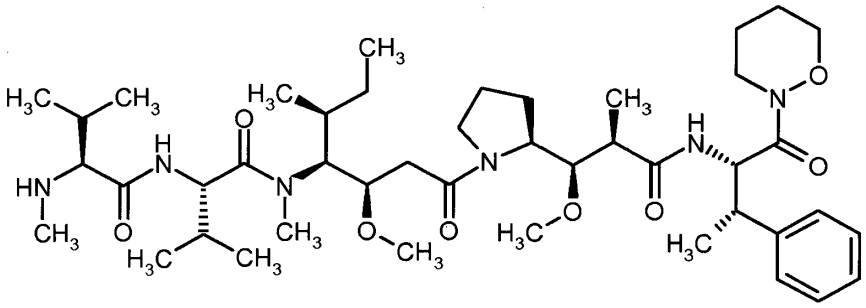
HPLC (Método 5): R_t = 1,71 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,04 min; MS (ESIpos): m/z = 815 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 9,55 (m, 1H), 8,9 -8,7 (m, 1H), 8,45 y 8,15 (2d, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 5,12 y 4,95 (2m, 1H), 4,70 y 4,62 (2m, 1H), 4,62 y 4,55 (2t, 1H), 4,1-3,9 (m, 3H), 3,9-3,6 (m, 3H), 3,55 (m, 2H), 3,23, 3,18, 3,17, 3,15, 3,02 y 2,98 (6s, 9H), 2,95 y 2,7 (2m, 2H), 2,8 -2,7 (2s br, 6H), 2,46-2,00 (m, 4H), 1,85-1,55 (m br, 6H), 1,5-1,2 (m br, 3H), 1,1-0,8 (m, 18H), 0,75 (t, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 4

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilbutan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

126 mg (0,198 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metioxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se recogieron en 10 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 105 mg (0,198 mmol) de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilbutan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 17), 41,6 mg (0,217 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil-carbodiimida, 33 mg (0,217 mmol) de 1-hidroxi-1H-benzotriazol-hidrato, así como 79 µl (0,454 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla de reacción durante una noche a TA. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se obtuvieron así 220 mg (cuant.) del compuesto intermedio Fmoc-protegido *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilbutan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 5): R_t = 2,77 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,5 min; MS (ESIpos): m/z = 1037 $(M+H)^+$.

220 mg (0,212 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 5 ml de DMF. Después de la adición de 1 ml de piperidina, la tanda se agitó durante 1 h a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,01% / agua + TFA al 0,01%). Se obtuvieron 91 mg (46% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

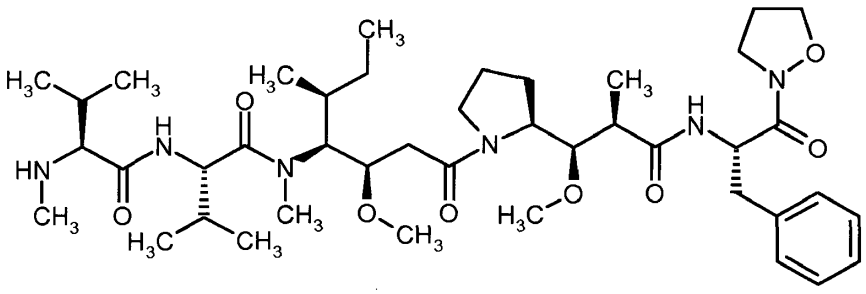
HPLC (Método 5): R_t = 1,71 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,9 min; MS (ESIpos): m/z = 815 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,87 y 8,80 (2d, 2H), 8,75 (m, 1H), 8,40 y 7,98 (2d, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 5,45 y 5,2 (2t, 1H), 4,78 y 4,62 (2m, 1H), 4,73 y 4,58 (2t, 1H), 4,2-4,0 (m, 3H), 3,7-3,6 (m, 1H), 3,35, 3,20, 3,18, 3,14, 3,12 y 3,00 (6s, 9H), 3,1 y 2,95 (2m, 2H), 2,46 (m, 3H), 2,4-2,0 (m, 4H), 1,9 -1,6 (m, 4H), 1,6-1,2 (m, 5H), 1,1-0,75 (m, 21H), 0,80 (t, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 5

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazolidin-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

138 mg (0,216 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se recogieron en 14 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 109 mg (0,216 mmol) de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S)-1-(1,2-oxazolidin-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 15), 45,6 mg (0,238 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil-carbodiimida, 36,5 mg (0,38 mmol) de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol-hidrato, así como 49 µl (0,281 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla de reacción durante una noche a TA. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se obtuvieron así 170 mg (78% d. T.) del compuesto intermedio Fmoc-protegido *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazolidin-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 5): R_t = 2,64 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,44 min; MS (ESIpos): m/z = 1009 $(M+H)^+$.

170 mg (0,168 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 5 ml de DMF. Después de la adición de 1 ml de piperidina, la tanda se agitó durante 1 h a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,01% / agua + TFA al 0,01%). Se obtuvieron 37 mg (24% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

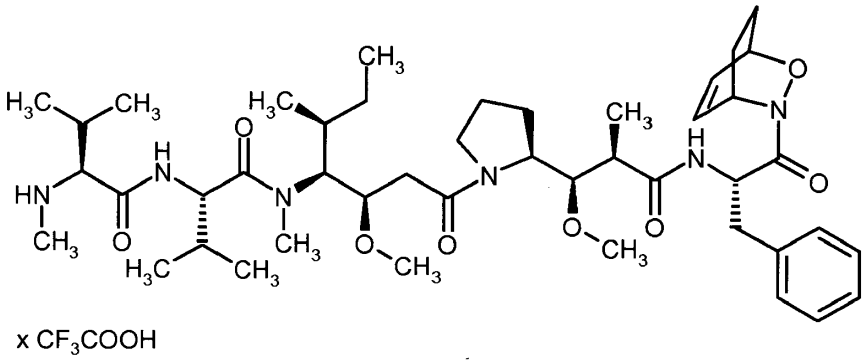
HPLC (Método 5): R_t = 1,57 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,84 min; MS (ESIpos): m/z = 787 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,9-8,7 (m, 3H), 8,5 y 8,2 (2m, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 5,6 y 5,4 (2m, 1H), 4,7 y 4,6 (2m, 1H), 4,65 y 4,55 (2t, 1H), 4,0-3,9 (m, 3H), 3,75-3,6 (m, 2H), 3,23, 3,20, 3,15, 3,05 y 2,98 (5s, 9H), 3,0 y 2,7 (2m, 2H), 2,46 (m, 3H), 2,35-2,15 (m, 4H), 2,1-2,0 (m, 2H), 1,85-1,6 (m, 3H), 1,45 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,1-0,85 (m , 18H), 0,75 (t, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 6

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

44,5 mg (0,071 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se recogieron en 10 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 38,6 mg (0,071 mmol) de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S)-1-(2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 9), 32,5 mg (0,086 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametiluronio (HATU), así como 41 µl (0,235 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a TA. La tanda se concentró luego en vacío y el residuo se recogió en acetato de etilo. La fase orgánica se lavó sucesivamente con disolución de ácido cítrico al 5% y disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio al 5%, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se obtuvieron así 73 mg (98% d. T.) del compuesto intermedio Fmoc-protegido *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(2-oxa-3-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 6): R_t = 2,78 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 2,96 min; MS (ESIpos): m/z = 1047 $(M+H)^+$.

73 mg (0,071 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 5 ml de DMF. Después de la adición de 0,5 ml de piperidina, la tanda se agitó durante 10 h a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo se digerió varias veces con dietiléter. Después de la separación por decantación del éter, el residuo se purificó por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo/TFA ac. al 0,1%). Se obtuvieron 16 mg (26% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

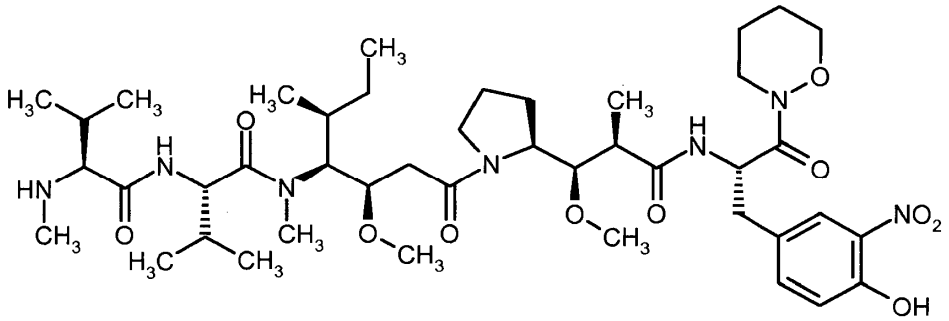
HPLC (Método 6): R_t = 1,94 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,71 min; MS (ESIpos): m/z = 825 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,9 -8,6 (m, 3H), 8,4, 8,3, 8,1 y 8,0 (4d, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 6,7 y 6,5 (m, 2H), 5,2-4,8 (m, 3H), 4,75-4,55 (m, 3H), 4,05-3,95 (m, 1H), 3,7-3,4 (m, 4H), 3,22, 3,17, 3,15, 3,05, 3,02 y 2,95 (6s, 9H), 3,0 y 2,7 (2m br), 2,46 (m, 3H), 2,4 -1,2 (m br, 13H), 1,1-0,85 (m, 18H), 0,75 (m, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 7

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hidroxi-3-nitrofenil)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

160 mg (0,251 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se recogieron en 13 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 145 mg (0,251 mmol) de (2R,3R)-*N*-[(2S)-3-(4-hidroxi-3-nitrofenil)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 19), 53 mg (0,276 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil-carbodiimida, 42,2 mg (0,276 mmol) de 1-hidroxi-1H-benzotriazol-hidrato, así como 65 µl (0,376 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla de reacción durante una noche a TA. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se obtuvieron 260 mg (96% d. T.) del compuesto intermedio Fmoc-protegido *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hidroxi-3-nitrofenil)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida que se hizo reaccionar sin purificación adicional en la siguiente etapa.

260 mg (0,24 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 3 ml de DMF. Después de la adición de 0,6 ml de piperidina, la tanda se agitó durante 1 h a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,01% / agua + TFA al 0,01%). Se obtuvieron 105 mg (45% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma ligeramente amarillenta.

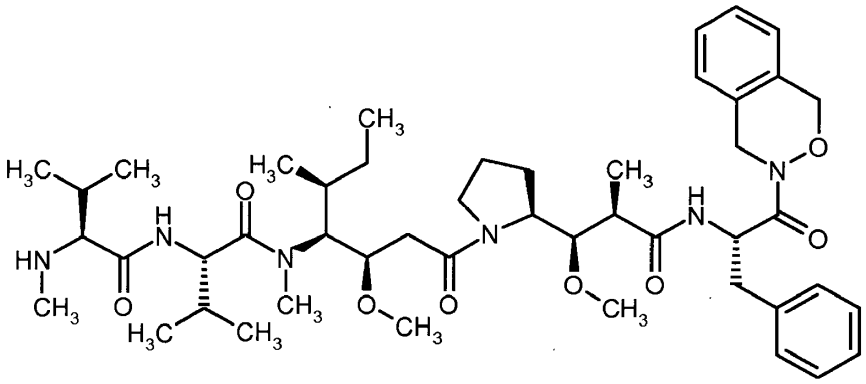
HPLC (Método 5): R_t = 1,62 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,87 min; MS (ESIpos): m/z = 862 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 10,85 y 10,72 (2s, 1H), 8,9-8,6 (m, 3H), 8,45 y 8,2 (2d, 1H), 7,70 y 7,72 (2s, 1H), 7,40 y 7,32 (2d, 1H), 7,01 y 7,00 (2d, 1H), 5,0-4,85 (m, 1H), 4,7-4,5 (m, 2H), 4,15-4,0 (m, 2H), 3,95-3,75 (m, 2H), 3,7-3,6 (m, 2H), 3,28, 3,21, 3,16, 3,15, 3,02 y 2,96 (6s, 9H), 2,9 y 2,75 (2m, 2H), 2,46 (m, 3H), 2,4-2,3 (m, 1H), 2,3-2,2 (m, 1H), 2,1-1,95 (m br, 2H), 1,85-1,7 (m, 4H), 1,7-1,55 (m, 2H), 1,55-1,35 (m, 2H), 1,35 (m, 1H), 1,1-0,8 (m, 18H), 0,75 (t, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 8

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(1,4-dihidro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

15,8 mg (0,025 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se recogieron en 5 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 14 mg (0,025 mmol) de (2R,3R)-*N*-[(2S)-1-(1,4-dihidro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 11), 11,3 mg (0,03 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametiluronio (HATU), así como 14 µl (0,082 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla se agitó durante 10 min a TA. La tanda se concentró luego en vacío y el residuo se purificó directamente por HPLC preparativa. Se obtuvieron, así, 13 mg (49% d. T.) del compuesto intermedio Fmoc-protegido *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(1,4-dihidro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 6): R_t = 2,93 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 3,10 min; MS (ESIpos): m/z = 1071 $(M+H)^+$.

13 mg (0,012 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 2 ml de DMF. Después de la adición de 0,5 ml de piperidina, la tanda se agitó durante 10 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo/TFA ac. al 0,1%). Se obtuvieron 10 mg (97% d. T) del compuesto del título.

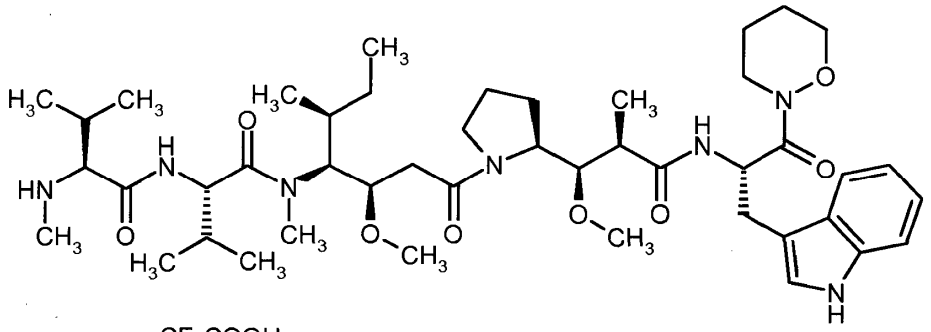
HPLC (Método 6): R_t = 2,10 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,97 min; MS (ESIpos): m/z = 849 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,90-8,62 (m, 3H), 8,60 y 8,33 (2d, 1H), 7,35-7,1 (m, 9H), 5,4-5,0 (m, 4H), 4,7-4,5 (m, 3H), 3,95 (m, 1H), 3,7-3,4 (m, 3H), 3,24, 3,20, 3,18, 3,16, 3,10 y 3,08 (6s, 9H), 3,0 y 2,85 (2m br, 2H), 2,46 (m, 3H), 2,3 (m br, 2H), 2,05 (m br, 2H), 1,9-1,6 (m, 3H), 1,5-1,2 (m br, 2H), 1,1-0,85 (m, 18H), 0,75 (m, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 9

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

40 mg (0,076 mmol) de *N*-(terc.-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 20) se recogieron en 5 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 43 mg (0,078 mmol) de (2R,3R)-*N*-[(2S)-3-(2S)-indol-3-il)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 13), 35 mg (0,093 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametiluronio (HATU), así como 45 µl (0,256 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla se agitó durante 2 h a TA. La tanda se concentró luego en vacío y el residuo se purificó directamente por HPLC preparativa. Se obtuvieron, así, 10 mg (14% d. T.) del compuesto intermedio Boc-protegido N-(*terc.*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 6): R_t = 2,52 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,35 min; MS (ESIpos): m/z = 940 $(M+H)^+$.

5 mg (0,005 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 3 ml de diclorometano. Después de la adición de 0,5 ml de ácido trifluoroacético, la tanda se trató durante 30 min en el baño de ultrasonidos y, a continuación, se agitó durante otros 30 min a TA. Después se concentró en vacío, el residuo se mezcló con acetonitrilo y se concentró de nuevo. Después de la liofilización en dioxano/agua se obtuvieron 5 mg (99% d. T.) del compuesto del título.

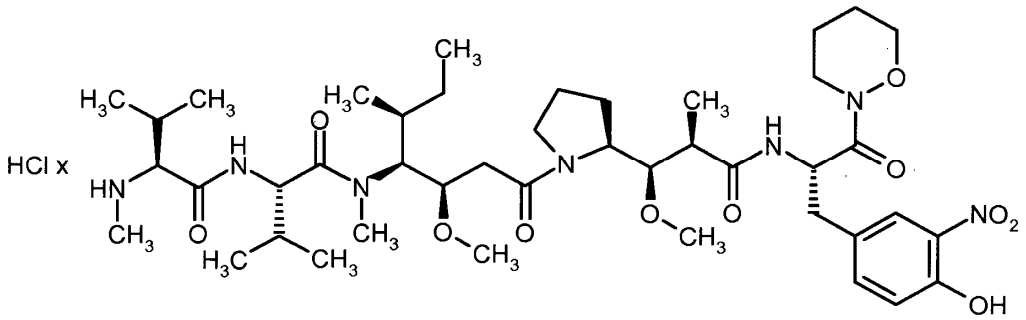
HPLC (Método 6): R_t = 1,94 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 0,99 min; MS (ESIpos): m/z = 840 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 10,8 y 8,8 (2m, 3H), 8,35 y 8,05 (2d, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,3 (d, 1H), 7,20-6,91 (m, 3H), 5,12 y 4,95 (2m, 1H), 4,7-4,5 (m, 2H), 4,1-3,9 (m, 2H), 3,85 (m, 2H), 3,75-3,4 (m, 5H), 3,21, 3,15, 3,14, 3,10, 2,95 y 2,85 (6s, 9H), 2,46 (m, 3H), 2,4-2,2 (m, 2H), 2,1-1,9 (m, 2H), 1,85-1,65 (m, 4H), 1,65-1,2 (m, 3H), 1,05 y 1,0 (2d, 3H), 0,95-0,8 (m, 15H), 0,75 (m, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 10

Hidrocloruro de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hidroxi-3-nitrofenil)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



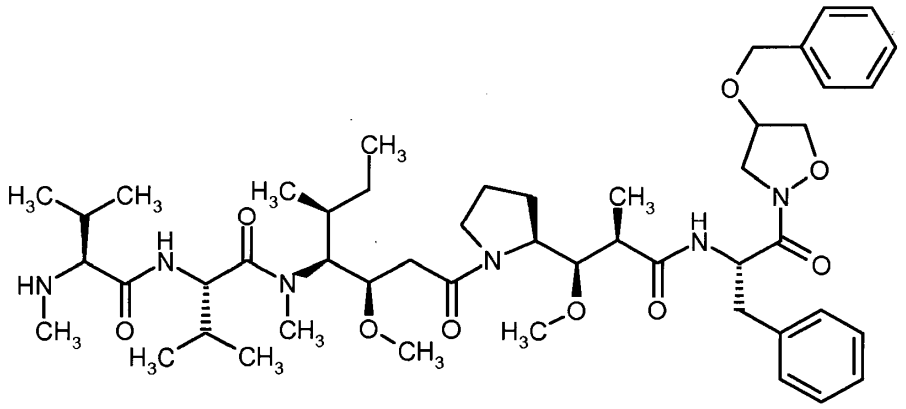
25 mg (0,026 mmol) de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hidroxi-3-nitrofenil)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxopropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 7) se disolvieron en 2 ml de ácido clorhídrico 1 N y, a continuación, se liofilizaron. Se obtuvieron, así, 16,4 mg (71% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma ligeramente amarillenta.

HPLC (Método 5): R_t = 1,63 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,87 min; MS (ESIpos): m/z = 862 $(M+H)^+$;

Ejemplo 11

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-({(2S)-1-[4-(benciloxi)-1,2-oxazolidin-2-il]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il}amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (diastereómero 1)



x CF_3COOH

El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 8 mediante acoplamiento del compuesto de partida 1 con el compuesto intermedio 28, subsiguiente desprotección con ácido trifluoroacético, después acoplamiento con el compuesto intermedio 4 y finalmente desprotección con piperidina. La purificación del producto final tuvo lugar por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo/TFA ac. al 0,1%). Se obtuvieron 16,4 mg del compuesto del título.

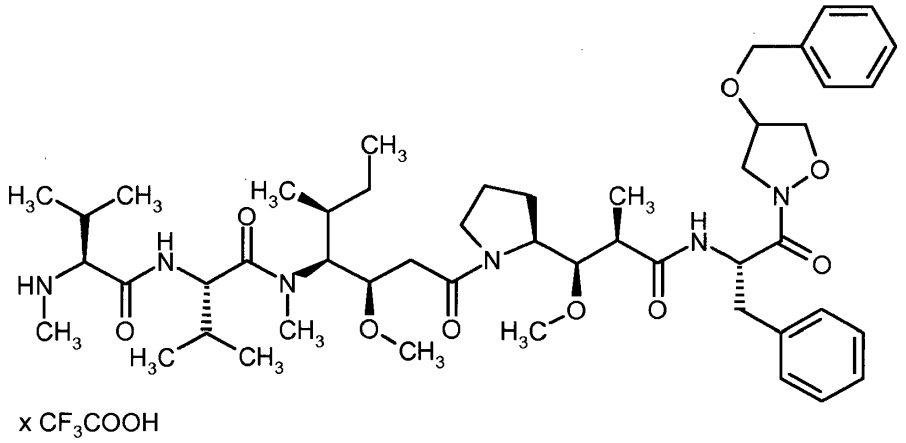
HPLC (Método 5): R_t = 2,08 min;

LC-MS (Método 3): R_t = 1,90 min; MS (ESIpos): m/z = 893 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,8-8,6 (m, 3H), 8,45 y 8,4 (2d, 1H), 7,35-7,1 (m, 10H), 5,2 y 5,0 (2m, 1H), 4,7-4,5 (m, 5H), 4,15 (d, 1H), 4,0-3,6 (m, 5H), 3,6-3,4 (m, 2H), 3,75-3,4 (m, 5H), 3,22, 3,16, 3,15, 3,05 y 2,96 (5s, 9H), 3,1-2,9 y 2,8-2,6 (2m, 2H), 2,45 y 2,44 (2s, 3H), 2,4-2,2 (m, 2H), 2,1-2,0 (m, 2H), 1,85-1,6 (m, 2H), 1,5-1,2 (m, 3H), 1,1-0,8 (m, 18H), 0,75 (m, 3H).

Ejemplo 12

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-({(2S)-1-[4-(benciloxi)-1,2-oxazolidin-2-il]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il}amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (diastereómero 2)



x CF_3COOH

El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 8 mediante acoplamiento del compuesto de partida 1 con el compuesto intermedio 29, subsiguiente desprotección con ácido trifluoroacético, después acoplamiento con el compuesto intermedio 4 y finalmente desprotección con piperidina. La purificación del producto final tuvo lugar por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo/TFA ac. al 0,1%). Se obtuvieron 28 mg del compuesto del título.

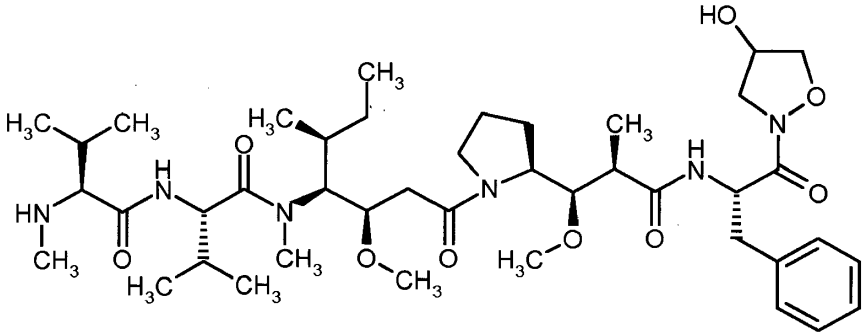
HPLC (Método 5): R_t = 2,11 min;

LC-MS (Método 7): R_t = 1,96 min; MS (ESIpos): m/z = 893 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,9-8,6 (m, 3H), 8,45 y 8,3 (2d, 1H), 7,4-7,1 (m, 10H), 5,2 y 4,95 (2m, 1H), 4,7-4,5 (m, 5H), 4,25 (d, 1H), 4,0-3,8 (m, 3H), 3,7-3,6 (m, 2H), 3,6-3,4 (m, 2H), 3,23, 3,19, 3,18, 3,15, 3,05 y 2,96 (6s, 9H), 3,1-3,0 y 2,8-2,65 (2m, 2H), 2,5-2,4 (m, 3H), 2,35-2,15 (m, 2H), 2,1-1,95 (m, 2H), 1,8-1,6 (m, 2H), 1,5-1,2 (m, 3H), 1,1-0,8 (m, 18H), 0,75 (m, 3H).

Ejemplo 13

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(4-hidroxi-1,2-oxazolidin-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (diastereómero 2)



27 mg (0,03 mmol) del compuesto del Ejemplo 12 se recogieron en una mezcla a base de 42 ml de THF y 22 ml de agua, se mezclaron con 1,35 ml de ácido clorhídrico 2 M y se hidrogenaron durante 20 min a TA y presión normal sobre paladio al 10%/carbono. El catalizador se separó a continuación por filtración y la mezcla de reacción se neutralizó con disolución acuosa de hidrógeno-carbonato de sodio. Después se extrajo con acetato de etilo. Después de la separación de las fases, la fase en acetato de etilo se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea en gel de sílice con diclorometano/metanol/amoniaco ac. al 17% (125:3:0,3) como eluyente. Las fracciones correspondientes se concentraron y el residuo se liofilizó en dioxano. Se obtuvieron 25 mg del compuesto del título.

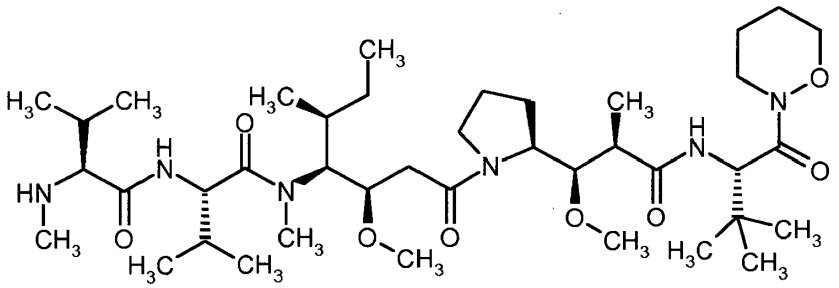
HPLC (Método 6): R_t = 1,74 min;

LC-MS (Método 8): R_t = 2,06 min; MS (ESIpos): m/z = 803 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,45 y 8,2 (2d, 1H), 8,1 (m, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 5,5 (m, 1H), 5,15 y 4,95 (2m, 1H), 4,7-4,4 (m, 3H), 4,1-3,9 (m, 3H), 3,5-3,4 (m, 3H), 3,23, 3,19, 3,18, 3,16, 3,05 y 2,96 (6s, 9H), 3,1-3,0 y 2,8-2,65 (2m, 2H), 2,4-2,15 (m, 5H), 2,1-1,95 (m, 2H), 1,8-1,6 (m, 3H), 1,5-1,2 (m, 2H), 1,05-0,8 (m, 18H), 0,75 (m, 3H).

Ejemplo 14

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3,3-dimetil-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxobutan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

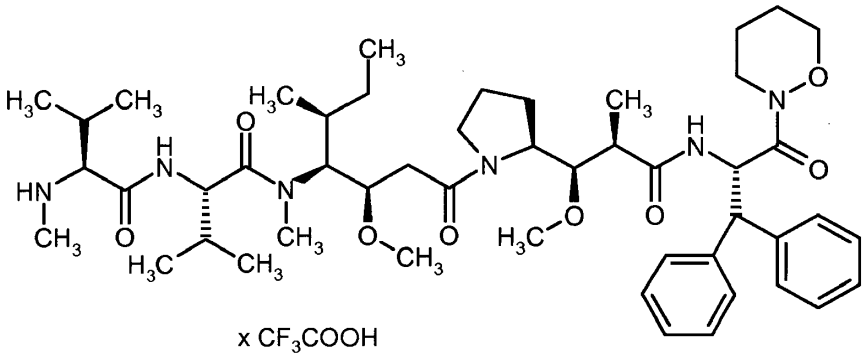
El compuesto del título se preparó a través de tres etapas, partiendo del compuesto intermedio 21, primero mediante desprotección con ácido trifluoroacético, subsiguiente acoplamiento con el compuesto intermedio 4 y finalmente desprotección con piperidina. La purificación del producto final tuvo lugar por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,01% / agua + TFA al 0,01%). Se obtuvieron 2,5 mg del compuesto del título.

HPLC (Método 5): R_t = 1,67 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,90 min; MS (ESIpos): m/z = 767 $(M+H)^+$.

Ejemplo 15

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3,3-difenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

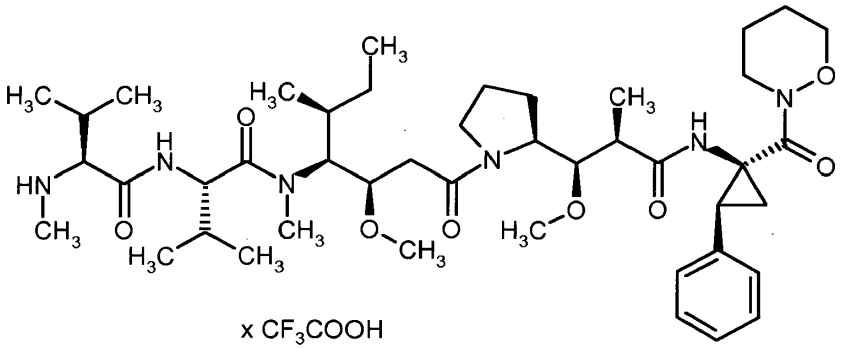
El compuesto del título se preparó a través de tres etapas, partiendo del compuesto intermedio 22, primero mediante desprotección con ácido trifluoroacético, subsiguiente acoplamiento con el compuesto intermedio 4 y finalmente desprotección con piperidina. La purificación del producto final tuvo lugar por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,01% / agua + TFA al 0,01%). Se obtuvieron 20 mg del compuesto del título.

HPLC (Método 5): R_t = 1,78 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,95 min; MS (ESIpos): m/z = 877 $(M+H)^+$.

Ejemplo 16

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2S)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

El compuesto del título se preparó a través de tres etapas, partiendo del compuesto intermedio 23, primero mediante desprotección con ácido trifluoroacético, subsiguiente acoplamiento con el compuesto intermedio 4 y finalmente desprotección con piperidina. La purificación del producto final tuvo lugar por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo/ TFA ac. al 0,1%). Se obtuvieron 9 mg del compuesto del título.

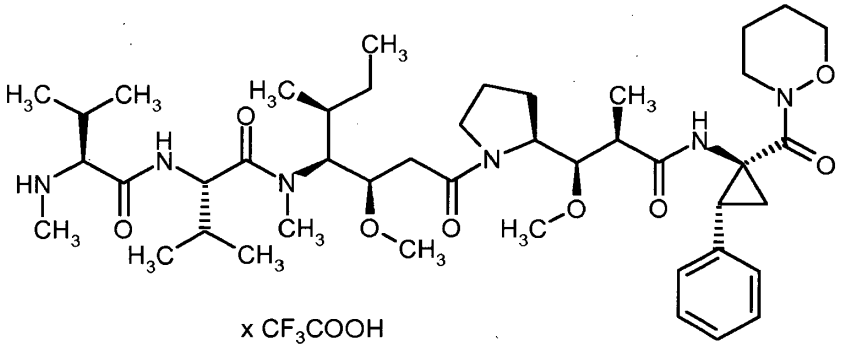
HPLC (Método 6): R_t = 1,95 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,90 min; MS (ESIpos): m/z = 813 $(M+H)^+$.

^{1}H-RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,85 (m, 2H), 8,7 (m, 1H), 8,2 y 7,8 (2s, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 4,75 y 4,65 (2m, 1H), 4,7 y 4,6 (2t, 1H), 4,0-3,9 (m, 2H), 3,85 (m, 1H), 3,75-3,6 (m, 4H), 3,55 (m, 1H), 3,22, 3,20, 3,18, 3,17, 3,03 y 2,98 (6s, 9H), 2,92 y 2,82 (2t, 1H), 2,5-2,45 (m, 3H), 2,4-1,3 (m, 15H), 1,0-0,7 (m, 18H), 0,65 y 0,6 (2d, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 17

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

617 mg (1,2 mmol) de (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc.*-butilo (compuesto intermedio 24) se recogieron en 44 ml de diclorometano, se mezclaron con 4,4 ml de ácido trifluoroacético y se agitaron durante 30 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se liofilizó en dioxano/agua. Se obtuvieron 702 mg (cuant.) del compuesto desprotegido (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético como producto bruto, el cual se empleó sin purificación ulterior en la siguiente etapa.

470 mg (0,74 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 4) se recogieron en 57 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 390 mg (aprox. 0,74 mmol) de la (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonill)-2-fenilciclopropil]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético arriba obtenida, 336 mg (0,88 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametiluronio (HATU), así como 423 µl (2,4 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla se agitó durante 2 h a TA. La tanda se virtió luego en una mezcla

a base de disolución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó sucesivamente con disolución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y concentró. El residuo se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron, así, 453 mg (59% d. T.) del compuesto intermedio Fmoc-protegido *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazolidin-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 5): R_t = 2,58 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 3,10 min; MS (ESIpos): m/z = 1035 $(M+H)^+$.

453 mg (0,438 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 24 ml de DMF. Después de la adición de 2,4 ml de piperidina, la tanda se agitó durante 30 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo/TFA ac. al 0,1%). Se obtuvieron 260 mg (64% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

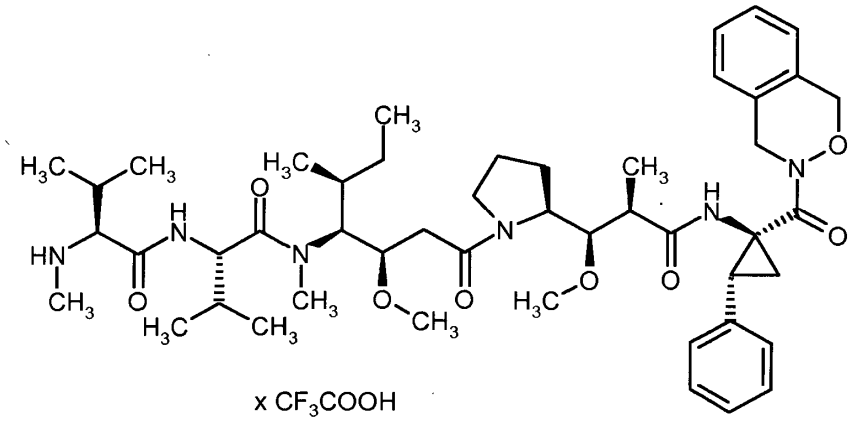
HPLC (Método 5): R_t = 1,64 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,86 min; MS (ESIpos): m/z = 813 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,8 (m, 2H), 8,65 (m, 2H), 7,3-7,1 (m, 5H), 4,8-4,05 (m, 2H), 4,0 y 3,82 (2m, 2H), 3,8-3,5 (m, 8H), 3,32, 3,29, 3,20, 3,19, 3,12 y 3,00 (6s, 9H), 2,65 (t, 1H), 2,5-2,45 (m, 3H), 2,4-1,3 (m, 15H), 1,15-0,85 (m, 18H), 0,8 y 0,75 (2d, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 18

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-(1,4-dihidro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



166 mg (0,196 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 30) se recogieron en 40 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 80 mg (0,196 mmol) de [(1S,2R)-1-amino-2-fenilciclopropil](1,4-dihidro-3H-2,3-benzoxazin-3-il)metanona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 31), 112 mg (0,294 mmol) de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametiluronio (HATU), así como 682 µl (3,9 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. A continuación, la mezcla se agitó durante una noche a TA. La tanda se concentró luego en vacío, el residuo se recogió en acetato de etilo y la disolución se lavó con disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó finalmente por HPLC preparativa. De este modo se obtuvieron 19 mg (9% d. T.) del compuesto intermedio Fmoc-protegido *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-(1,4-dihidro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]-amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida.

HPLC (Método 5): R_t = 1,68 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 1,51 min; MS (ESIpos): m/z = 1083 $(M+H)^+$.

19 mg (0,015 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 4 ml de DMF. Después de la adición de 817 µl de piperidina, la tanda se agitó durante 5 min a TA. A continuación, se concentró en vacío y el residuo se digerió primero con dietiléter y, a continuación, se purificó por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,1% /TFA ac. al 0,1%). Las fracciones correspondientes se reunieron, el disolvente se separó en vacío y el residuo se liofilizó

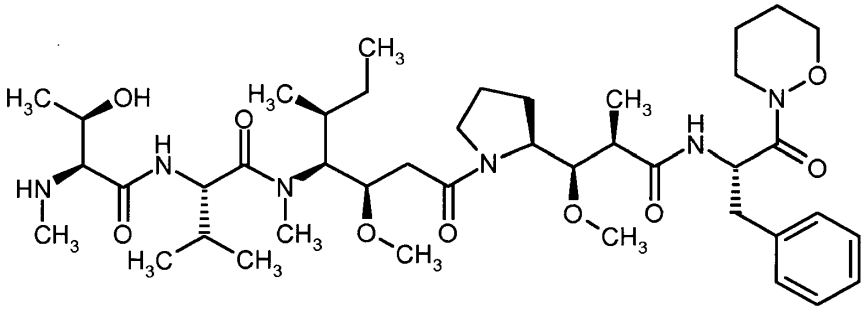
después en dioxano/agua. Se obtuvieron 12 mg (92% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 6): R_t = 2,0 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,94 min; MS (ESIpos): m/z = 861 $(M+H)^+$.

Ejemplo 19

N-metil-L-treonil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



100 mg (0,181 mmol) de *N*-[(benciloxi)carbonil]-*N*-metil-L-treonil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (compuesto intermedio 32) se recogieron en 5 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 94 mg (0,181 mmol) de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 7), 42 mg (0,218 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 33 mg (0,218 mmol) de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol-hidrato, así como 63 µl (0,36 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina. La mezcla se agitó a continuación durante 2 h a TA. El disolvente se separó luego en vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativa. Se obtuvieron, así,128 mg (75% d. T.) del compuesto intermedio Z-protegido *N*-[(benciloxi)carbonil]-*N*-metil-L-treonil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

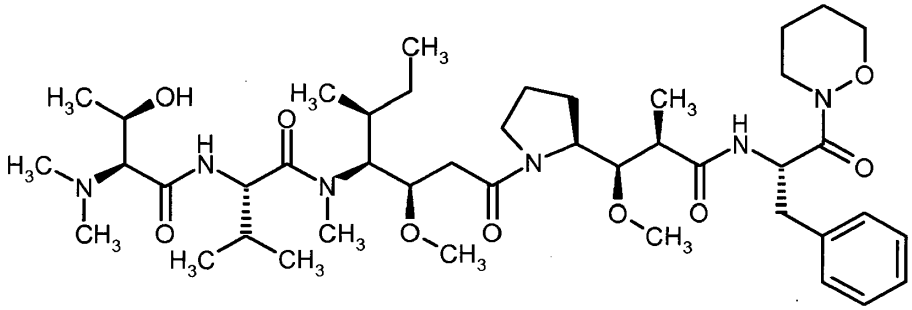
LC-MS (Método 2): R_t = 1,32 min; MS (ESIpos): m/z = 937 $(M+H)^+$.

100 mg (0,107 mmol) de este compuesto intermedio se disolvieron en 20 ml de metanol y se hidrogenaron a TA y presión normal durante 1 h sobre paladio al 10%/carbono. El catalizador se separó a continuación por filtración y el disolvente se separo por evaporación. El residuo remanente se liofilizó en dioxano/agua (1:1). Se obtuvieron 88 mg (97% d. T) del compuesto del título.

LC-MS (Método 1): R_t = 0,83 min; MS (ESIpos): m/z = 803 $(M+H)^+$.

Ejemplo 20

N,*N*-dimetil-L-treonil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



84 mg (0,105 mmol) de *N*-metil-L-treonil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3- {[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (Ejemplo 19) se recogieron en 5 ml de dioxano/agua (1:1) y se mezclaron con 31 µl (0,418 mmol) de una disolución acuosa al 37% de formaldehído, así como 8 mg (0,126 mmol) de cianoborohidruro de sodio. La mezcla se ajustó a continuación a pH 6-7 con 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y se agitó durante 1 h a 100°C. La tanda se virtió luego en una mezcla a base de disolución acuosa semisaturada de hidrógeno-carbonato de sodio y acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó con disolución saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato de magnesio,

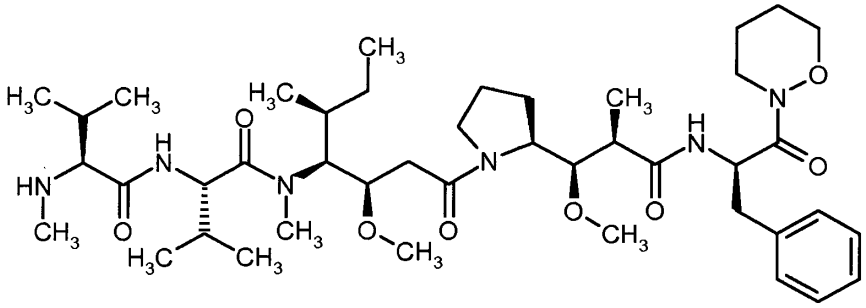
se filtró y se concentró. El residuo se liofilizó finalmente en acetonitrilo/agua. Se obtuvieron, así, 72 mg (84% d. T) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 5): R_t = 1,6 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 0,96 min; MS (ESIpos): m/z = 817 $(M+H)^+$.

Ejemplo 21

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2R)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



x CF_3COOH

El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 18 mediante acoplamiento del compuesto intermedio 30 con (2R)-2-amino-1-(1,2-oxazinan-2-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 33) y subsiguiente desprotección con piperidina. La purificación del producto final tuvo lugar por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,1% /TFA ac. al 0,1%).

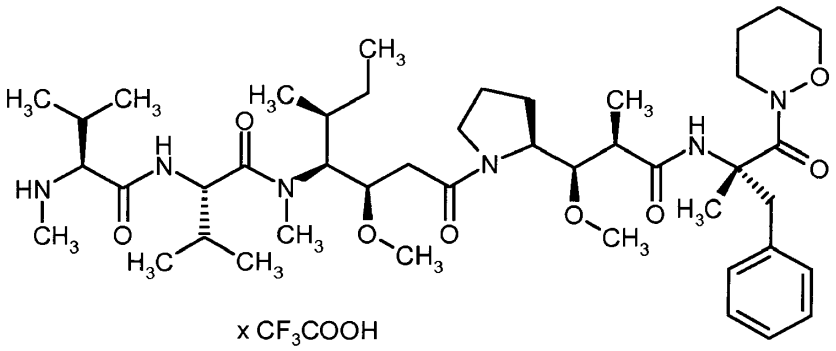
HPLC (Método 6): R_t = 1,9 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,91 min; MS (ESIpos): m/z = 801 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,8 (m, 2H), 8,65 (m, 1H), 8,32 y 8,1 (2d, 1H), 7,3-7,1 (m, 5H), 5,05 y 4,95 (2m, 1H), 4,65 (m, 1H), 4,62 y 4,56 (2t, 1H), 4,1-3,75 (m, 5H), 3,7-3,45 (m, 4H), 3,28, 3,22, 3,18, 3,17, 3,04 y 2,99 (6s, 9H), 2,9 y 2,75 (2m, 2H), 2,46 (m, 3H), 2,45-2,2 (m, 3H), 2,1-1,5 (m, 12H), 1,0-0,8 (m, 18H), 0,8 y 0,75 (2d, 3H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 22

N-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-2-metil-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético



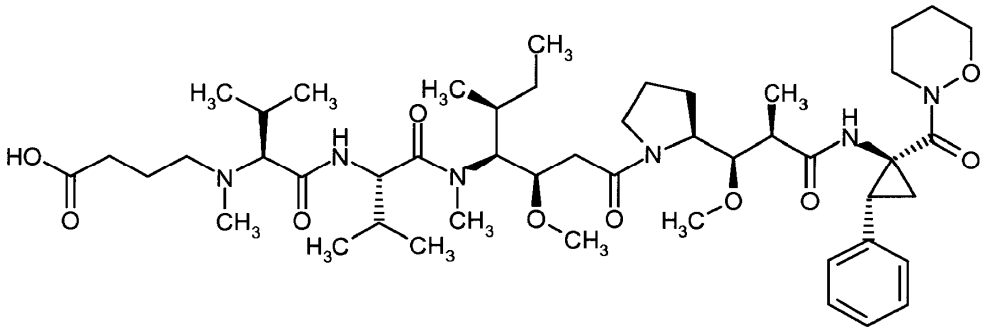
x CF_3COOH

El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 18 mediante acoplamiento del compuesto intermedio 30 con (2S)-2-amino-2-metil-1-(1,2-oxazinan-2-il)-3-fenilpropan-1-ona sal del ácido trifluoroacético (compuesto intermedio 34) y subsiguiente desprotección con piperidina. La purificación del producto final tuvo lugar por HPLC preparativa (eluyente: acetonitrilo + TFA al 0,1% /TFA ac. al 0,1%).

LC-MS (Método 1): R_t = 0,95 min; MS (ESIpos): m/z = 815 $(M+H)^+$.

Ejemplo 23

N-(3-carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



50 mg (0,054 mmol) de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4R,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 17) se disolvieron en 8 ml de dioxano/agua (1:1) y se mezclaron con 70 ml (0,108 mmol) de una disolución al 15% de ácido 4-oxobutanoico en agua. La tanda se agitó a continuación durante 1 h a 100°C. Después de enfriar a TA se añadieron 3,7 mg (0,059 mmol) de cianoborohidruro de sodio y la mezcla se ajustó a un valor del pH de 3 mediante la adición de aproximadamente 300 µl de ácido clorhídrico 0,1 N. La tanda se agitó después durante otras 2 h a 100°C. Después de enfriar, se añadieron de nuevo 70 ml (0,108 mmol) de la disolución al 15% de ácido 4-oxobutanoico y la tanda se agitó de nuevo durante 1 h a 100°C. Después se añadieron otros 3,7 mg (0,059 mmol) de cianoborohidruro de sodio y, a continuación, se ajustó de nuevo a un valor del pH de 3 con aproximadamente 300 µl de ácido clorhídrico 0,1 N. La tanda se agitó después de nuevo durante otras 2 h a 100°C. Este proceso se repitió todavía una tercera vez con aún una reacción no completa. La tanda se concentró finalmente y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa. De este modo se obtuvieron 32 mg (65% d. T) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

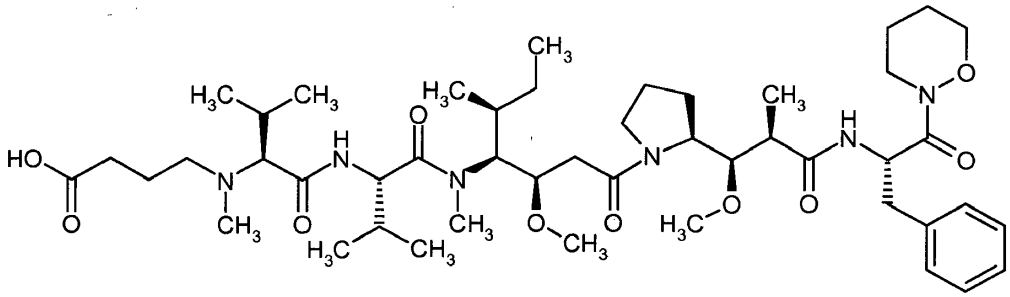
HPLC (Método 6): R_t = 1,64 min;

LC-MS (Método 9): R_t = 4,76 min; MS (ESIpos): m/z = 899 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,95 y 8,8 (2m, 1H), 8,88 y 8,65 (2s, 1H), 7,4-7,1 (m, 5H), 5,0, 4,78, 4,65 y 4,55 (4m, 2H), 4,1-3,7 (m, 5H), 3,32, 3,29, 3,20, 3,12, 3,1 y 3,0 (6s, 9H), 2,75 (m, 2H), 2,63 (t, 1H), 2,4-2,2 (m, 4H), 2,1-1,2 (m, 12H), 1,2-0,8 (m, 16H), 0,75 (m, 3H) [otras señales ocultas debajo de picos de H_2O y DMSO].

Ejemplo 24

N-(3-carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-(2S)-2-[1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 23 mediante reacción de 50 mg de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 1) con ácido 4-oxobutanoico.

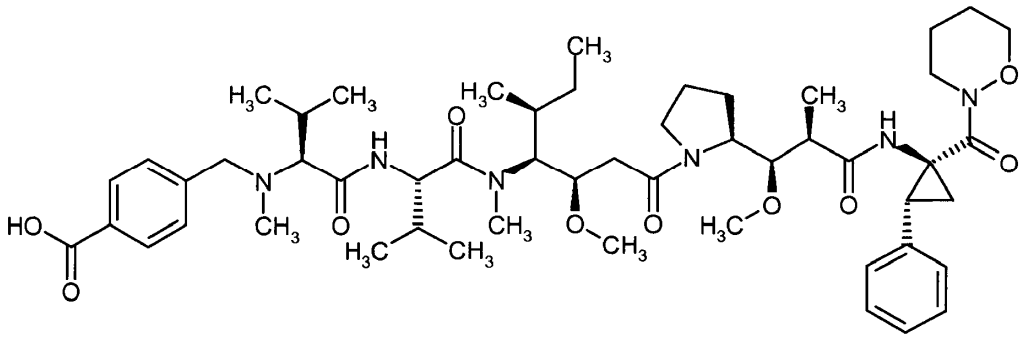
Rendimiento: 34 mg (70% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 1,64 min;

LC-MS (Método 9): R_t = 4,77 min; MS (ESIpos): m/z = 887 $(M+H)^+$.

Ejemplo 25

N-(4-carboxibencil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 23 mediante reacción de 15 mg de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 17) con ácido 4-formilbenzoico.

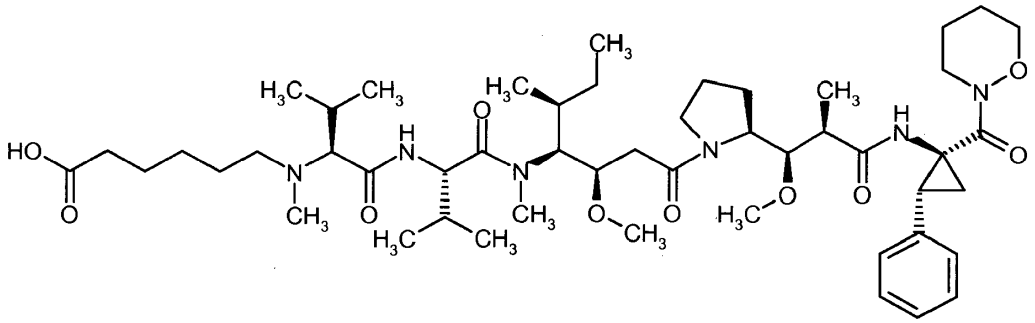
Rendimiento: 7,5 mg (48% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 1,75 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,97 min; MS (ESIpos): m/z = 947 $(M+H)^+$.

Ejemplo 26

N-(5-carboxipentil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



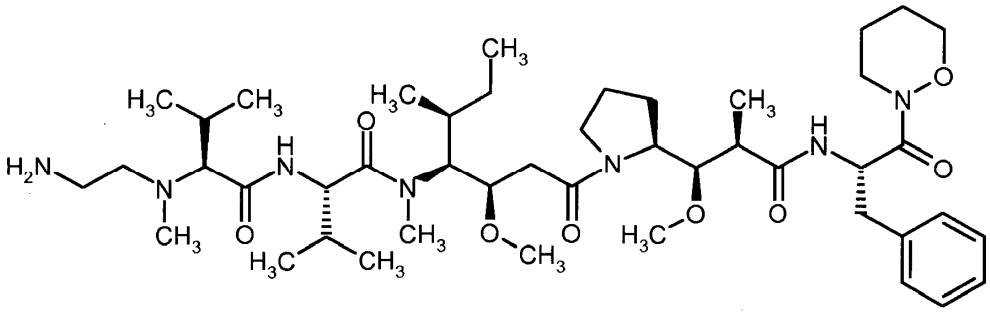
10 mg (0,011 mmol) de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2S)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxaziman-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoracético (Ejemplo 17) se disolvieron en 2 ml de dioxano/agua (1:1) y se mezclaron con 2,8 mg (0,022 mmol) de ácido 6-oxohexanoico. La tanda se agitó a continuación durante 1 h a 100°C. Después de enfriar a TA se añadieron 0,75 mg (0,012 mmol) de cianoborohidruro de sodio y la mezcla se ajustó a un valor del pH de 3 mediante la adición de ácido clorhídrico 0,1 N. La tanda se agitó después durante otra hora a 100°C. Después de enfriar, se añadieron de nuevo 2,8 mg (0,022 mmol) de ácido 6-oxohexanoico y la tanda se agitó de nuevo durante 1 h a 100°C. Se añadieron otros 0,75 mg (0,012 mmol) de cianoborohidruro de sodio y, a continuación, se ajustó de nuevo a un valor del pH de 3 con ácido clorhídrico 0,1 N. La tanda se agitó después de nuevo durante 1 h a 100°C. Este proceso se repitió después todavía una tercera vez. La tanda se concentró finalmente y el producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron, así, 6.4 mg (64% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (Método 5): R_t = 1,68 min;

LC-MS (Método 9): R_t = 4,86 min; MS (ESIpos): m/z = 927 $(M+H)^+$.

Ejemplo 27

N-(2-aminometil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido bis(trifluoroacético)



x 2 CF_3COOH

El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 2 mediante reacción de 68 mg de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxo-heptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 1) con (2-oxo-etil)carbamato de *terc*.-butilo y subsiguiente disociación del grupo protector de Boc con ácido trifluoroacético.

Rendimiento: 49 mg (62% d. T. a través de dos etapas)

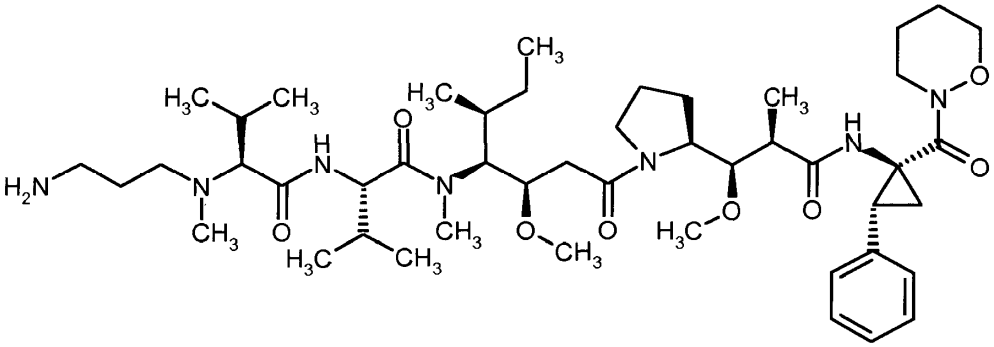
HPLC (Método 5): R_t = 1,58 min;

LC-MS (Método 2): R_t = 1,05 min; MS (ESIpos): m/z = 844 $(M+H)^+$

^{1}H-RMN (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,25 (m, 1H), 8,45 y 8,15 (2d, 1H), 7,65-7,55 (m, 3H), 7,23-7,1 (m, 5H), 5,12 y 4,95 (2m, 1H), 4,72 y 4,62 (2m, 1H), 4,6 y 4,52 (2t, 1H), 4,2-3,8 (m, 4H), 3,7 (d, 1H), 3,23, 3,20, 3,19, 3,18, 3,03 y 2,98 (6s, 9H), 3,0-2,7 (m, 6H), 2,4-1,2 (m, 15H), 1,05, 1,0, 0,88 y 0,82 (4d, 6H), 0,92 (m, 6H), 0,73 (m, 6H) [otras señales ocultas debajo del pico de H_2O].

Ejemplo 28

N-(3-aminopropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 27 mediante reacción de 25 mg (0,027 mmol) de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 17) con (3-oxopropil)carbamato de bencilo y subsiguiente disociación hidrogenolítica del grupo protector Z (con paladio al 10% sobre carbono como catalizador, en etanol como disolvente).

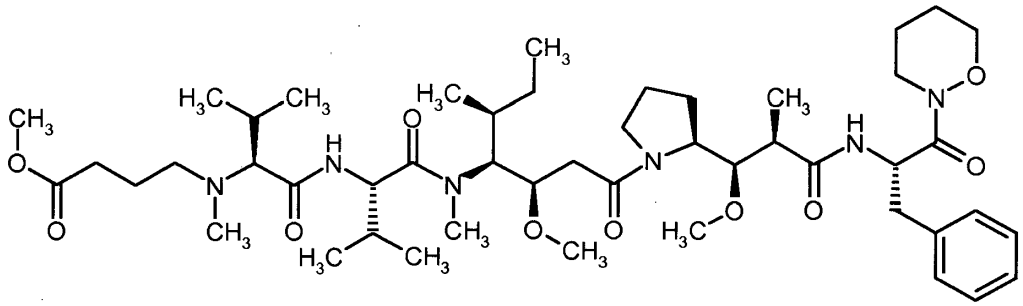
Rendimiento: 11 mg (41% d. T. a través de dos etapas)

HPLC (Método 5): R_t = 1,53 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,72 min; MS (ESIpos): m/z = 870 $(M+H)^+$.

Ejemplo 29

N-(4-metoxi-4-oxobutil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 23 mediante reacción de 9,5 mg de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 1) con 4-oxobutanoato de metilo.

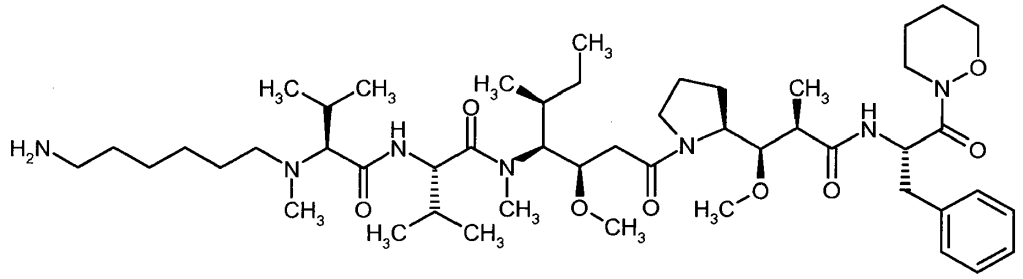
Rendimiento: 4 mg (43% d. T.)

HPLC (Método 5): R_t = 1,73 min;

LC-MS (Método 9): R_t = 4,91 min; MS (ESIpos): m/z = 901 $(M+H)^+$.

Ejemplo 30

N-(6-aminohexil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 28 mediante reacción de 20 mg (16 µmol) de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(2S)-1-(1,2-oxazinan-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 1) con (6-oxohexil)carbamato de bencilo y subsiguiente disociación hidrogenolítica del grupo protector Z (con paladio al 10% sobre carbono como catalizador, en etanol como disolvente).

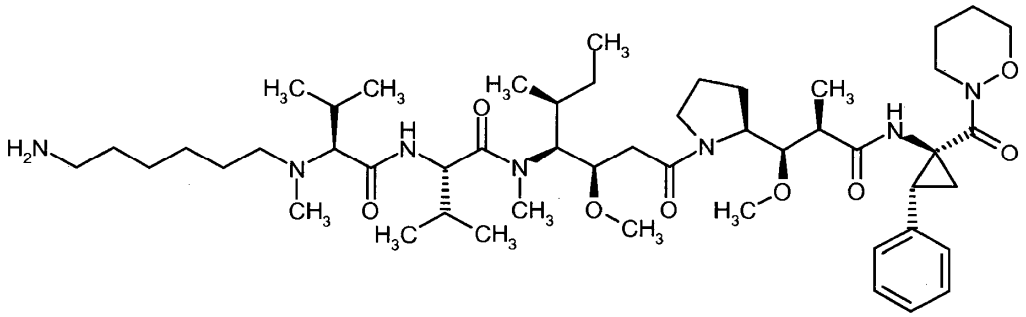
Rendimiento: 7,6 mg (55% d. T. a través de dos etapas)

HPLC (Método 6): R_t = 1,8 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,70 min; MS (ESIpos): m/z = 901 $(M+H)^+$.

Ejemplo 31

N-(6-aminohexil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



El compuesto del título se preparó en analogía a la síntesis del Ejemplo 28 mediante reacción de 200 mg (0,108 mmol) de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ilcarbonil)-2-fenilciclopropil]amino}-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida sal del ácido trifluoroacético (Ejemplo 17) con (6-oxohexil)carbamato de bencilo y subsiguiente disociación hidrogenolítica del grupo protector Z (con paladio al 5% sobre carbono como catalizador, en metanol como disolvente).

Rendimiento: 69 mg (65% d. T. a través de dos etapas)

HPLC (Método 5): R_t = 1,7 min;

LC-MS (Método 1): R_t = 0,76 min; MS (ESIpos): m/z = 912 $(M+H)^+$.

B. Evaluación de la actividad biológica

La actividad biológica de los compuestos de acuerdo con la invención se puede detectar mediante ensayos in vitro e in vivo tal como son conocidos por el experto en la materia. Por ejemplo, las propiedades farmacológicas y farmacocinéticas de los compuestos de acuerdo con la invención se pueden determinar con ayuda de los ensayos descritos a continuación:

B-1. Determinación de la actividad antiproliferativa en la línea de células 786-O RCC:

Un número de células definido de la línea de células cancerígena renal humana 786-O se sembró en medio entero en una placa de microtitulación de 96 pocillos (2.500 o 7.000 células/pocillo) y se incubó durante una noche a 37°C / 5% de CO_2. Después de 18 h, el medio de siembra fue reemplazado por medio exento de suero o medio con FCS al 2%. El tratamiento se inició con la adición de la respectiva sustancia de ensayo en concentración variable (10^{-5} M a 10^{-14} M). Se eligieron tiempos de incubación de 48 h a 96 h. La proliferación se determinó con ayuda del ensayo MTT (ATCC, Manassas, Virginia, EE.UU., Nº de Catálogo 30-1010K). Después de transcurrido el tiempo de incubación, el reactivo MTT fue incubado durante 4 h con las células antes de que, mediante la adición del detergente, tuviera lugar la lisis de las células a lo largo de la noche. La detección del colorante formado tuvo lugar a 570 nm. La proliferación no con la sustancia de ensayo, pero por lo demás de células tratadas de forma idéntica, se definió como valor 100%. Los datos obtenidos de este ensayo representan determinaciones triples, y se llevaron a cabo al menos dos experimentos independientes.

En la siguiente Tabla 1 se recogen los valores CI_{50} de ejemplos de realización representativos de este ensayo:

Tabla 1

Ejemplo de realización	CI_{50} [nM]
1	4
4	14
6	0,5
8	2,4
9	3
11	1,2
12	0,2
13	4
16	8
17	4
23	11
24	5
26	18

En comparación con ello, monometilauristatina F (MMAF) presenta en este ensayo un valor CI_{50} de 260 nM.

B-2. Determinación de la actividad antiproliferativa en la línea de células HT29wt:

Un número de células definido de la línea de células de carcinoma de colon humana HT29wt (tipo salvaje) se sembró en medio entero en una placa de microtitulación de 96 pocillos (FCS-RPMI al 10%) (2.500 células/pocillo) y se incubó durante una noche a 37°C / 5% de CO_2. Después de 18 h, el medio de siembra fue reemplazado por medio de nueva aportación con FCS al 10%. El tratamiento se inició con la adición de la sustancia de ensayo respectiva. De las sustancias a investigar se determinaron curvas de dosis-efecto en un intervalo de concentraciones de 10^{-5} M a 10^{-14}M (serie de dilución 1:10). Se eligieron tiempos de incubación de 48 h a 96 h. La detección tuvo lugar con ayuda del ensayo MTT (ATCC, Manassas, Virginia, EE.UU., Nº de Catálogo 30-1010K). Después de transcurrido el tiempo de incubación elegido, el reactivo MTT fue incubado durante 4 h con las células antes de que, mediante la adición del detergente, tuviera lugar la lisis de las células a lo largo de la noche. La detección del colorante formado tuvo lugar a 570 nm. La proliferación no con la sustancia de ensayo, pero por lo demás de células tratadas de forma idéntica, se definió como valor 100%. Los datos obtenidos de este ensayo representan determinaciones triples, y se llevaron a cabo al menos dos experimentos independientes.

En la siguiente Tabla 2 se recogen los valores CI_{50} de ejemplos de realización representativos de este ensayo:

Tabla 2

Ejemplo de realización	CI_{50} [nM]
1	0,1
2	0,5
4	0,2
9	1,4
17	0,5
18	1,2
23	0,7
24	1,5
29	0,1

En comparación con ello, monometilauristatina F (MMAF) presenta en este ensayo un valor CI_{50} de 10 nM.

B-3. Determinación de la influencia sobre la polimerización de tubulina:

Las células cancerígenas son células degeneradas que a menudo conducen también, debido a una división celular incrementada, a una formación de tumores. Los microtúbulos forman las fibras del huso del aparato del huso y son un componente esencial del ciclo celular. La formación y degradación reguladas de los microtúbulos posibilita la división exacta de los cromosomas en las células hijas y representa un proceso continuamente dinámico. Una alteración de esta dinámica conduce a una división celular incorrecta y, en última instancia, a la muerte de las células. La división celular incrementada de células cancerígenas hace a éstas, sin embargo, también particularmente sensibles frente a venenos de las fibras del huso, que representan un componente sólido de la quimioterapia. Venenos de las fibras del huso tales como Paclitaxel o epotilona conducen a una velocidad de polimerización fuertemente incrementada de los microtúbulos, mientras que los alcaloides Vinca o también monometilauristatina E (MMAE) conducen a una velocidad de polimerización fuertemente reducida de los microtúbulos. En ambos casos se altera sensiblemente la dinámica necesaria del ciclo celular. Los compuestos investigados en el marco de la presente invención conducen a una velocidad de polimerización reducida de los microtúbulos.

Para investigar la polimerización de tubulina se utilizó el "Kit de Ensayo de la Polimerización de Microtúnulos basado en Fluorescencia" de la razón social Cytoskeleton (Denver, Colorado, EE.UU.; Número de pedido: BK011). En este ensayo se añade GTP a tubulina no polimerizada, con lo cual puede tener lugar espontáneamente la polimerización. El ensayo se basa en la unión del fluoróforo 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) a tubulina. DAPI libre y fijado pueden diferenciarse en virtud de diferentes espectros de emisión. Dado que DAPI muestra una afinidad claramente superior frente a tubulina polimerizada en comparación con tubulina no polimerizada, la polimerización de tubulina se puede vigilar a través del aumento de la fluorescencia de fluoróforos de DAPI fijados.

Para la realización de este ensayo, las sustancias de ensayo disueltas en DMSO fueron diluidas en agua desde su concentración inicial de 10 mM a 1 µM. Junto al control tampón se realizó conjuntamente como control del ensayo también Paclitaxel de forma creciente de la polimerización y, por otra parte, vinblastina de forma inhibidora de la polimerización. Para la medición se utilizaron placas agujereadas de 96 pocillos con superficie de fondo media. La cinética de la polimerización de tubulina se vigiló durante 1 h a 37°C en un fluorímetro. La longitud de onda de excitación ascendió a 355 nm, la emisión se vigiló a 460 nm. Para el intervalo del aumento lineal dentro de los primeros 10 minutos se calculó la variación de la fluorescencia por minuto (ΔF/min), que representa la velocidad de polimerización de los microtúbulos. La potencia de las sustancias de ensayo se cuantificó con ayuda de la reducción respectiva de la velocidad de polimerización.

B-4. Determinación de la estabilidad del plasma *in vitro*:

Método A:

1 mg de la sustancia de ensayo respectiva se disolvió en 0,5 ml de acetonitrilo/DMSO (9:1). De esta disolución se tomaron 20 µl y se añadieron a 1 ml de plasma de rata o humano caliente a 37°C (plasma de ratas Wistar machos con Li-heparina, razón social Harlan & Winkelmann o bien plasma de reciente aportación humano, agotado en leucocitos, de la extracción de sangre entera). A partir de esta disolución de plasma vigorosamente agitada se tomaron inmediatamente de la adición de la muestra (valor incial como magnitud de referencia) y luego al cabo de 5,

10, 30, 60, 120, 180 y 240 minutos, así como eventualmente después de 24 horas en cada caso partes alícuotas de 100 µl y se añadieron a 300 µl de acetonitrilo. Las proteínas del plasma precipitadas se separaron por centrifugación durante 10 minutos a 5000 rpm y 30 µl del sobrenadante se analizaron por HPLC en cuanto a su contenido en sustancia de ensayo no modificada. Se cuantificó a través de los porcentajes en superficie de los correspondientes picos.

Método HPLC en plasma de rata:

Instrumento: Agilent 1200 con DAD, bomba binaria, automuestreador, horno de columna y termostato; Columna: Kromasil 100C18, 250 mm x 4 mm, 5 µm; temperatura de la columna: 45°C, eluyente A: 5 ml de ácido perclórico / L de agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-8 min 98% de A, 2% de B; 8-15 min 56% de A, 44% de B; 15-20 min 10% de A, 90% de B; 20-21 min 10% de A, 90% de B; 21-23 min 98% de A, 2% de B; 23-25 min 98% de A, 2% de B; caudal: 2 ml/min; detección UV: 220 nm.

Método HPLC en plasma humano:

Instrumento: Agilent 1100 con DAD, bomba binaria, automuestreador, horno de columna y termostato; Columna: Kromasil 100C18, 250 mm x 4 mm, 5 µm; temperatura de la columna: 45°C, eluyente A: 5 ml de ácido perclórico / L de agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 98% de A, 2% de B; 3-10 min 65% de A, 35% de B; 10-15 min 40% de A, 60% de B; 15-21 min 10% de A, 90% de B; 21-22 min 10% de A, 90% de B; 22-24 min 98% de A, 2% de B; 24-26 min 98% de A, 2% de B; caudal: 2 ml/min; detección UV: 220 nm.

Método B:

La sustancia de ensayo respectiva se incubó en plasma de rata o bien humano a 37°C a lo largo de un espacio de tiempo de 5 h bajo ligera agitación. En diferentes instantes (0, 2, 5, 10, 20, 30, 60, 120, 180 y 300 minutos) se tomó en cada caso una parte alícuota de 100 µl. Después de la adición de patrón interno (10 µl) se precipitaron las proteínas mediante adición de 200 µl de acetonitrilo y la mezcla se centrifugó en una centrífuga Eppendorf durante 5 minutos. Después de la adición de 150 µl de tampón acetato de amonio pH 3 a 150 µl del sobrenadante, el contenido de sustancia de ensayo no modificada se analizó mediante LC/MSMS.

En la siguiente Tabla 3 se recogen los tiempos de semivida ($t_{1/2}$), determinados a partir de estos datos, de ejemplos de realización representativos en plasma de rata:

Tabla 3

Ejemplo de realización	$t_{1/2}$ [h]	Método
4	3	B
16	0,75	A
17	>24	A
18	>24	A
22	2	A
23	>24	A

En comparación con ello, el éster metílico de monometilauristatina F (MMAF-OMe) en plasma de rata presenta una valor $t_{1/2}$ (según el Método A) de < 1 min.

En plasma humano no se comprobó, de manera ejemplar para los compuestos de acuerdo con la invención en los Ejemplos de realización 1, 17 y 21, degradación alguna después de 24 h, mientras que el éster metílico de monometilauristatina F (MMAF-OMe) fue degradado en este espacio de tiempo en aproximadamente un 20%.

B-5. Determinación de la permeabilidad de las células:

La permeabilidad de las células a una sustancia puede investigarse por medio de ensayo in vitro en un ensayo de flujo utilizando células Caco-2 [M.D. Troutman y D.R. Thakker, Pharm. Res. 20 (8), 1210-1224 (2003)]. Para ello, las células se cultivaron en placas de filtro de 24 agujeros durante 15-16 días. Para la determinación de la permeación, la sustancia de ensayo respectiva se añadió en un tampón HEPES ya sea de forma apical (A) o basal (B) sobre las células y se incubó durante 2 h. Al cabo de 0 h y al cabo de 2 h se tomaron muestras a partir de los compartimientos cis y trans. Las muestras se separaron mediante HPLC (Agilent 1200, Böblingen, Alemania) utilizando columnas de fase inversa. El sistema de HPLC estaba acoplado a través de una interfaz de pulverización iónica turbo a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo API 4000 (Applied Biosystems Applera, Darmstadt, Alemania). La permeabilidad se valoró con ayuda de un valor P_{app}, el cual se calculó por medio de la fórmula publicada por Schwab

et al. [D. Schwab et al., J. Med. Chem. 46, 1716-1725 (2003)]. Una sustancia fue clasificada como transportada de forma activa si la relación de P_{app} (B-A) a P_{app} (A-B) era >2 o <0,5.

B-6. Determinación de las propiedades del sustrato para glicoproteína P (P-gp):

Muchas células tumorales expresan proteínas de transporte para sustancias activas, lo cual va acompañado, a menudo, de un desarrollo de resistencia frente a agentes citostáticos. Sustancias, que no son sustratos de este tipo de proteínas de transporte tales como, por ejemplo, glicoproteína P (P-gp) o BCRP, pordría, por lo tanto, mostrar un perfil de acción mejorado.

Las propiedades del sustrato de una sustancia para P-gp (ABCB1) se determinaron mediante un ensayo de flujo utilizando células LLC-PK1, que sobre-expresan P-gp (células L-MDR1) [A.H. Schinkel et al., J. Clin. Invest. 96, 1698-1705 (1995)]. Para ello, las células LLC-PK1 o L-MDR1 se cultivaron en placas de filtro de 96 agujeros durante 3-4 días. Para la determinación de la permeación, la sustancia de ensayo respectiva se añadió, sola o en presencia de un inhibidor (tal como, p. ej., Ivermectina o Verapamil) en tampón HEPES, ya sea de forma apical (A) o basal (B), sobre las células y se incubó durante 2 h. Al cabo de 0 h y al cabo de 2 h se tomaron muestras a partir de los compartimientos cis y trans. Las muestras se separaron mediante HPLC utilizando columnas de fase inversa. El sistema de HPLC estaba acoplado a través de una interfaz de pulverización iónica turbo a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo API 3000 (Applied Biosystems Applera, Darmstadt, Alemania). La permeabilidad se valoró con ayuda de un valor P_{app}, el cual se calculó por medio de la fórmula publicada por Schwab et al. [D. Schwab et al., J. Med. Chem. 46, 1716-1725 (2003)]. Una sustancia fue clasificada como sustrato de P-gp si la relación de eflujo P_{app} (B-A) a P_{app} (A-B) era >2.

Como otros criterios para valorar las propiedades del sustrato de P-gp se pueden comparar entre sí las relaciones de eflujo en células L-MDR1 y LLC-PK1 o la relación de eflujo en presencia o ausencia de un inhibidor. Si estos valores se diferencian en más de un factor de 2, entonces en el caso de la sustancia correspondiente se trata de un sustrato de P-gp.

C. Ejemplos de realización para composiciones farmacéuticas

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden transformarse en preparados farmacéuticos de la siguiente manera:

Comprimido:

Composición:

100 mg del compuesto de acuerdo con la invención, 50 mg de lactosa (monohidrato), 50 mg de almidón de maíz (nativo), 10 mg de polivinilpirrolidona (PVP 25) (razón social BASF, Ludwigshafen, Alemania) y 2 mg de estearato de magnesio.

Peso del comprimido 212 mg. Diámetro 8 mm, radio de abombamiento 12 mm.

Preparación:

La mezcla a base del compuesto de acuerdo con la invención, lactosa y almidón se granula con una disolución al 5% (m/m) de la PVP en agua. El granulado se mezcla después del secado con el estearato de magnesio durante 5 minutos. Esta mezcla se prensa con una prensa para comprimidos habitual (formato del comprimido, véase arriba). Como valor indicativo para el prensado se utiliza una fuerza de compresión de 15 kN.

Suspensión aplicable por vía oral:

Composición:

1000 mg del compuesto de acuerdo con la invención, 1000 mg de etanol (al 96%), 400 mg de Rhodigel® (goma xantano de la razón social FMC, Pensilvania, EE.UU.) y 99 g de agua.

Una dosis individual de 100 mg del compuesto de acuerdo con la invención corresponden a 10 ml de suspensión oral.

Preparación:

El Rhodigel se suspende en etanol y el compuesto de acuerdo con la invención se añade a la suspensión. La adición del agua tiene lugar con agitación. Hasta finalizar la expansión del Rhodigel se agita durante aprox. 6 h.

Disolución aplicable por vía oral:

Composición:

500 mg del compuesto de acuerdo con la invención, 2,5 g de polisorbato y 97 g de polietilenglicol 400. Una dosis individual de 100 mg del compuesto de acuerdo con la invención corresponden a 20 g de disolución oral.

Preparación:

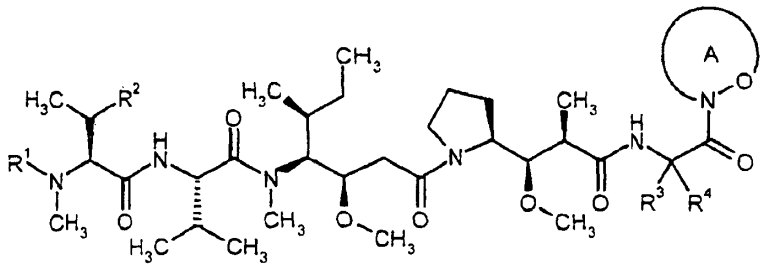
El compuesto de acuerdo con la invención se suspende con agitación en la mezcla a base de polietilenglicol y polisorbato. El proceso de agitación se prolonga hasta la disolución completa del compuesto de acuerdo con la invención.

Disolución i.v.:

El compuesto de acuerdo con la invención se disuelve en una concentración por debajo de la solubilidad de saturación en un disolvente fisiológicamente compatible (p. ej. solución salina isotónica, disolución de glucosa al 5% y/o disolución de PEG 400 al 30%). La disolución se filtra en condiciones estériles y se envasa en recipientes para inyección estériles y apirógenos.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



(I),

en la que

R^1 representa hidrógeno, alquilo (C_1-C_6) o un grupo de la fórmula Q^1-L^1-* o Q^2-L^2-*, en donde

* caracteriza el lugar de enlace con el átomo de nitrógeno,

Q^1 significa hidroxicarbonilo, alcoxi (C_1-C_4)-carbonilo o benciloxicarbonilo,

L^1 significa alcano (C_1-C_{12})-diilo de cadena lineal que puede estar sustituido hasta cuatro veces con metilo y en el que (a) dos átomos de carbono, en la relación 1,2, 1.3 o 1,4 entre sí, incluyendo los átomos de carbono eventualmente existentes entre ellos, pueden estar puenteados para formar un anillo cicloalquilo (C_3-C_6) o un anillo fenilo, o (b) hasta tres grupos CH_2 no contiguos entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

Q^2 significa hidroxi, amino o mono-alquil (C_1-C_4)-amino, y

y

L^2 significa alcano (C_2-C_{12})-diilo de cadena lineal que puede estar sustituido hasta cuatro veces con metilo y en el que (a) dos átomos de carbono, en la relación 1,2, 1,3 o 1,4 entre sí, incluyendo los átomos de carbono eventualmente existentes entre ellos, pueden estar puenteados para formar un anillo cicloalquilo (C_3-C_6) o un anillo fenilo, o (b) hasta tres grupos CH_2 no contiguos entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

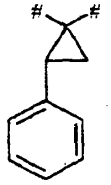
R^2 representa metilo o hidroxi,

R^3 representa hidrógeno o metilo,

R^4 representa isopropilo, isobutilo, sec.-butilo, terc.-butilo, fenilo, bencilo, 4-hidroxibencilo, 4-hidroxi-3-nitrobencilo, 1-feniletilo, difenilmetilo, 1*H*-imidazol-4-ilmetilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

R^3 y R^4, junto con el átomo de carbono al que ambos están unidos, forman un grupo 2-fenil-ciclopropan-1,1-diilo de la fórmula

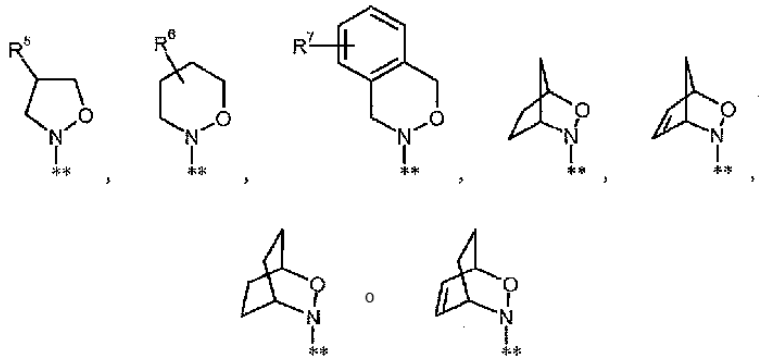


en donde

caracteriza los lugares de enlace con las partes restantes de la molécula,

y

el anillo A, con la agrupación N-O contenida en él, representa un heterociclo mono- o bi-cíclico, eventualmente sustituido, de la fórmula



en donde

** caracteriza el lugar de enlace con el grupo carbonilo,

R^5 y R^6 significan, en cada caso, hidrógeno, hidroxi, alcoxi (C_1-C_4) o benciloxi,

y

R^7 significa hidrógeno, flúor, cloro, ciano, metilo o trifluorometilo,

así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

2. Compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, en el que

R^1 representa hidrógeno, alquilo (C_1-C_4) o un grupo de la fórmula Q^1-L^1-* o Q^2-L^2-*, en donde

* caracteriza el lugar de enlace con el átomo de nitrógeno,

Q^1 significa hidroxicarbonilo o alcoxi (C_1-C_4)-carbonilo,

L^1 significa alcano (C_1-C_{12})-diilo de cadena lineal, en el que (a) dos átomos de carbono en la relación 1,3 o 1,4 entre sí, bajo la inclusión de uno o de los dos átomos de carbono situados entre ellos pueden estar puenteados para formar un anillo fenilo o (b) hasta tres grupos CH_2 no contiguos entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

Q^2 significa hidroxi, amino o metilamino,

y

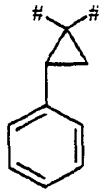
L^2 significa alcano (C_2-C_{12})-diilo de cadena lineal, que puede estar sustituido una o dos veces con metilo y en el que hasta tres grupos CH_2 no contiguos entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

R^2 representa metilo o hidroxi,

R^3 representa hidrógeno,

R^4 representa bencilo, 4-hidroxibencilo, 1-feniletilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o R^3 y R^4, junto con el átomo de carbono al que ambos están unidos, forman un grupo 2-fenil-ciclopropan-1,1-diilo de la fórmula

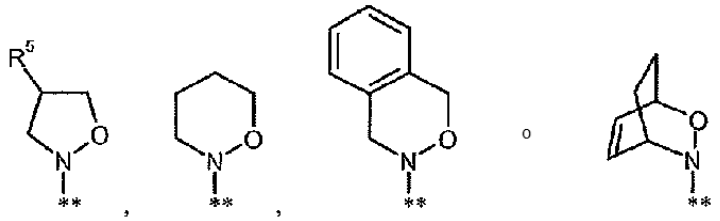


en donde

caracteriza los lugares de enlace con las partes restantes de la molécula,

y

el anillo A, con la agrupación N-O contenida en él, representa un heterociclo mono- o bi-cíclico, eventualmente sustituido, de la fórmula



en donde

** caracteriza el lugar de enlace con el grupo carbonilo,

y

R^5 significa hidrógeno, hidroxi o benciloxi,

así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

3. Compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 ó 2, en el que

R^1 representa hidrógeno, metilo o un grupo de la fórmula Q^1-L^1-* o Q^2-L^2-*, en donde

* caracteriza el lugar de enlace con el átomo de nitrógeno,

Q^1 significa hidroxicarbonilo, metoxicarbonilo o etoxicarbonilo,

L^1 significa alcano (C_1-C_6)-diilo de cadena lineal, en el que dos átomos de carbono en la relación 1,4 entre sí, bajo la inclusión de los dos átomos de carbono situados entre ellos pueden estar puenteados para formar un anillo fenilo,

Q^2 significa hidroxi o amino,

y

L^3 significa alcano (C_1-C_6)-diilo de cadena lineal,

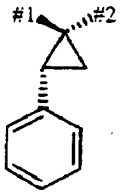
R^2 representa metilo,

R^3 representa hidrógeno,

R^4 representa bencilo, 1-feniletilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

R^3 y R^4, junto con el átomo de carbono al que ambos están unidos, forman un grupo (1S,2R)-2-fenil-ciclopropan-1,1-diilo de la fórmula



en donde

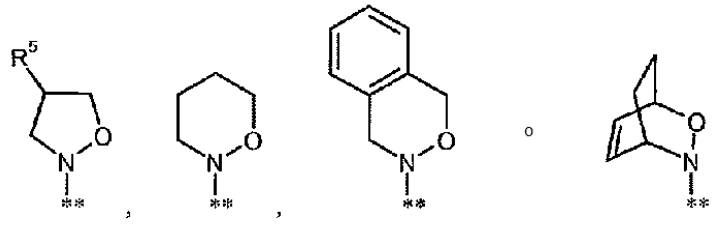
#1 caracteriza el lugar de enlace con el átomo de nitrógeno contiguo

y

#2 caracteriza el lugar de enlace con el grupo carbonilo,

y

el anillo A, con la agrupación N-O contenida en él, representa un heterociclo mono- o bi-cíclico, eventualmente sustituido, de la fórmula



en donde

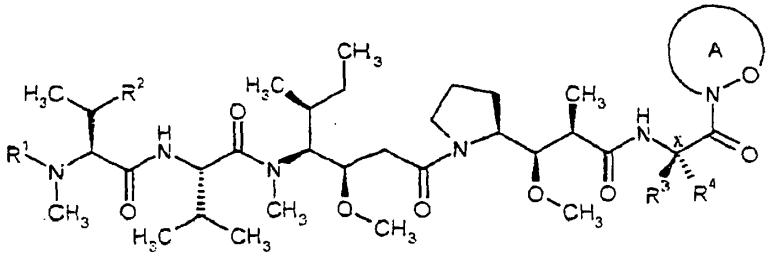
** caracteriza el lugar de enlace con el grupo carbonilo,

y

R^5 significa hidrógeno, hidroxi o benciloxi,

así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

4. Compuesto según la reivindicación 1, 2 ó 3 con la fórmula (1-A)

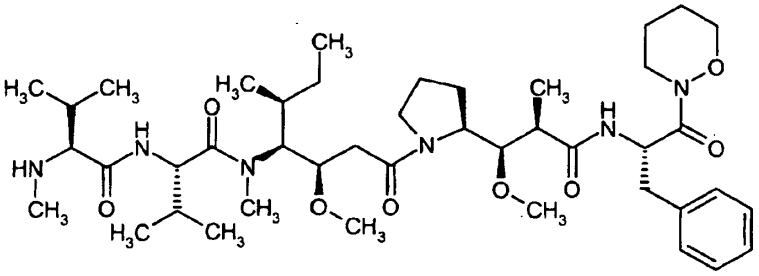


(I-A),

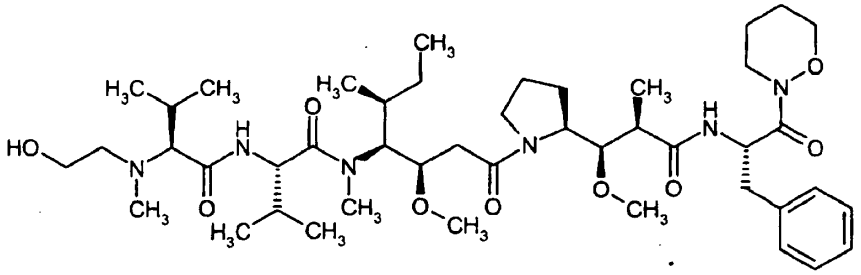
en la que R^1, R^2, R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados definidos en la reivindicación 1, 2 ó 3 y el átomo de carbono C^x que porta los radicales R^3 y R^4 presenta la configuración S representada,

así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

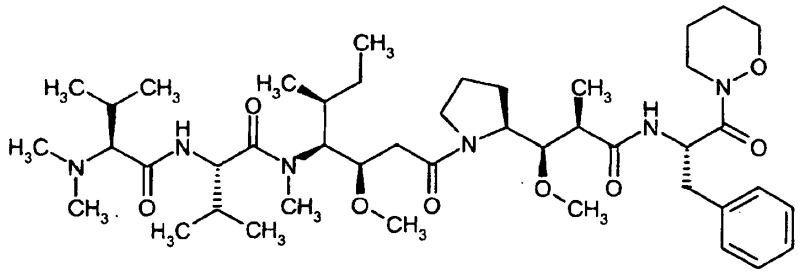
5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

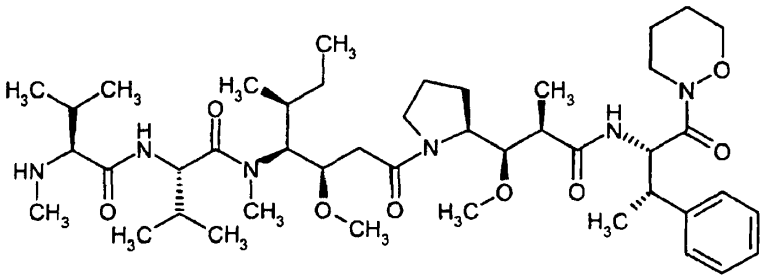


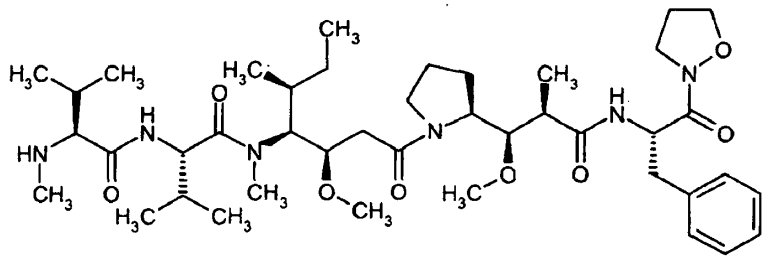
,

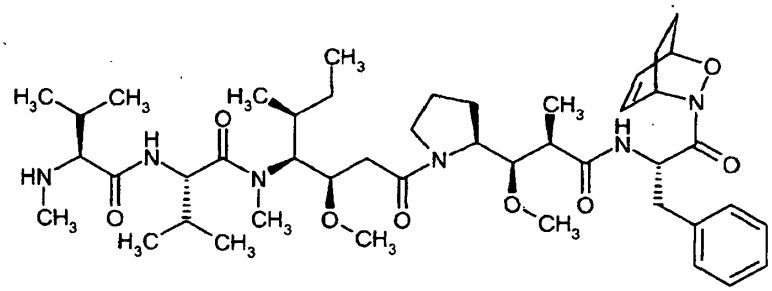


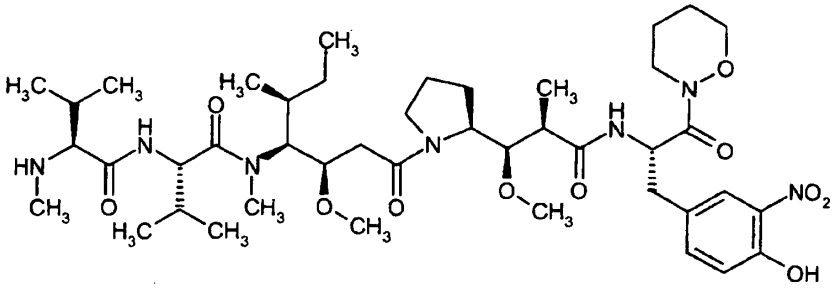
,

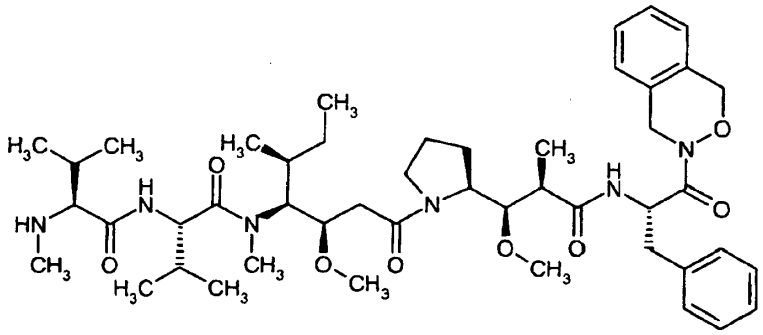


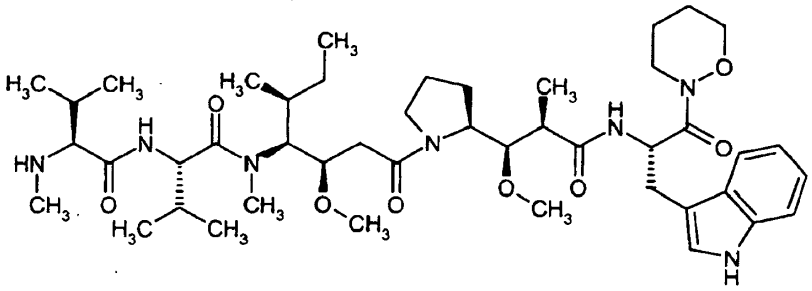


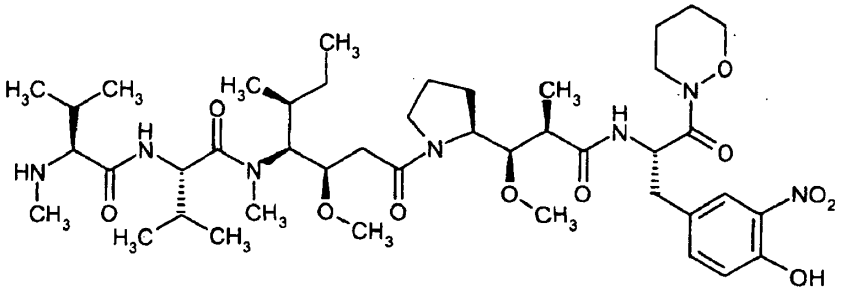


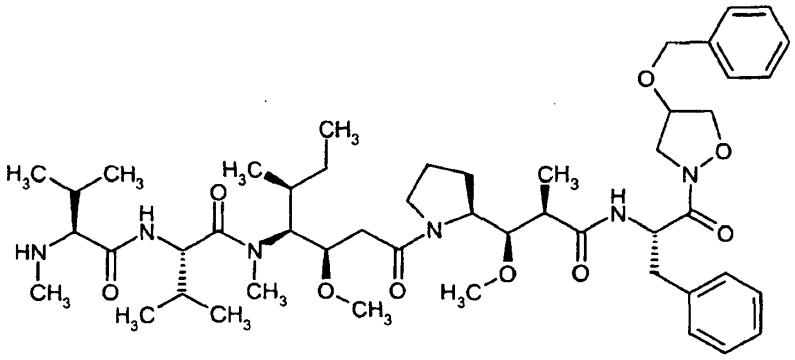


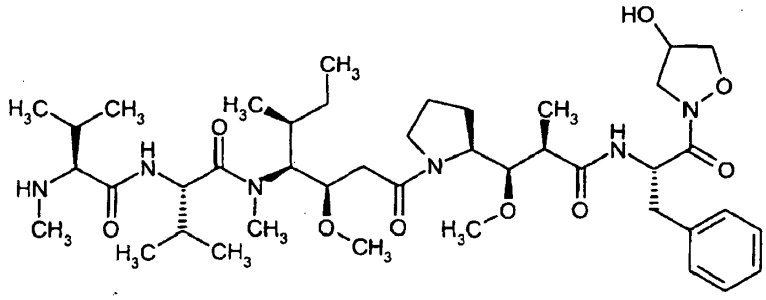


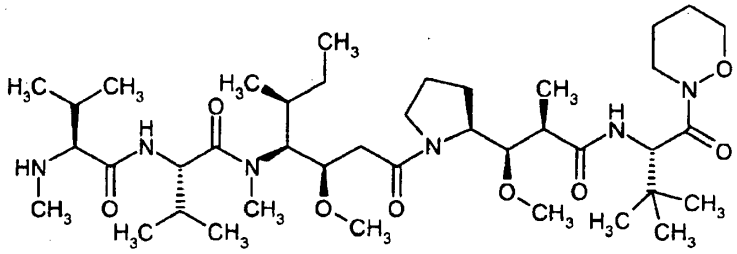


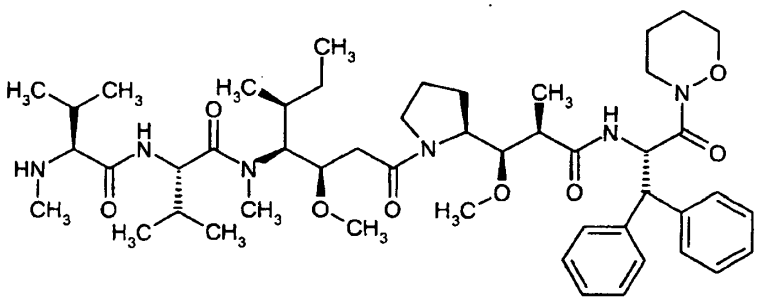


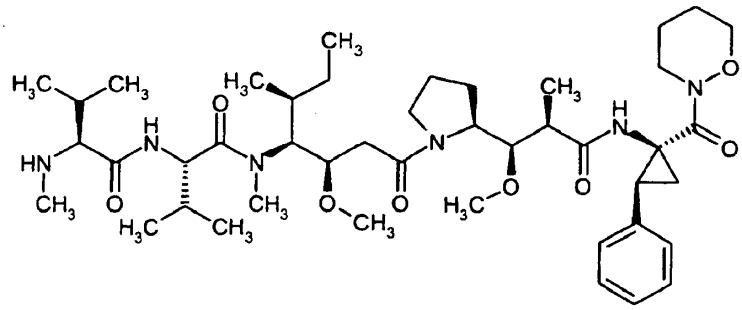


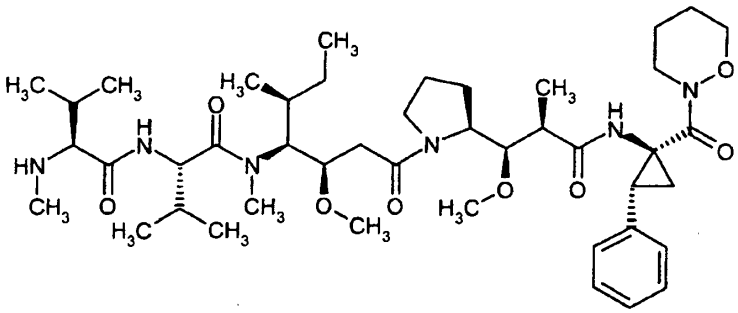


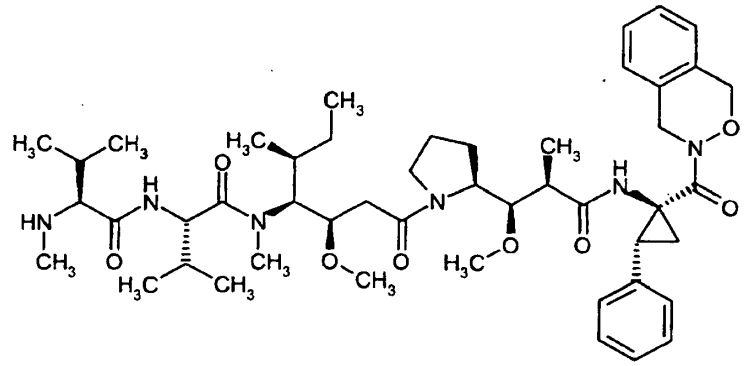


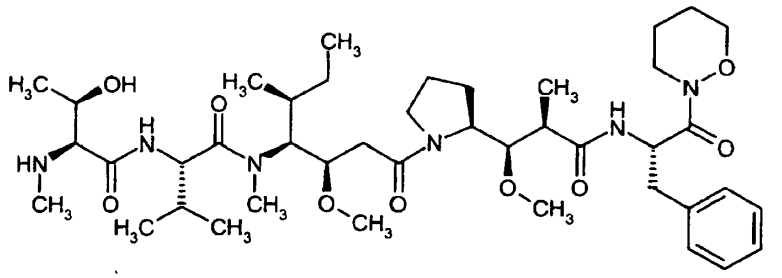


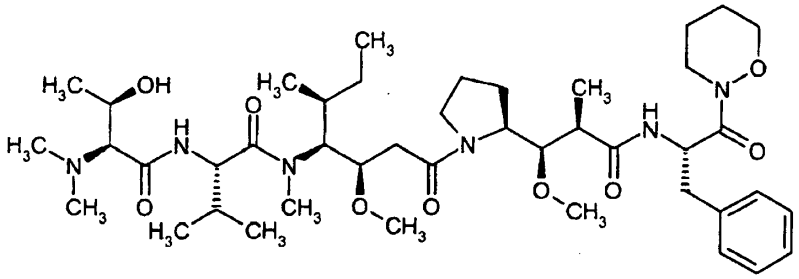


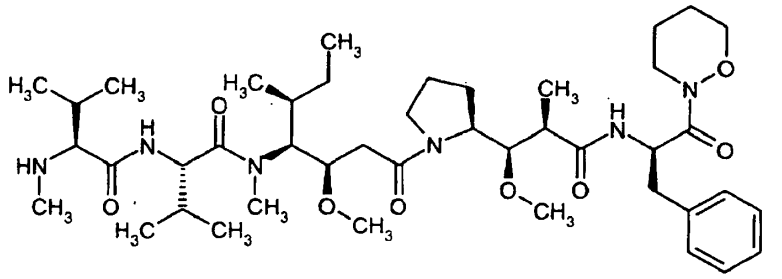


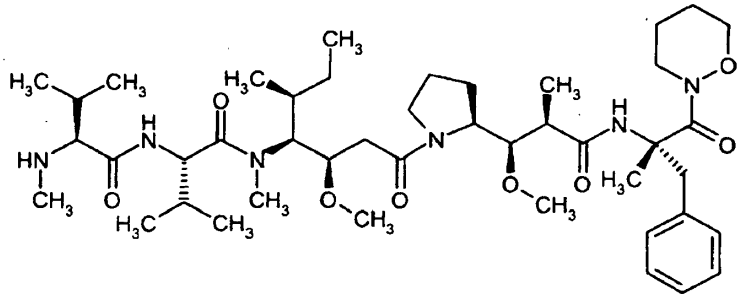


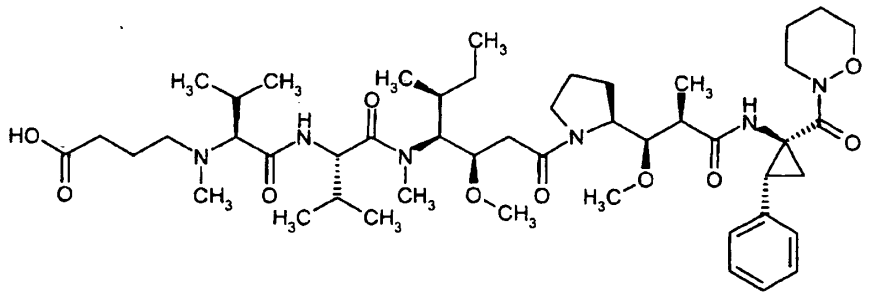


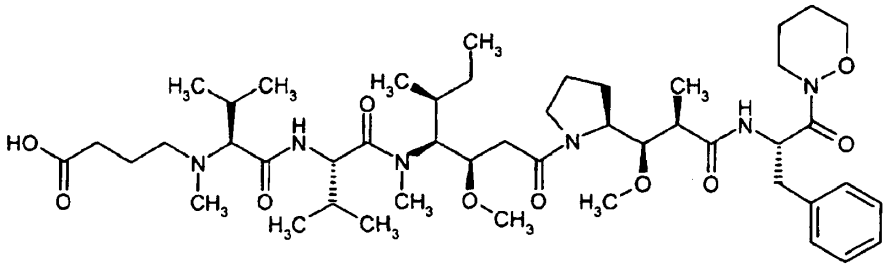


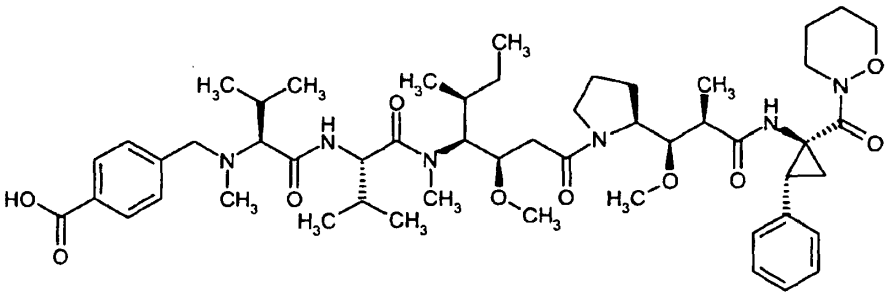


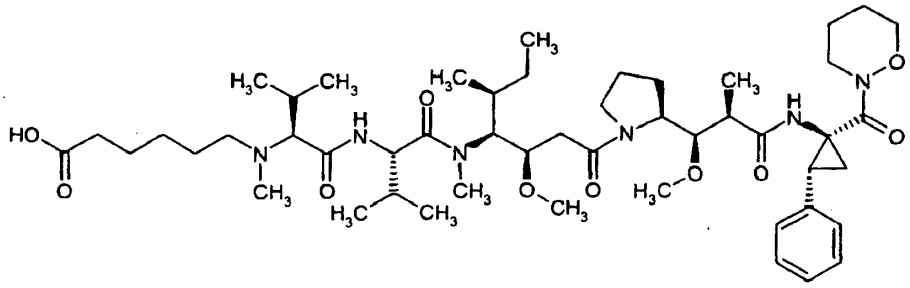


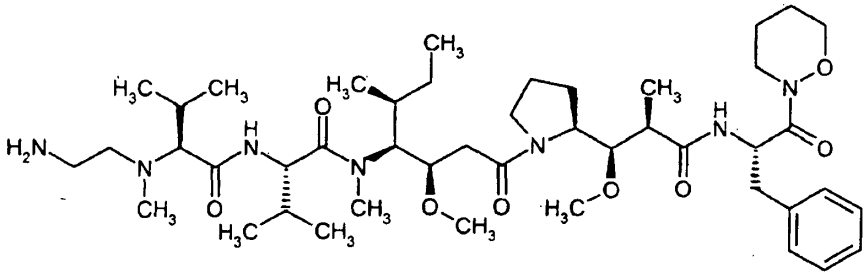


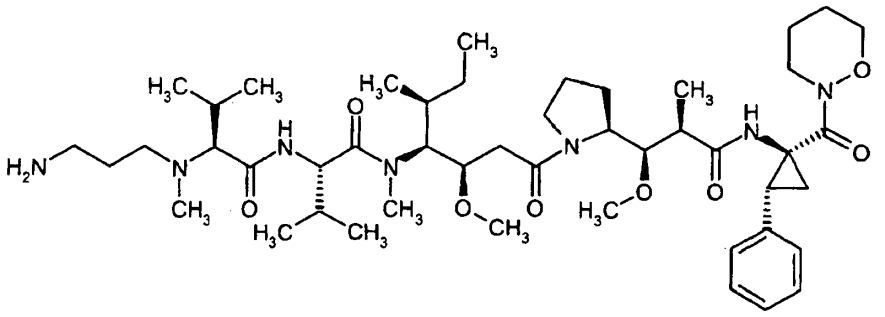




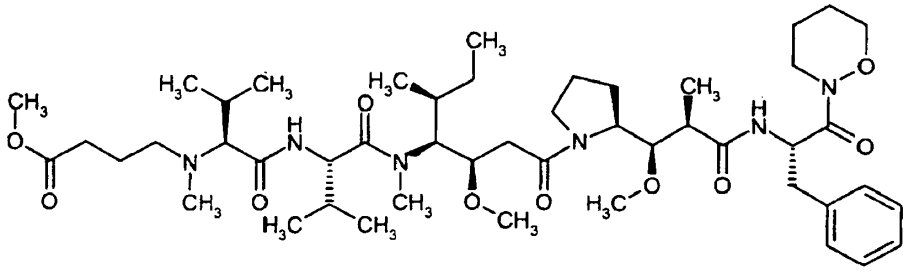




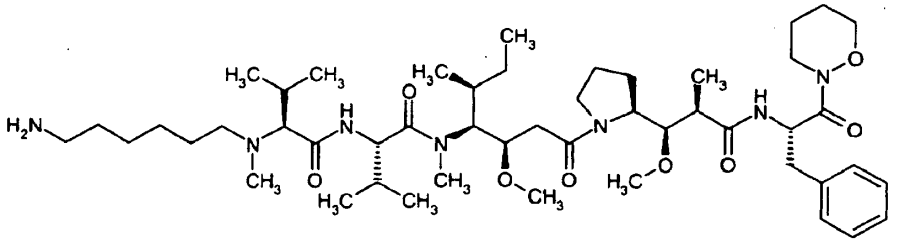




,

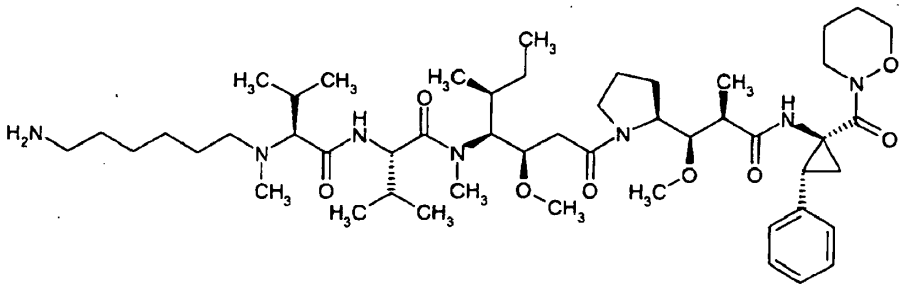


,

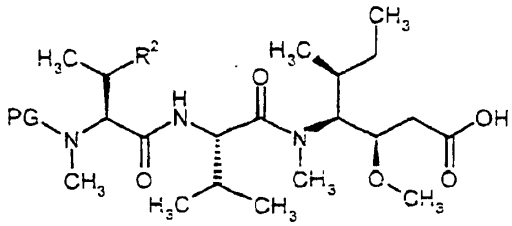


,

y



6. Procedimiento para la preparación de un compuesto de la fórmula (I) tal como se define en las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que un compuesto de la fórmula (II)



(II),

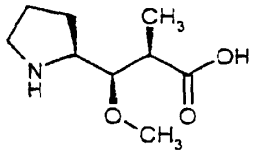
en la que R^2 tiene el significado indicado en las reivindicaciones 1 a 4

y

PG representa un grupo protector de amino tal como, por ejemplo, (9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo, *terc.*-butoxicarbonilo o benciloxicarbonilo,

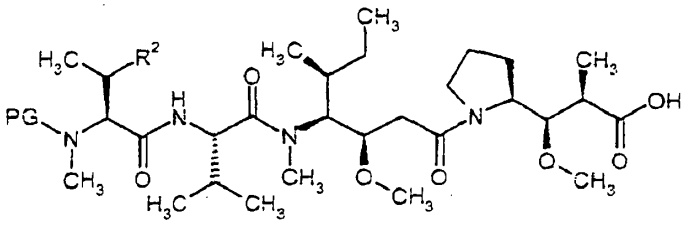
en un disolvente inerte y bajo activación de la función carboxilo en (II)

[A] se acopla primero con el compuesto de la fórmula (III)



(III)

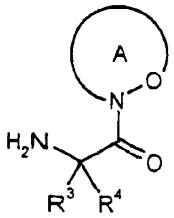
o una sal del mismo, para formar un compuesto de la fórmula (IV)



(IV),

en la que R^2 y PG tienen los significados arriba indicados,

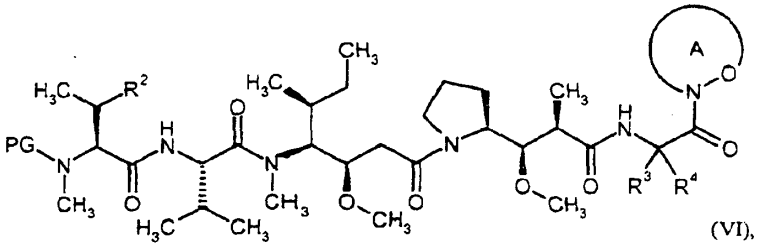
y éste, a continuación, en un disolvente inerte y bajo activación de la función carboxilo, se acopla con un compuesto de fórmula (V)



(V),

en la que R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados indicados en las reivindicaciones 1 a 4,

o una sal de este compuesto, para formar un compuesto de la fórmula (VI)

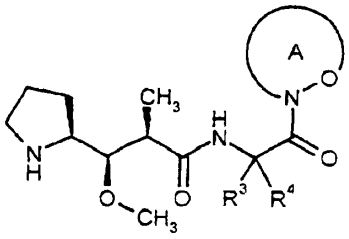


(VI),

en la que R^2, R\R^4, el anillo A y PG tienen los significados arriba indicados,

o

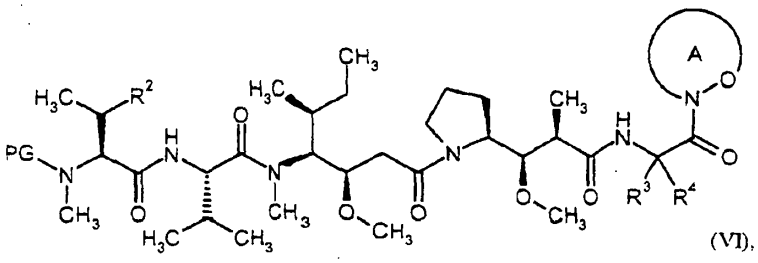
[B] se acopla con un compuesto de la fórmula (VII)



(VII),

en la que R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados indicados en las reivindicaciones 1 a 4,

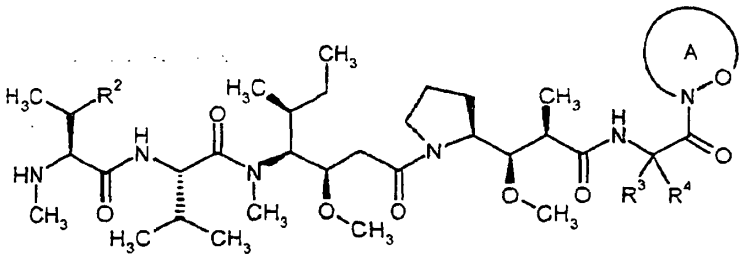
o una sal de este compuesto, asimismo para formar el compuesto de la fórmula (VI)



(VI),

en la que R^2, R^3, R^4, el anillo A y PG tienen los significados arriba indicados,

y el compuesto que resulta en cada caso de la fórmula (VI) se desprotege entonces, según métodos habituales de la química de los péptidos, para formar un compuesto de fórmula (1-B) de acuerdo con la invención



(I-B),

en la que R^2, R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba indicados,

y éste a continuación, en caso de que se desee, se transforma (i) mediante alquilación inducida por bases con un compuesto de la fórmula (VIII)

R^{1A}-X (VIII),

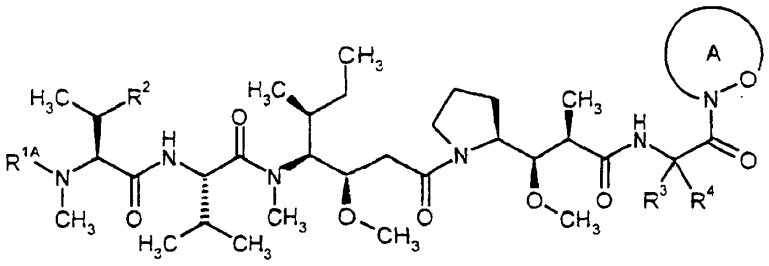
en la que

R^{1A} tiene el significado indicado en las reivindicaciones 1 a 4 de R^1, pero no representa hidrógeno,

y

X representa un grupo lábil tal como, por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro, mesilato, triflato o tosilato,

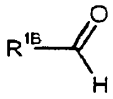
en un compuesto de acuerdo con la invención de la fórmula (I-C)



(I-C),

en la que R^{1A}, R^2, R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba indicados,

o (ii) mediante reacción con un compuesto de la fórmula (IX)

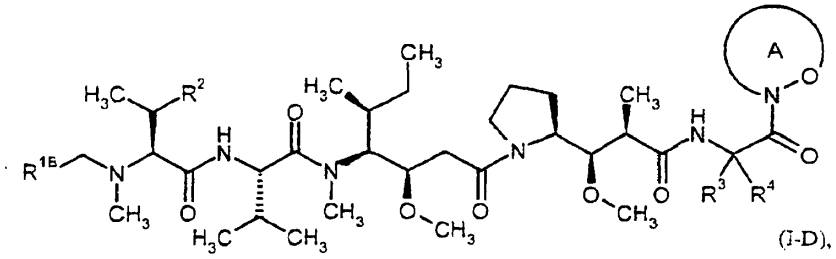


(IX),

en la que

R^{18} tiene el significado arriba indicado de R^{1A}, pero acortado en la longitud de cadena de alquilo en una unidad CH_2,

en presencia de un agente reductor adecuado, se transforma en un compuesto de acuerdo con la invención de la fórmula (I-D)



(I-D),

en la que R^{1B}, R^2, R^3, R^4 y el anillo A tienen los significados arriba indicados,

y los compuestos de las fórmulas (I-B), (I-C) o bien (I-D), así obtenidos, se separan eventualmente en sus enantiómeros y/o diastereómeros y/o se hacen reaccionar con los correspondientes (i) disolventes y/o (ii) bases o ácidos para dar sus solvatos, sales y/o solvatos de las sales.

7. Compuesto tal como se define en una de las reivindicaciones 1 a 5, para uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades.

8. Compuesto tal como se define en una de las reivindicaciones 1 a 5, para uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cancerígenas y tumorales.

9. Uso de un compuesto tal como se define en una de las reivindicaciones 1 a 5, para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cancerígenas y tumorales.

10. Medicamento, que contiene un compuesto tal como se define en una de las reivindicaciones 1 a 5, en combinación con uno o varios coadyuvantes inertes, no tóxicos y farmacéuticamente adecuados.

11. Medicamento, que contiene un compuesto tal como se define en una de las reivindicaciones 1 a 5, en combinación con una o varias de otras sustancias activas.

12. Medicamento según la reivindicación 10 u 11 para uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cancerígenas y tumorales.

13. Conjugado de acción antiproliferativa, en el que un compuesto según una o varias de las reivindicaciones 1-5 está enlazado con una proteína.

14. Conjugado de acción antiproliferativa según la reivindicación 13, en donde la proteína es un anticuerpo.