

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 533 851**

51 Int. Cl.:

**C07F 9/30** (2006.01)  
**C07F 9/32** (2006.01)  
**A61K 31/662** (2006.01)  
**A61K 31/675** (2006.01)  
**A61K 31/485** (2006.01)  
**A61K 31/352** (2006.01)  
**A61K 31/197** (2006.01)  
**A61P 25/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.07.2009 E 09780902 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.12.2014 EP 2326655**

54 Título: **Derivados aminofosfínicos útiles en el tratamiento del dolor**

30 Prioridad:

**23.07.2008 FR 0855015**

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

**15.04.2015**

73 Titular/es:

**PHARMALEADS (100.0%)**  
**11, Rue Watt**  
**75013 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**ROQUES, BERNARD;**  
**PORAS, HERVÉ y**  
**FOURNIE-ZALUSKI, MARIE-CLAUDE**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 533 851 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados aminofosfínicos útiles en el tratamiento del dolor.

5 La presente invención se refiere a unos compuestos aminofosfínicos, a su procedimiento de preparación y a su utilización en el tratamiento del dolor, tal como los dolores neuropáticos, neuroinflamatorios, post-operatorios o los dolores agudos por exceso de nocicepción.

10 La percepción, la transmisión y la regulación de los influjos nociceptivos dependen de varios neurotransmisores, y en particular de las encefalinas. Las encefalinas (met-enkefalina y Leu-enkefalina) son unos pentapéptidos inicialmente encontrados en el cerebro de mamíferos (Hugues Nature 1975, 258, 577). Las encefalinas se unen principalmente a dos clases de receptores, los receptores  $\mu$  y  $\delta$  (Lord *et al.* Nature 1977, 267,495) cuyas funciones y localizaciones son diferentes (Waksman *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. 1986, 83,152).

15 Las propiedades antinociceptivas de las encefalinas se han demostrado después de la administración por vía intracerebroventricular de encefalinas exógenas (Belluzi Nature 1976, 260, 625). Sin embargo, esta respuesta es muy fugaz a causa de una metabolización muy rápida de estos péptidos por las actividades enzimáticas. Unos análogos de encefalinas sintéticas, modificados para hacerlos resistentes a la degradación enzimática, han mostrado unas propiedades antinociceptivas iguales a las de la morfina, pero han presentado asimismo los mismos efectos secundarios indeseables que la morfina.

20 Por otra parte, se sabe que la encefalinas (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met y Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu) son fisiológicamente inactivadas por dos metalopeptidasas de zinc, la neprilisina (EC 3.4.24.11, NEP) que escinde la unión Gly<sup>3</sup>-Phe<sup>4</sup> (Malfroy *et al.* Nature 1978, 276, 523) y la aminopeptidasa N (EC 3.4.11.2, APN) que corta la unión Tyr<sup>1</sup>-Gly<sup>2</sup> de estos péptidos (Waksman *et al.* Eur. J. Pharmacol. 1985, 117, 233; Roques *et al.* Pharmacological Reviews 1993, 45, 87-146).

25 La inhibición de estas dos actividades enzimáticas, protegiendo completamente las encefalinas endógenas de su degradación enzimática (Bourgoin *et al.* J. Pharm. Exp. Ther. 1986, 238, 360), revela las actividades farmacológicas y en particular analgésicas y antidepresivas de estos neuropéptidos (Roques Trends Pharmacol. Sci. 2000, 21, 475; Jutkiewicz CNS Drugs Reviews 2007, 13, 192-206).

30 Unos trabajos recientes han demostrado que el sistema encefalinérgico, constituido por las encefalinas, por las enzimas de inactivación NEP y APN y por los receptores opioides, estaban presentes a nivel de los nociceptores, es decir sobre las terminaciones extremadamente finas de los nervios sensitivos que transmiten los influjos dolorosos (M.J. Millan Prog. en Neurobiology, 57, 1999,1-164). Así:

- 35
- 40 i) el gen de la preproencefalina se expresa en los ganglios dorsales de los nervios espinales, y después se transporta a la periferia a nivel de los nociceptores (Antunes-Bras J *et al.* Neuroscience 2001, 103, 1073-1083),
  - 45 ii) las encefalinas son expresadas en gran cantidad en las células inmunitarias atraídas hacia los tejidos lesionados (Przewlocki R *et al.* Neuroscience 1992, 48(2), 491-500) y liberadas en estas células sobre el sitio de la lesión (Rittner HL *et al.* FASEB J. 2006, 20, 2627-2629),
  - 50 iii) los receptores opioides están presentes en las terminaciones periféricas (Hassan AHS *et al.* Neuroscience 1993, 55, 185-195),
  - iv) finalmente, la actividad de las dos peptidasas NEP y APN se aumenta a nivel de los leucocitos reclutados por la inflamación (Salzet M *et al.* Trends in Neuroscience 2000, 23, 550-555).

Los inhibidores mixtos de las dos actividades enzimáticas, descritos en la técnica anterior, son unos profármacos que se pueden clasificar en dos grandes familias.

55 La primera familia corresponde a unos derivados de aminoácidos que asocian, mediante un puente disulfuro, un potente inhibidor de NEP y un potente inhibidor de APN (FR 2 651229, J. Med. Chem. 1992, 35, 2473). Estas moléculas presentan una excelente actividad antinociceptiva por vía intravenosa (iv). Una nueva generación de moléculas más solubles ha permitido obtener unos compuestos que presentan una buena actividad por vía oral (FR 2 892 413, FR 2 892 414 y FR 08/53092).

60 La segunda familia comprende unos compuestos que inhiben conjuntamente el APN y la NEP. Son bien unos compuestos con función hidroxamato (FR 2 518 088 y FR 2 605 004), o bien unos compuestos aminofosfínicos (FR 2 755 135 y FR 2 777 780).

65 Los compuestos con función hidroxamato, descritos en estos documentos, presentan una excelente actividad *in vitro* e *in vivo* después de la administración por vía intracerebroventricular. Esto se ha demostrado en particular en las

publicaciones siguientes (Eur. J. Pharmacol. 1984, 102, 525-528; Eur. J. Pharmacol. 1989, 165, 199-207; Eur. J. Pharmacol. 1991, 192, 253-262). También se ha podido observar una actividad significativa después de la administración *iv* en un modelo de rata artrítica (Brain Research 1989, 497,94-101).

5 Los compuestos aminofosfínicos descritos en las solicitudes FR 2 755 135 y FR 2 777 780 presentan a nivel del átomo de nitrógeno terminal, bien una función amina libre o bien una función imina. Ahora bien, se ha constatado por los inventores que, en condiciones fisiológicas, los compuestos que tienen tal función imina no inhiben la actividad de las dos peptidasas NEP y APN. Los inventores han descubierto que, para asegurar la actividad, es importante que el profármaco regenere una función amina libre, lo que no es posible en presencia de una imina, en condiciones fisiológicas.

15 En los compuestos descritos en la solicitud FR 2 755 135, la función ácido fosfínico se deja libre o está protegida por un grupo protector que es un alquilo o un bencilo. Pero se ha descrito después que la actividad disminuye cuando la función ácido fosfínico no está protegida (Hecker S. J. y Erion M. D. J. Med. Chem. 2008, 51, 2328-2345).

En los compuestos descritos en la solicitud FR 2 777 780, la función ácido fosfínico está protegida por un grupo protector que es:

- bien un grupo -CH(X)-O-C(O)-Y, con X, Y= alquilo o fenilo;
- o bien un grupo éster de S-aciltioetilo (SATE) de fórmula -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-CO-W, con W = alquilo o fenilo.

25 Sin embargo, el grupo SATE no puede ser utilizado en terapia humana debido a la toxicidad del producto cíclico (sulfuro de etileno) generado por la hidrólisis de tioéster en el cuerpo humano (Hecker S. J. y Erion M. D. J. Med. Chem. 2008, 51, 2328-2345).

Los inventores han constatado además, por primera vez, que la presencia conjunta de un grupo -CH(X)-O-C(O)-Y, protector de la función ácido fosfínico, y de una función amina libre, conduce a la formación de un producto de transferencia inactivo (formación de una amida -N-C(O)-Y que no es hidrolizable; véase el ejemplo 13).

30 Sin embargo, en el caso de los derivados aminofosfínicos descritos en la solicitud FR 2 777 780, se ha demostrado una buena actividad antinociceptiva, con una larga duración de acción, en modelos animales de nocicepción después de la administración por vía *iv* o *ip* (intraperitoneal) cuando las moléculas estudiadas se han solubilizado en una mezcla de aceite, etanol y agua (J. Med. Chem. 2000, 43, 1398-1408; J. Med. Chem. 2001, 44, 3523-3530; Pain 2003, 104, 139-148). No obstante, ninguna de estas moléculas ha sido suficientemente soluble en un soluto administrable en el ser humano, y no se ha detectado ninguna actividad antinociceptiva significativa después de la administración por vía oral.

40 Los documentos US nº 5.476.847, WO 97/00263 y Nature rev. 2005, 4, 1015-26 describen unos derivados de ácido fosfínico que responden a la fórmula general (I) para la cual R<sup>1</sup> no representa un grupo -C(=O)-O-C(R<sup>8</sup>)(R<sup>9</sup>)-OC(=O)-R<sup>10</sup>, útiles en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (US nº 5.476.847, WO 97/00263) o para el tratamiento de dolores neuropáticos e inflamatorios (Nature rev. 2005, 4, 1015-26).

45 Uno de los objetivos de la invención es, por lo tanto, proporcionar nuevos compuestos de tipo aminofosfínico estables, capaces de inhibir conjuntamente y con una larga duración de acción (es decir, por lo menos 2 h) las dos actividades enzimáticas (neprilisina y aminopeptidasa N) responsables de la degradación de las encefalinas y, por lo tanto, de amplificar de manera importante las propiedades farmacológicas de estos péptidos después de la administración oral o después de la puesta en solución en un soluto compatible con una administración en el ser humano.

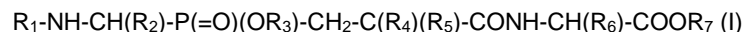
50 Con este objetivo, la función amina primaria de los inhibidores aminofosfínicos se ha sustituido por unos grupos de protección temporal fisiológicamente aceptables, la función ácido carboxílico se ha esterificado o no, y la función ácido fosfínico se ha dejado libre o está sustituida por unos grupos de protección temporal fisiológicamente aceptables. Estas protecciones han conducido a unas moléculas muy estables que presentan una muy buena biodisponibilidad.

55 Otro objetivo de la invención es proporcionar nuevos compuestos que presentan las propiedades de las sustancias morfínicas, en particular un potente efecto analgésico sobre los diferentes tipos de dolor (agudo, inflamatorio, neuropático, etc.), unos efectos beneficiosos sobre el comportamiento (disminución del componente emocional del dolor), así como unos efectos periféricos (antidiarreico, antitusivo, etc.) sin tener los inconvenientes principales (tolerancia, dependencias física y psíquica, depresión respiratoria, estreñimiento, náusea, vómitos, sedación, etc.).

60 Otro objetivo de la invención es proponer unas asociaciones entre los compuestos de la presente invención y unos compuestos conocidos por sus propiedades antinociceptivas pero que presentan, a dosis altas, unos efectos secundarios nefastos. Estas asociaciones se refieren más particularmente a la morfina y sus derivados, el THC (tetrahidrocannabinol) y sus derivados, así como los derivados del Gaba, tales como la Gabapentina o la Pregabalina. En efecto, se ha podido constatar una fuerte potencialización de las respuestas antinociceptivas

obtenidas por combinación de dosis subactivas de uno de los compuestos reivindicados en la presente solicitud y de uno de los analgésicos citados anteriormente (morfina, THC, Gabapentina). Asimismo, los compuestos según la invención pueden estar ventajosamente asociados, en el marco del tratamiento de dolores neuropáticos, a una de las toxinas botúlicas, inyectada localmente (Ranoux D. *et al.*, 2008, Anal. Neurol., 64, 274-283). Los compuestos de la invención pueden también estar asociados a unos antagonistas de los receptores purinérgicos, en particular del receptor P2X3, del cual uno de los antagonistas selectivo es el compuesto A-317491 (Wu *et al.*, 2004, Eur J. Pharm., 504, 45-53).

La invención tiene así más particularmente por objeto unos compuestos que responden a la fórmula general (I) siguiente:



o una sal farmacéuticamente aceptable de éste,

en la que:

- R<sub>1</sub> representa un grupo -C(=O)-O-C(R<sup>8</sup>)(R<sup>9</sup>)-OC(=O)-R<sup>10</sup>, en el que
  - R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> representan, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo,
  - y R<sup>10</sup> representa un grupo alquilo,
- R<sub>2</sub> representa:
  - un grupo alquilo lineal o ramificado, que comprende de 1 a 6 átomos de carbono,
  - un grupo fenilo;
- R<sub>3</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo de fórmula -C(R<sup>12</sup>)(R<sup>13</sup>)-OC(=O)-R<sup>14</sup>, en la que
  - R<sup>12</sup> y R<sup>13</sup> representan, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo,
  - y R<sup>14</sup> representa un grupo alquilo,
- R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno y R<sub>4</sub> representa:
  - un bencilo eventualmente sustituido en el núcleo fenilo por:
    - de 1 a 5 átomos de halógeno, tales como el flúor o el bromo;
    - un grupo OR<sup>15</sup> o SR<sup>15</sup>, en el que R<sup>15</sup> representa un átomo de hidrógeno, un grupo bencilo o una cadena hidrocarbonada, saturada o insaturada, lineal o ramificada, que comprende de 1 a 4 átomos de carbono;
    - un grupo amino;
    - un grupo CF<sub>3</sub>;
    - un grupo fenilo; o
    - un anillo heteroaromático de 5 o 6 eslabones;
- R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> forman, junto con el carbono que los lleva:
  - un anillo hidrocarbonado saturado de 5 o 6 eslabones; o
  - un anillo piperidina, encontrándose el nitrógeno en la posición 4 y estando eventualmente sustituido por:
    - \* un grupo -SO<sub>2</sub>-Ph;
    - \* un grupo CF<sub>3</sub>;
    - \* un grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub>;
    - \* un grupo acilo de C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub>;
    - \* un fenilo o un bencilo eventualmente sustituido con uno o varios átomo(s) de halógeno, un grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub> o un grupo alcoxi de C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub>; o

\* un heterociclo aromático tal como una piridina o una pirimidina, eventualmente sustituido con un grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub> o un grupo alcoxi de C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub>;

▪ R<sub>6</sub> representa:

- un grupo alquilo lineal o ramificado, que comprende de 1 a 6 átomos de carbono, y eventualmente sustituido por:

○ un grupo OR<sup>16</sup>, en el que R<sup>16</sup> representa un átomo de hidrógeno,

▪ R<sub>7</sub> representa un radical seleccionado de entre el grupo constituido por un átomo de hidrógeno, un bencilo, un alquilo de C<sub>2</sub> a C<sub>4</sub>, -CHR<sup>18</sup>-COOR<sup>19</sup>, -CHR<sup>18</sup>-OC(=O)R<sup>19</sup> y -CHR<sup>18</sup>-OC(=O)OR<sup>19</sup>, en los que R<sup>18</sup> y R<sup>19</sup> representan, independientemente el uno del otro, un grupo alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, heteroalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

En la presente invención, se entiende por "farmacéuticamente aceptable" lo que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y ni biológicamente ni de otra manera no deseable, y que es aceptable para una utilización veterinaria así como para farmacéutica humana.

Por "sales farmacéuticamente aceptables" de un compuesto, se entiende designar en la presente invención unas sales que son farmacéuticamente aceptables, como se define en la presente memoria, y que poseen la actividad farmacológica deseada del compuesto de origen. En el marco de la presente invención, se trata de sales obtenidas con una base mineral u orgánica. Así, la sal formada corresponde:

- bien a la sustitución de un protón ácido por un ion metálico, por ejemplo un ion de metal alcalino (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> o Li<sup>+</sup> por ejemplo), un ion de metal alcalinotérreo (como Ca<sup>2+</sup> o Mg<sup>2+</sup>) o un ion de aluminio,

- o bien a la coordinación de este protón ácido con una base orgánica o inorgánica.

Las bases orgánicas aceptables comprenden unas aminas tales como el amoniaco, la dietanolamina, la etanolamina, la N-metilglucamina, la trietanolamina, la trietilamina, la trometamina y similares. Las bases inorgánicas aceptables comprenden el hidróxido de aluminio, el hidróxido de calcio, el hidróxido de litio (litina), el hidróxido de potasio (potasa), el carbonato de sodio y el hidróxido de sodio (sosa).

Ventajosamente, las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención serán unas sales obtenidas con una base mineral u orgánica farmacéuticamente aceptable, tal como la litina, la sosa, la potasa, el amoniaco, una amina terciaria de fórmula NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, en la que R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub> representan, independientemente los unos de los otros, un grupo alquilo tal como se los definidos anteriormente, como la trietilamina, o también un aminoácido básico tal como la lisina o la arginina y sus derivados.

Por "insaturado" se entiende, en el sentido de la presente invención, que la cadena hidrocarbonada comprende una o varias insaturación(es). Por "insaturación" se entiende, en el sentido de la presente invención, un doble o un triple enlace.

Por "átomo de halógeno" se entiende, en el sentido de la presente invención, un átomo de flúor, de cloro, de bromo o de yodo. Ventajosamente, se trata de un átomo de flúor, de bromo o de cloro. Más ventajosamente, se trata de un átomo de flúor o de bromo, y preferentemente de flúor.

Por grupo "amino" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo de fórmula -NR'R", en el que R' y R" representan, independientemente entre sí, un átomo de hidrógeno o un grupo hidrocarbonado saturado o insaturado, lineal, ramificado o cíclico, que comprende de 1 a 6, preferentemente de 1 a 4, átomos de carbono, no pudiendo R' y R" representar al mismo tiempo un átomo de hidrógeno, o R' y R" forman, junto con el átomo de nitrógeno que los lleva, un heterociclo de 5 o 6 eslabones, saturado o no, y que no comprende otro heteroátomo distinto del nitrógeno que lleva los dos radicales R' y R". En particular, el grupo amino puede ser un grupo -NHMe, -NHEt, -NHPr, -NHiPr, -NHBu, -NHtBu, -NHtBu, piperidinilo o pirrolidinilo.

Por grupo "arilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo aromático, que comprende, preferentemente, de 5 a 10 átomos de carbono, salvo que se mencione lo contrario, y que comprende uno o varios anillos acoplados, como por ejemplo un grupo fenilo o naftilo. Ventajosamente, se trata del fenilo.

Por grupo "heteroarilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, cualquier grupo arilo tal como se ha definido anteriormente, en el que uno o varios átomo(s) de carbono está(n) sustituido(s) con uno o varios heteroátomo(s), ventajosamente de 1 a 4, y aún más ventajosamente de 1 a 2, tales como, por ejemplo, unos átomos de azufre, nitrógeno u oxígeno, pudiendo ser eventualmente un átomo de nitrógeno oxidado en forma de N-óxido. Unos ejemplos de grupos heteroarilo son los grupos furilo, tienilo, pirrolilo, piridinilo, pirimidilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo o también indilo.

Por "anillo heteroaromático de 5 o 6 eslabones" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo heteroarilo, tal como se ha definido anteriormente, que comprende un solo anillo de 5 o 6 eslabones. Se trata en particular de un grupo tienilo, pirrolilo, piridinilo, pirimidilo, pirazolilo, imidazolilo o también tetrazolilo.

Por "heterociclo" se entiende, en el sentido de la presente invención, un anillo hidrocarbonado, ventajosamente de 5 o 6 eslabones, del cual uno o varios átomo(s) de carbono está(n) sustituido(s) con uno o varios heteroátomo(s), ventajosamente de 1 a 4, y aún más ventajosamente de 1 a 2, tales como, por ejemplo, unos átomos de azufre, de nitrógeno o de oxígeno, pudiendo los átomos de azufre y de nitrógeno estar eventualmente oxidados en forma de N-óxido y de S-óxido. Salvo que se mencione lo contrario, este anillo podrá ser saturado o aromático.

En el caso en el que el o los heteroátomo(s) se seleccione(n) entre el nitrógeno y el azufre, el heterociclo puede ser en particular un grupo: piperidinilo, pirrolidinilo, pirrolilo, tienilo, pirrazolilo, imidazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, piperazinilo, tiadiazolilo, tetrahidrotienilo o también tiazolilo.

Por "alquilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, que comprende de 1 a 6 átomos de carbono, salvo que se mencione lo contrario. Se trata en particular de los grupos metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo.

Por "heteroalquilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, que comprende de 1 a 5 átomos de carbono y 1 o 2 heteroátomos, tales como, por ejemplo, unos átomos de azufre, nitrógeno u oxígeno.

Por "acilo de C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub>" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo alquilo tal como se ha definido anteriormente, que comprende de 1 a 4 átomos de carbono, unido a la molécula por medio de un grupo CO. Puede tratarse en particular de un grupo acetilo, formilo y propionilo.

Por cicloalquilo, se entiende, en el sentido de la presente invención, un anillo hidrocarbonado saturado que comprende de 3 a 7, ventajosamente de 5 a 7, átomos de carbono, en particular el grupo ciclohexilo, ciclopentilo o cicloheptilo.

Por "cicloheteroalquilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo cicloalquilo tal como se ha definido anteriormente, en el que uno o varios átomo(s) de carbono está(n) sustituido(s) con uno o varios heteroátomo(s), ventajosamente de 1 a 4, y aún más ventajosamente de 1 a 2, tales como, por ejemplo, unos átomos de azufre, de nitrógeno o de oxígeno, pudiendo los átomos de azufre y de nitrógeno estar eventualmente oxidados en forma de N-óxido y de S-óxido. Puede tratarse, en particular, de un grupo piperidinilo, pirrolidinilo, tetrahidrofurilo, tetrahidrotienilo, morfolinilo o también piperazinilo.

Por "alcoxi" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo alquilo, tal como se ha definido anteriormente, unido a la molécula por medio de un átomo de oxígeno. Se trata en particular de un grupo metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi o también terc-butoxi.

Por "arilalquilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo arilo tal como se ha definido anteriormente, unido a la molécula por medio de un grupo alquilo tal como se ha definido anteriormente. Se trata en particular de un grupo bencilo (Bn).

Por "heteroarilalquilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo heteroarilo tal como se ha definido anteriormente, unido a la molécula por medio de un grupo alquilo tal como se ha definido anteriormente. Se trata en particular de un grupo tienilmetilo o furilmetilo.

De manera ventajosa, el radical R<sub>1</sub> representa un grupo -C(=O)-O-C(R<sup>8</sup>)(R<sup>9</sup>)-OC(=O)-R<sup>10</sup>, en el que:

- R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> representan, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno y un grupo alquilo; y
- R<sup>10</sup> representa un grupo alquilo.

En particular, el radical R<sub>1</sub> representa el grupo -(C=O)O-CHMe-OC(=O)CHMe<sub>2</sub>.

Preferentemente, el radical R<sub>2</sub> representa un grupo alquilo, arilo o arilalquilo o heteroarilalquilo, en particular un grupo metilo o fenilo.

Según un primer modo de realización, que es generalmente el modo de realización preferido, el radical R<sub>3</sub> representa un átomo de hidrógeno.

En efecto, los inventores han constatado de manera sorprendente que los compuestos de la invención presentan una buena actividad incluso cuando la función fosfínica queda libre, al contrario de la enseñanza de la técnica anterior (Hecker S. J. y Erion M. D. J. Med. Chem. 2008, 51, 2328-2345) que indica que la actividad disminuye

cuando la función fosfínica no está protegida.

Según un segundo modo de realización, el radical  $R_3$  representa un grupo de fórmula  $-C(R^{12})(R^{13})-OC(=O)-R^{14}$ , con  $R^{12}$ ,  $R^{13}$  y  $R^{14}$  tales como se han definido anteriormente. En particular, los radicales  $R^{12}$  y  $R^{13}$  representan independientemente el uno del otro un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, y  $R^{14}$  representa un grupo alquilo. Puede ser ventajoso que  $R^{12} = R^8$ ,  $R^{13} = R^9$  y  $R^{14} = R^{10}$ .

Así, el radical  $R_3$  representa ventajosamente un átomo de hidrógeno o un grupo  $-CHMe-OC(=O)CHMe_2$ , y preferentemente representa un átomo de hidrógeno.

Según una variante ventajosa de la invención,  $R_5$  representa un átomo de hidrógeno y  $R_4$  representa un grupo bencilo eventualmente sustituido con 1 a 5 átomo(s) de halógeno tal(es) como el flúor o el bromo, un fenilo o un anillo heteroaromático de 5 o 6 eslabones. En particular,  $R_5$  representa un átomo de hidrógeno y  $R_4$  representa un grupo bencilo sustituido, en posición para, por un átomo de halógeno, tal como un átomo de bromo, o por un fenilo.

Según otra variante ventajosa de la invención,  $R_4$  y  $R_5$  forman, junto con el carbono que los lleva, un ciclohexano o un anillo piperidina, encontrándose el nitrógeno en la posición 4 y estando eventualmente sustituido como se ha definido anteriormente para estos radicales (en particular, los sustituyentes pueden ser un grupo  $-SO_2-Ph$ , un grupo acilo de  $C_1$  a  $C_4$ , un grupo fenilo).

Preferentemente, el radical  $R_6$  representa un grupo alquilo tal como un grupo metilo.

De manera también ventajosa, el radical  $R_7$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, tal como un etilo o un bencilo o un grupo  $-CH(CH_3)-O-C(=O)-O-Et$ . Preferentemente, se trata de un átomo de hidrógeno o de un grupo bencilo.

Según una variante ventajosa de la invención, los radicales tienen el significado siguiente:

- $R_1$  representa un grupo  $-C(=O)-O-C(R^8)(R^9)-OC(=O)-R^{10}$  en el que  $R^8$  representa un átomo de hidrógeno y  $R^9$  y  $R^{10}$  representan un grupo alquilo;
- $R_2$  representa un grupo alquilo o fenilo;
- $R_3$  representa un átomo de hidrógeno;
- $R_5$  representa un átomo de hidrógeno y  $R_4$  representa un grupo bencilo sustituido en la posición para por un átomo de halógeno (bromo) o por un fenilo; o  $R_4$  y  $R_5$  forman, junto con el carbono que los lleva, un ciclohexano o un anillo piperidina, encontrándose el nitrógeno en la posición 4 y estando eventualmente sustituido con un grupo  $-SO_2-Ph$ , un grupo acilo de  $C_1$  a  $C_4$ , o un grupo fenilo;
- $R_6$  representa un grupo alquilo;
- $R_7$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (tal como un etilo) o un bencilo o un grupo  $-CH(CH_3)-O-C(=O)-O-Et$ .

Según un modo de realización particular, el compuesto de la invención se selecciona de entre los compuestos siguientes:

Éster bencílico del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico,

Ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico,

Éster etílico del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico,

Éster etoxicarbonilo del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico,

Ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{(1-isobutiriloxi-etoxi)-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico,

Éster bencílico del ácido 2-(2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico,

Ácido 2-(2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxietoxicarbonil-amino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico,

5 Ácido 2-[2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-fenil-metil]-fosfinoilmetil}-3-(4-tiofen-3-il-fenil)-propionilamino]-propiónico,

Ácido 2-[2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-fenil-metil]-fosfinoilmetil}-3-(4-tiofen-3-il-fenil)-propionilamino]-3-hidroxi-propiónico,

10 Ácido 2-(3-bifenil-4-il-2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-tiofen-3-il-metil]-fosfinoilmetil}-propionilamino)-propiónico,

Ácido 2-(3-bifenil-4-il-2-[hidroxi-(1-isobutiriloximetoxi carbonilamino-etil)-fosfinoilmetil]-propionilamino)-propiónico,

15 Ácido 1-(1-[[3-bifenil-4-il-2-(1-carboxi-etilcarbamoil)-propil]-hidroxi-fosfinoil]-etilcarbamoilo)-etilo del ácido 2-dimetil-propiónico,

Ácido 2-[(1-{Hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil}-ciclopentanecarbonil)-amino]-propiónico,

20 Ácido 2-[(1-Acetil-4-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil}-piperidin-4-carbonil)-amino]-propiónico,

25 Ácido 2-[(4-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil}-1-fenil-piperidin-4-carbonil)-amino]-propiónico,

Ácido 2-[(1-bencenosulfonil-4-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil}-piperidin-4-carbonil)-amino]-propiónico.

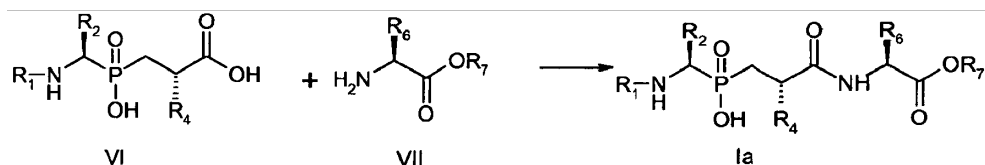
30 Los compuestos de la fórmula (I) de la invención poseen potencialmente 3 centros de asimetría, a saber los carbonos que llevan los radicales respectivos R<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> que interactúan con el sitio activo de las dos enzimas. De manera ventajosa, estos 3 centros asimétricos están resueltos y son de configuración absoluta respectiva que optimiza las propiedades de los compuestos de la invención, a saber:

- 35
- el átomo de carbono que lleva el radical R<sub>2</sub> es de configuración R (exceso enantiomérico superior al 90%);
  - llegado el caso, el átomo de carbono que lleva el radical R<sub>5</sub> es de configuración S (ee>90%);
  - el átomo de carbono que lleva el radical R<sub>6</sub> es de configuración S (ee>90%).

40 Llegado el caso, la configuración del ácido fosfínico se deja libre (se puede tener un enantiómero, el otro enantiómero o una mezcla racémica).

45 A continuación, se describirá la síntesis de los compuestos según la invención para los cuales se resuelve la configuración de los 3 átomos de carbono asimétricos y es de configuración absoluta respectiva optimizando las propiedades de las moléculas (ee>90%). Si se desea, el experto en la materia sabrá adaptar el procedimiento descrito para obtener cualquier configuración deseada.

Los compuestos de fórmula (Ia) para los cuales R<sub>5</sub>=H, R<sub>3</sub>=H, y R<sub>7</sub>≠H se obtienen por condensación de los compuestos VI con unos α-aminoésteres VII según el esquema siguiente:

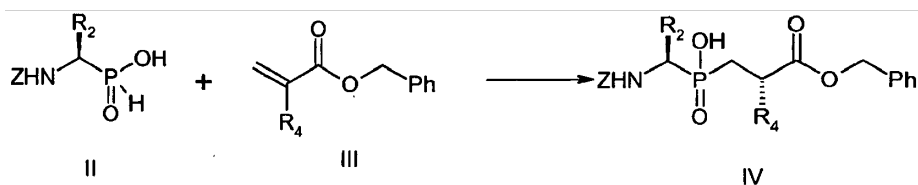


55 Esta reacción se realiza por acción de un agente de acoplamiento tal como el clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC) o el 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU), en presencia en particular de una amina terciaria, tal como la diisopropiletilamina (DIEA). La dimetilformamida (DMF) se utiliza ventajosamente como disolvente en esta etapa.

Los compuestos para los cuales R<sub>5</sub>=H, R<sub>3</sub>=H y R<sub>7</sub>=H, se podrán preparar por hidrogenólisis de un compuesto de fórmula (Ia) para la cual R<sub>7</sub>=Bn, mediante técnicas bien conocidas por el experto en la materia, en particular en presencia de un catalizador tal como el paladio sobre carbono bajo atmósfera de hidrógeno.

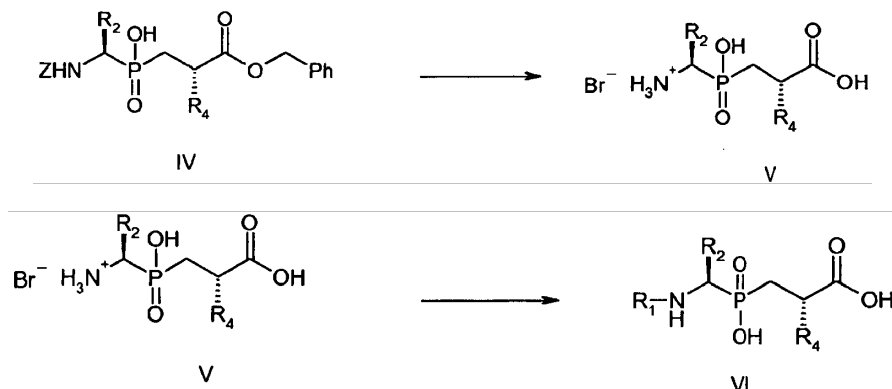
60 Los compuestos aminofosfínicos (VI) se obtienen en tres etapas a partir de los compuestos (II) y (III):





Z representa un grupo benciloxicarbonilo.

5



10 La primera etapa consiste en condensar los compuestos (II) y (III) en presencia de bis-trimetilsililo acetamida para dar el compuesto (IV). La reacción se efectúa ventajosamente a una temperatura comprendida entre 70 y 120°C, sin disolvente.

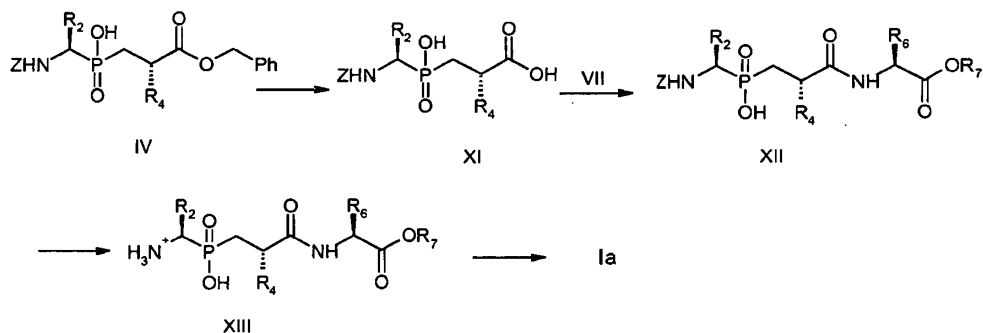
15 El compuesto (IV) se obtiene en forma de una mezcla de dos diaestereoisómeros (2R, 4S)/(2R, 4R) en proporciones de aproximadamente 65/35. El estereoisómero (2R, 4S) principal está entonces separado del estereoisómero (2R, 4R) por precipitación en un disolvente orgánico tal como el acetato de etilo, el éter dietílico, el isopropanol, el acetonitrilo o una mezcla de ellos, y preferentemente en el acetato de etilo, seguido o no de una purificación suplementaria por recristalización.

20 El compuesto (IV) así obtenido está entonces sucesivamente desprotegido en la posición C-terminal por saponificación (NaOH) y en N-terminal por acción de HBr/CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H para dar un compuesto (V). El compuesto (V) está entonces condensado con un aciloxialquil(*p*-NO<sub>2</sub>-fenil)carbonato, preparado según Alexander *et al.*, 1988, J. Med. Chem., 31,318, o con un aciloxialquilsuccinilcarbonato, preparado según Sun *et al.* Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11, 1875, en el dioxano en presencia de NaHCO<sub>3</sub>.

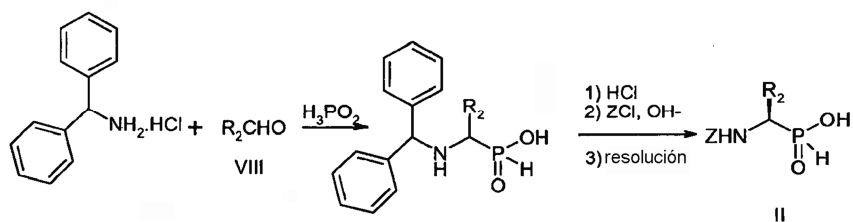
25

De manera alternativa, los compuestos (Ia) pueden ser sintetizados por condensación de (VII) sobre el intermedio (XI) (Z-NH-CH(R<sub>2</sub>)P(O)OH-CH<sub>2</sub>CH(R<sub>4</sub>)COOH) obtenido por hidrólisis alcalina del éster bencilico de (IV), en las condiciones de acoplamiento descritas anteriormente (EDCI o TBTU en presencia de DIEA en DMF). Se obtiene entonces el compuesto (XII) que, después de la desprotección del grupo Z da lugar al compuesto (XIII). Éste conduce a (Ia) mediante los procedimientos descritos anteriormente durante la transformación de (V) en (VI).

30



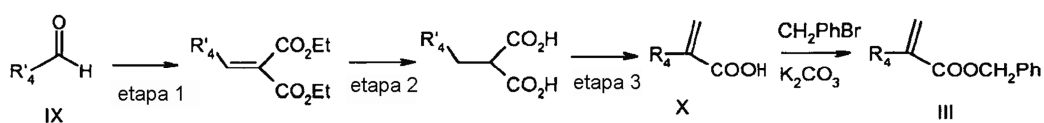
35 Los compuestos (II) ópticamente puros, de configuración (R) se preparan a partir de los aldehídos (VIII) siguiendo el protocolo de síntesis y el método de resolución descritos por Baylis *et al.* en J. Chem. Soc. Perkin Trans I (1984), 2845.



Z representa un grupo benciloxicarbonilo.

- 5 El éster bencilico de los acrilatos (III) se prepara a partir de los ácidos acrílicos correspondientes (X) por acción del bromuro de bencilo en presencia de  $K_2CO_3$  en el acetonitrilo a  $80^\circ C$ . Los ácidos (X) se obtienen mediante un protocolo clásico, bien conocido por el experto en la materia, que comprende las etapas siguientes: condensación de un aldehído (IX) sobre el dietilmalonato (etapa 1), reducción del doble enlace y saponificación de las funciones ésteres (etapa 2: 1)  $NaBH_4$ , 2)  $OH^-$ , 3)  $H^+$ ) y reacción de Mannich (etapa 3).

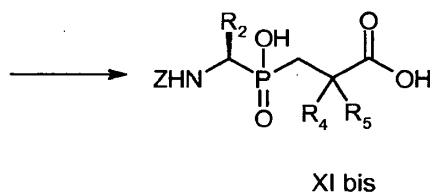
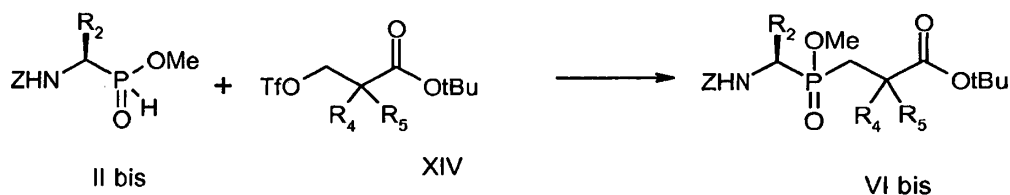
10



Los compuestos de la fórmula (Ib), para los cuales  $R_5 \neq H$  y  $R_3 = H$ , se obtienen mediante el mismo acoplamiento que el descrito para los compuestos (Ia) sustituyendo el intermedio (VI) por su análogo (VIbis).

15

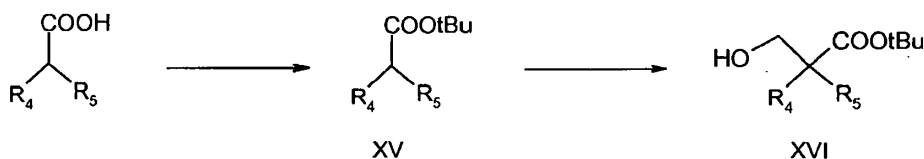
Éste se obtiene por condensación del ácido aminofosfínico protegido (II bis) y de un alcohol activado en forma de mesilato o de triflato (XIV) en presencia de diisopropilamida de litio (LDA) (McKittrick *et al.* en *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (1996), 1629)



20

Z representa un grupo benciloxicarbonilo.

- 25 Los compuestos (XIV) se preparan a partir del ácido carboxílico correspondiente de fórmula  $CH(R_4)(R_5)-CO_2H$ . Después de la esterificación en forma de éster t-butílico para dar  $CH(R_4)(R_5)-CO_2tBu$  (XV), el tratamiento por paraformaldehído en presencia de diisopropilamida de litio ( $iPr_2NLi$ ) lleva al éster alcohol  $HOCH_2-C(R_4)(R_5)-COOtBu$ . La función alcohol está entonces activada en forma de mesilato o de triflato para llevar al compuesto (XIV).



30

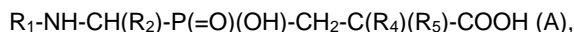
La desprotección de los ésteres tButílico del ácido carboxílico y metílico del ácido fosfínico del compuesto (VI bis) están desprotegidos por el TFA en el cloruro de metileno, para dar lugar al compuesto (XI bis). El final de la síntesis se lleva a cabo como se ha descrito anteriormente.

- 35 Los compuestos de la fórmula (Ic) para los cuales  $R_3 \neq H$  y  $R_7 \neq H$  se preparan a partir de los compuestos (Ia) y (Ib)

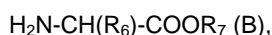
correspondientes, para los cuales  $R_3=H$ . La alquilación de la función fosfínica se obtiene por acción de un halógeno(aciloxi)alquilo (el halógeno es un cloro o un bromo). Esta alquilación se realiza en presencia de sulfato de tetrabutilamonio, de DIEA, y de NaI en un disolvente como el tolueno o el cloroformo, preferentemente el tolueno. La desprotección eventual de la función carboxilato ( $R_7=H$ ) se obtiene como anteriormente por hidrogenólisis del éster bencílico ( $R_7=CH_2Ph$ ).

De manera más general, la presente invención tiene por objeto un procedimiento de preparación de un compuesto de la fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, según las etapas siguientes:

- acoplamiento peptídico entre un compuesto de fórmula (A) siguiente:



y un compuesto de fórmula (B) siguiente:



para dar un compuesto (I) en el que  $R_3=H$  y  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son tales como se han definido anteriormente,  $R_7$  no representa sin embargo un átomo de hidrógeno;

- eventualmente una etapa de sustitución de la función ácido fosfónico por un grupo  $R_3\#H$ ,
- eventualmente una etapa de hidrólisis (saponificación o hidrogenólisis) de la función  $-COOR_7$ ;
- separación del medio de reacción del compuesto (I) obtenido por una de las etapas anteriores.

Este procedimiento podrá ser seguido por eventuales reacciones suplementarias de sustitución y/o protección/desprotección bien conocidas por el experto en la materia. La etapa de separación del medio de reacción podrá ser realizada mediante métodos bien conocidos por el experto en la materia, como por ejemplo por extracción, evaporación del disolvente o también por precipitación y filtración. El compuesto así obtenido podrá entonces ser purificado, si es necesario, mediante técnicas bien conocidas por el experto en la materia, como por recristalización si el compuesto es cristalino, por destilación, por cromatografía sobre columna de gel de sílice o también por cromatografía líquida de alto rendimiento (CLHP).

La presente invención tiene también por objeto un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido anteriormente para su utilización como medicamento, en particular destinado al tratamiento del dolor y en particular (1) de los dolores neuropáticos o neuroinflamatorios, o (2) de los dolores intensos (en particular los dolores agudos).

Por "dolores neuropáticos o neuroinflamatorios" se entienden más particularmente, pero de manera no limitativa, unos dolores causados por una diabetes de tipo I o II, una infección viral o retroviral, una quimioterapia de un cáncer, una radioterapia, una intervención quirúrgica que incluye la ilusión de los amputados y las secuelas de una mastectomía, el alcoholismo, una neuralgia facial, un traumatismo tal como un síndrome del plexo braquial, una radiculopatía o una radiculalgia, tal como una ciática, una cruralgia o un síndrome del desfiladero toracobraquial, una fibromialgia, un síndrome de las piernas inquietas, un dolor articular inflamatorio causado en particular por la artritis o una fase aguda de la artrosis, un dolor articular degenerativo causado en particular por la artrosis, o también una lumbalgia.

Estos dolores neuropáticos y neuroinflamatorios están caracterizados por: i) un exceso de nocicepción denominado "hiperalgesia", evaluada por unos ensayos apropiados sobre unos modelos animales predictivos, tales como el test Plantar o la placa caliente; ii) una alodinia que corresponde a una sensación dolorosa que proviene de una región que no está afectada por el estímulo nociceptivo original y cuya reducción se mide en particular por el ensayo de Von Frey.

El dolor intenso proviene de la estimulación de receptores, canales u otras dianas que transmiten al cerebro un mensaje interpretado como un dolor agudo. Por "dolores intensos" se entiende designar en particular los dolores post-operatorios, el dolor en una persona que padece cáncer, unos dolores debidos a lesiones de los tejidos periféricos que provocan un exceso de transmisión dolorosa en el sistema nervioso. Se designan en particular las quemaduras, los traumatismos, las consecuencias de una operación y de un gran número de enfermedades, que conllevan, bien unos dolores agudos (patologías postoperatorias, traumáticas, infecciosas o degenerativas), o bien unos dolores crónicos (patologías lesionales persistentes más o menos evolutivas).

La invención se refiere también a la utilización de un compuesto de la invención para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del dolor y en particular (1) de los dolores neuropáticos o neuroinflamatorios, o (2) de los dolores intensos. La invención se refiere también a un método para el tratamiento del dolor y en particular (1) de los dolores neuropáticos o neuroinflamatorios, o (2) de los dolores intensos, que comprenden la administración de una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto de la invención a un paciente que lo necesita.

La presente invención tiene asimismo por objeto una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, y por lo menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los compuestos según la invención se pueden administrar por vía oral, sublingual, parenteral, subcutánea, pulmonar, nasal, intramuscular, intravenosa, intratecal, intra-articular o transdérmica. El ingrediente activo puede ser administrado en formas unitarias de administración, en mezcla con unos soportes farmacéuticos clásicos, a los animales o a los seres humanos. Esta composición puede comprender, en la misma formulación o en asociación en una forma diferente, por lo menos otro principio activo, en particular un analgésico seleccionado de entre el grupo constituido por la morfina y sus derivados, el tetrahidrocanabinol y sus derivados, los derivados de Gaba (Gabapentina o Pregabalina), las toxinas botúlicas (toxina botúlica A) o un antagonista de los receptores purinérgicos (receptor P2X3).

La presente invención tiene asimismo por objeto una composición farmacéutica que comprende:

- (i) por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, y
- (ii) por lo menos otro principio activo, seleccionado de entre el grupo constituido por la morfina y sus derivados, el tetrahidrocanabinol y sus derivados, los derivados de Gaba (Gabapentina o Pregabalina), las toxinas botúlicas (toxina botúlica A) o un antagonista de los receptores purinérgicos (receptor P2X3), como productos de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo.

Estas composiciones y los compuestos de fórmula (I) se pueden utilizar como medicamentos.

Según una primera variante ventajosa de la invención, los compuestos están destinados al tratamiento de dolores neuropáticos o neuroinflamatorios y son administrados por vía oral.

La composición farmacéutica se formulará por lo tanto preferentemente para una administración por vía oral. Las formas unitarias de administración apropiadas comprenden los comprimidos, las cápsulas de gelatina, los polvos, los gránulos y las soluciones o suspensiones orales; se mezcla el ingrediente activo principal con un vehículo farmacéutico apropiado. La formulación puede ser de tal manera que tenga una actividad prolongada o retardada y que libere de manera continua una cantidad predeterminada de principio activo.

Los inventores han constatado que los compuestos, administrados por vía oral, no atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE) y así no penetran en el cerebro. En estas condiciones, los eventuales efectos secundarios no deseables, incluso leves, de los opioides endógenos cerebrales (encefalinas) (F. Noble y B.P. Roques, Exp. Op. Ther. Targets, 2007, 11, 145-159) que podrían provenir de la activación de los receptores opioides del cerebro, por estas encefalinas protegidas de su inactivación por los compuestos de la invención, están totalmente descartados.

Esta composición puede comprender por lo menos otro principio activo. En particular, esta composición farmacéutica podrá comprender un analgésico seleccionado de entre el grupo constituido por los derivados del Gaba, tales como la Gabapentina o la Pregabalina, o un antagonista del receptor purinérgico P2X3 y las toxinas botúlicas tales como la toxina botúlica A. Por ejemplo, los compuestos de la fórmula (I) formulados para una administración por vía oral, pueden ser utilizados en asociación con una toxina botúlica inyectada localmente.

Según una segunda variante ventajosa de la invención, los compuestos están destinados al tratamiento de dolores nociceptivos y son administrados por una vía diferente de la vía oral, como por ejemplo por vía sublingual, parenteral, subcutánea, nasal, pulmonar, intramuscular, intravenosa, intratecal, intra-articular o transdérmica, en particular por vía intravenosa. El ingrediente activo se puede administrar en formas unitarias de administración, en mezcla con unos soportes farmacéuticos clásicos, a los animales o a los seres humanos. La composición farmacéutica será por lo tanto formulada para una administración por vía intravenosa.

La presente invención describe también la utilización asociación (como productos de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo) con otro analgésico tal como la morfina y sus derivados, el tetrahidrocanabinol y sus derivados, o un antagonista del receptor purinérgico P2X3.

Según cualquiera de las variantes consideradas, los compuestos de la invención se pueden utilizar a dosis comprendidas entre 0,01 mg y 1000 mg por día, dadas en una sola dosis una vez por día o administradas en varias dosis a lo largo del día, por ejemplo dos veces por día en dosis iguales. La dosis administrada por día está ventajosamente comprendida entre 0,01 mg y 100 mg, aún más ventajosamente entre 0,1 mg y 10 mg.

## Figuras

### Leyenda de las figuras:

En todas las figuras, los análisis estadísticos (p, ensayo de Student) se indican de la manera siguiente:

- \*  $p < 0,1$  frente a control  
 \*\*  $p < 0,01$  frente a control  
 \*\*\*  $p < 0,001$  frente a control

5 La figura 1 representa el tiempo total de lamido (expresado en segundos durante el periodo de examen de 5 minutos) de la pata de un ratón que ha recibido formalina en función del tiempo (minutos) después de la administración por vía oral del vehículo (□) o de un compuesto según la invención (■), correspondiendo los gráficos (A), (B) y (C) respectivamente a los compuestos de los ejemplos 8, 3 y 4.

10 La figura 2 representa el tiempo total de lamido (expresado en segundos durante el periodo de examen de 5 minutos) de la pata de un ratón tratado por formalina, 90 minutos después de la administración por vía oral: (A) del vehículo (□) o del compuesto 8 (50 mg/kg) según la invención (■), o (B) del vehículo (□) o de la molécula de referencia (100 mg/kg) (■).

15 La figura 3 representa la respuesta obtenida en un modelo de dolor neuropático por ligadura parcial y unilateral del nervio ciático de un ratón (test Plantar), que permite la evaluación de la hiperalgesia térmica. Después se mide la retirada de la pata (en segundos) en función del tiempo (en minutos) 14 días después de la cirugía. El gráfico (A) representa la respuesta observada para la pata ipsilateral, mientras que el gráfico (B) representa la respuesta obtenida para la pata contralateral.

20 (media de las patas contralaterales a 90 min.: vehículo (7,85), compuesto 3 = 9,4 s)

25 La figura 4 representa la respuesta obtenida en un ensayo de von Frey (medición de la alodinia) a una presión (en g) de la pata de un ratón con la ayuda de filamentos de dureza creciente, en función del tiempo (min.), 14 días después de la cirugía y después de la administración por vía oral del vehículo (□) o del compuesto del ejemplo 3 (50 mg/kg) (■). El gráfico (A) representa la respuesta observada para la pata ipsilateral, mientras que el gráfico (B) representa la respuesta obtenida para la pata contralateral.

30 La figura 5 representa las respuestas obtenidas a 60 minutos en un ensayo de Von Frey, como se describe en la leyenda de la figura 4. El compuesto del ejemplo 4 se administra solo p.o., a la dosis de 10 mg/kg (■) y la gabapentina, también p.o. a la dosis de 30 mg/kg (■). Estos dos compuestos son administrados p.o., en asociación, a las dosis anteriores (■). El control (□) corresponde a la administración p.o. del vehículo.

### Ejemplos

35 Los ejemplos siguientes permiten ilustrar la invención, no obstante, sin limitarla.

Se han utilizado las abreviaturas siguientes:

40	CCM	Cromatografía sobre capa fina
	CLHP	Cromatografía líquida de alto rendimiento
	DMSO	Dimetilsulfóxido
	eq.	Equivalente
	ESI	Ionización por electrospray
45	min	Minutos
	RMN	Resonancia magnética nuclear
	TFA	Ácido trifluoroacético

### Ejemplo 1: Ácido (R)(1-Benciloxicarbonilamino-etil)-fosfínico

50 Etapa 1: Ácido (1-((difenilmetil)amino)-etil)fosfínico

55 Una mezcla de 200 g (0,91 moles) de clorhidrato de difenilmetilamina en 600 ml de agua y de 132 ml (1,0 mol) de ácido fosfínico (50% en agua) se lleva a reflujo bajo agitación. Se añaden 56 ml (1,0 mole) de acetaldehído en solución en 350 ml de agua, gota a gota en 30 min.

60 Se continúa la reacción mediante CLHP. Después de 2 h, la reacción se vuelve a llevar a temperatura ambiente. El precipitado blanco obtenido se filtra, se lava con agua (2x300 ml) y con acetona (2x300 ml) y después se seca. Sólido blanco, 225 g (90%)

Etapa 2: Ácido (1-aminoetil)-fosfínico

65 Una mezcla de 225 g del compuesto de la etapa 1 y de 2 l de HCl 6N se lleva a reflujo durante 5h. Después del enfriamiento, el medio de reacción se concentra a la mitad y después se extrae con 3x1,5 l de éter etílico. La solución se evapora hasta sequedad y el residuo oleoso (130 g) se recoge con 1,3 l de etanol. La solución se enfría

a 0°C y se añaden 450 ml de óxido de propileno. Un sólido blanco precipita. El precipitado se escurre, se lava con etanol (2x100 ml), con éter etílico (2x100 ml) y se seca. Sólido blanco, 65 g (73%)

RMN (1H) DMSO d6  $\delta$  (ppm): 1,26 (3H, d,d); 3,32 (1H, m); 6,98 (1H, d); 8,23 (3H, s).

5

### Etapa 3: Ácido (R)(1-benciloxicarbonilamino-etil)-fosfínico

Se solubilizan, en 300 ml de agua, 65 g (0,59 mol) del compuesto de la etapa 2 y el pH se ajusta a 9,5 mediante adición de sosa. Se añaden bajo agitación 85 ml de cloroformiato de bencilo. Después de 1h a 0°C, la mezcla se vuelve a llevar a temperatura ambiente y se vierte sobre una mezcla de hielo (IL) y de HCl concentrado (300 ml). El precipitado blanco formado se escurre, se lava con agua (2x100 ml) y se seca. Sólido blanco, 131 g (91%) CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 30/70, Columna Kromasil C18), Rt = 4,6 mn.

10

La resolución del ácido fosfínico racémico se efectúa por recristalización de la sal obtenida con la (R)(+)-metilbencilamina, como se describe en Baylis *et al.* (J. Chem. Soc. Perkin Trans I 1984, 2845) en una mezcla de acetato de etilo/isopropanol = 3,5/1. Sólido blanco, 48 g (86%)

15

RMN (1H) DMSOd6  $\delta$  (ppm): 1,19 (d, 3H); 3,66(m, 1H); 5,03 (s, 2H); 6,78 (d, 1H); 7,35 (s, 5H); 7,62 (d, 1H)

### **Ejemplo 2: Éster bencilico del ácido 2-bifenil-4-ilmetil-acrílico**

20

#### Etapa 1: Ácido 2-bifenil-4-ilmetil-malónico

El protocolo utilizado es el descrito en Organic Synthesis Coll. Vol.3 p 337. A partir de 48,4 g de dietilmalonato y 50 g de difenil-4-carboxaldehído, se obtienen 88,2 g de dietiléster del ácido 2-bifenil-4-ilmetil-malónico.

25

Este compuesto (88 g) se pone en solución en etanol (500 ml) y el doble enlace se reduce mediante acción del borohidruro de sodio (10,3 g). Después de 1h, la reducción está terminada y la mezcla de reacción se diluye en etanol (500 ml) y se añaden 1,36 l de NaOH 1N a 0°C.

30

Después de la evaporación del etanol y acidificación de la fase acuosa, se obtiene el ácido 2-bifenil-4-ilmetil-malónico en forma de un sólido blanco, 64,8 g (88%). CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, Columna Kromasil C18), Rt = 3,5 mn.

#### Etapa 2: Ácido 2-bifenil-4-ilmetil-acrílico

35

El diácido obtenido en la etapa 1 (60 g) se solubiliza en 300 ml de THF y 23,5 ml (2 eq.) de dietilamina y se añaden 19,5 ml (4 eq.) de formaldehído. El medio de reacción se pone a reflujo bajo agitación durante 20h. Después del enfriamiento, se evapora el THF y se recoge el residuo en acetato de etilo (500 ml) y se acidifica por 100 ml de HCl 6N. Se recupera la fase orgánica, se lava con 2x350 ml de agua, 1x300ml de NaCl sat. y se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se obtiene un polvo blanco, 51 g (97%).

40

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18), Rt = 6,2 mn.

#### Etapa 3: Éster bencilico del ácido 2-bifenil-4-ilmetil-acrílico

45

El ácido 2-bifenil-4-ilmetil-acrílico (30 g) se pone en suspensión en 300 ml de acetonitrilo. Se añaden 21 g de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y después 16,5 g de bromuro de bencilo y se calienta a 80°C durante 15 h. El medio de reacción se evapora y el residuo se recoge en acetato de etilo. La fase orgánica se lava con una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, con agua y con una solución acuosa saturada de NaCl, y después se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después de la filtración, la fase orgánica se evapora hasta sequedad. Producto oleoso, 40 g (96%).

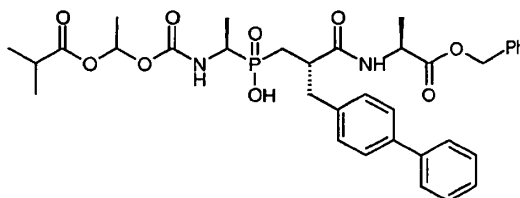
50

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 80/20, columna Kromasil C18), Rt = 12,7 mn.

RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 3,6 (2H, s); 5,1 (2H, S); 5,5 (1H, d); 6,2 (1H, d); 7,1-7,5 (14H, m).

55

### **Ejemplo 3: Éster bencilico del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-(hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil)-propionilamino)-propiónico**



60

Etapa 1: Éster bencílico del ácido 3-[(2-benciloxycarbonil-3-bifenil-4-il-propil)-hidroxi-fosfinoil]-butírico.

El sintón aminofosfínico del ejemplo 1 (9,6 g) y el éster bencílico del ácido 2-bifenil-4-ilmetil-acrílico del ejemplo 2, etapa 3 (14,3 g) son adicionados de 21 ml de bis-trimetilsililacetamida (BSA) y la mezcla de reacción se agita durante 5h a 70°C. Después del enfriamiento, se diluye la mezcla en acetato de etilo. Se añaden algunas gotas de agua hasta la formación de un precipitado. El sólido en suspensión se agita durante 1h a temperatura ambiente, después se escurre, se lava con acetato de etilo y se seca al vacío. Se obtienen 11,6 g (79%) del diaestereoisómero de configuración (R)(S).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 55/45, columna Kromasil C18) Rt = 17,8 mn.

RMN 1H (DMSO) d<sub>6</sub> δ (ppm) 1,26 (3H dd); 1,81-2,16 (2H m); 2,78-3,12 (3H m); 3,78 (1H qt); 4,94-5,08 (2x2H 2q); 7,12-7,68 (19H arom.) +NH (m).

Etapa 2: Bromhidrato de amonio de 1-[(3-bifenil-4-il-2-carboxi-propil)hidroxi-fosfinoil]-etilo

El compuesto de la etapa 1 (10,6 g) se pone en suspensión en THF (100 ml) y se añaden 7,4 g de sosa en solución en 50 ml de agua bajo agitación a 0°C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante una noche. El THF se evapora, la fase acuosa se acidifica a pH 1 con HCl 1N, y después se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se evapora hasta sequedad. Sólido blanco, 7,4 g (83%).

El ácido así obtenido (6 g) se pone en solución en 60 ml de ácido bromhídrico (45% en CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H) y la solución se agita durante 1h a temperatura ambiente.

La mezcla de reacción se evapora después hasta sequedad y se seca al vacío para dar lugar a un producto gomoso anaranjado, 6,9g (99%)

Etapa 3: Ácido 2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propiónico

El compuesto de la etapa 2 (6,23 g) se pone en suspensión en acetonitrilo (70 ml). Se añaden sucesivamente 9,8 g (8 eq.) de NaHCO<sub>3</sub> en solución en 70 ml de agua y 4,76 g (1,1 eq.) de éster 1-[2-(4-nitro-fenil)-acetoxi]-etilo del ácido isobutírico. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante una noche.

Después de la evaporación del acetonitrilo, la fase acuosa se extrae por acetato de etilo. La fase orgánica se lava con ácido cítrico al 10%, una solución acuosa saturada de NaCl, secada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada y evaporada hasta sequedad. El producto bruto se cromatografía sobre gel de sílice utilizando la mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1 después 7/3 como eluyente. Sólido blanco, 4,42 g (60%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50, columna Kromasil C18), Rt = 3,7 mn.

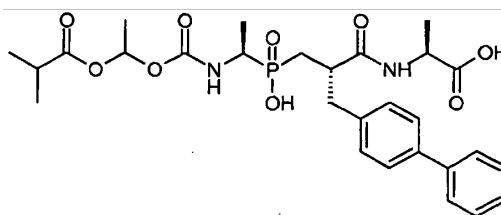
RMN (DMSO d<sub>6</sub>) δ ppm: 0,95-1,45 (12H m); 1,63-2,15 (2H m); 2,45 (1H m); 2,81-3,03 (3H m); 3,68 (1H m); 6,63 (1H m); 7,20-7,82 (10H m).

Etapa 4: Éster bencílico del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico

El compuesto de la etapa 3 (500 mg) se pone en solución en el dimetilformamida (DMF) (10 ml) y se añaden sucesivamente 945 mg (3 eq.) de TBTU, 1 ml de DIEA (6 eq.) y 257 mg (1,2 eq.) de clorhidrato del éster bencílico de alanina. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 15 min, después se evapora el DMF. El residuo se recoge con el acetato de etilo, después, sucesivamente, se lava con una solución de ácido cítrico al 10%, de agua, una solución de NaHCO<sub>3</sub> al 10%, una solución acuosa saturada de NaCl y se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después de la filtración, la solución se evapora al vacío. Sólido blanco, 1 g (95%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50, columna Kromasil C18) Rt = 8,2 mn.

RMN 1H (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm): 0,98-1,42 (15H m); 1,48-1,82 (2H m); 2,45 (1H m); 2,69-3,05 (3H m); 3,68 (1H m); 4,33 (1H m); 5,06 (2H s); 6,62 (1H m); 7,21-7,67 (15H m); 8,45 (1H t).

**Ejemplo 4: Ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico**

5 Se solubilizan 250 mg del compuesto del ejemplo 3 en 10 ml de MeOH y se añaden 125 mg de Pd/C 10%. La mezcla se hidrogenoliza a temperatura y presión ordinaria bajo atmósfera de hidrógeno. Al final de 1 h, se añaden 20 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se filtra sobre Celite. Se evapora hasta sequedad y se seca al vacío. Sólido blanco 184 mg (89%).

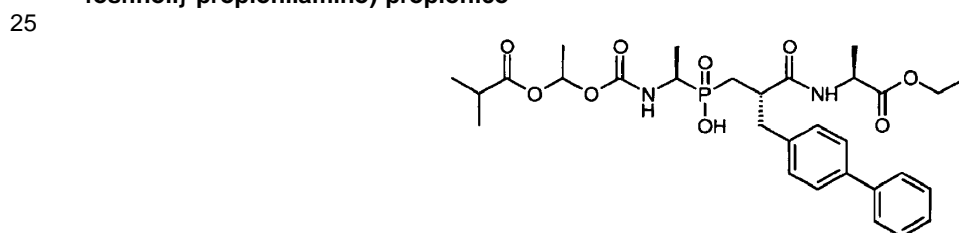
10 CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 60/40, columna Kromasil C18) Rt = 4,1 mn.

Masa ESI(+) [M+H]<sup>+</sup>=577.

15 RMN (1H) DMSO d<sub>6</sub>, δ (ppm): 1-1,5 (15 H m); 1,5-2,0 (2H m); 2,5 (1H, m); 3,0 (3H m); 3,7 (1H m); 4,2 (1H m); 6,2 (1H m); 7,3-7,7 (9H+1H m); 8,4 (1H dd).

**Ejemplo 5: Sal de sodio del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico**

20 Se disuelven 87 mg del compuesto del ejemplo 4 en una mezcla de 1 ml de agua y 1 ml de acetonitrilo. Se añaden 12,6 mg de NaHCO<sub>3</sub>. La solución obtenida se liofiliza y da lugar a 87 mg del compuesto esperado.

**Ejemplo 6: Éster etílico del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico**

30 El compuesto del ejemplo 3 (500 mg) se acopla en las condiciones de la etapa 4 del ejemplo 3 con clorhidrato de éster etílico de alanina (152 mg). El producto bruto obtenido se cromatografía sobre gel de sílice utilizando la mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH 7/3/0.2. Sólido blanco, 530 mg (88%).

Masa ESI(+) [M+H]<sup>+</sup>=605

35 RMN 1H (DMSO d<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,0-1,5 (18H m); 1,6-1,9 (2H m); 2,5 (1H m); 2,7-3,0 (3H m); 3,7 (1H m); 4,0 (2H q); 4,2 (1H qt); 6,6 (1H m); 7,2-7,7 (9H+1H m); 8,4 (1H dd).

**Ejemplo 7: Trifluoroacetato de éster 1-etoxicarboniloetil de alanina**Etapa 1: 1-Etoxicarboniloetiléster de N-terbutiloxycarbonil-L-alanina

40 La N-boc-L-alanina (boc = terc-butiloxycarbonilo) (10 g) se pone en solución en 100 ml de acetato de etilo en presencia de trietilamina (6,4 g, 1,2 eq.) bajo atmósfera inerte y la mezcla se agita durante 15 min a temperatura ambiente. Se añade después NaI (1,9 g, 0,2 eq.) y el 1-cloroetiletilcarbonato (9,38 g, 1,1 eq.). La mezcla se lleva a reflujo durante 15 h. Cuando la reacción se completa, la mezcla se lava con una solución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> al 10% (2 veces), H<sub>2</sub>O, y una solución acuosa saturada de NaCl. La fase orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se evapora hasta sequedad. Aceite ligeramente amarillo. 12,9 g (80%)

CCM (ciclohexano/EtOAc:6/4) Rf=0,73.

Etapa 2: Trifluoroacetato de éster 1-etoxicarboniloetil de L-alanina

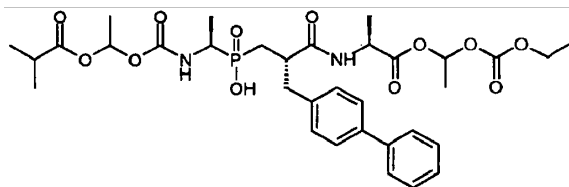
50 El compuesto de la etapa 1 (12,9 g) se solubiliza en 25 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se añaden 25 ml de ácido trifluoroacético a 0°C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 3h. Cuando la reacción es total, el medio de reacción se



evapora hasta sequedad. El residuo se recoge 3 veces con ciclohexano y la mezcla se re-evapora para eliminar el exceso de TFA. Aceite ligeramente marrón, 13,4 g (99%).

RMN 1H (DMSOd6)  $\delta$  (ppm): 1,2 (3H t); 1,35 (3H dd); 1,45 (3H d); 4,1 (2H q); 6,7 (1H m); 8,3 (3H s).

5 **Ejemplo 8: Éster 1-etoxicarboniloxi-etílico del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-(hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil)-propionilamino)-propiónico**



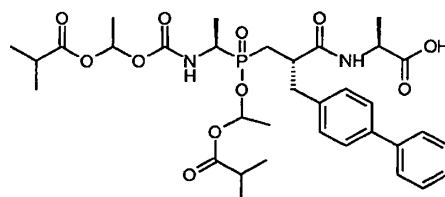
10 El compuesto del ejemplo 3 (500 mg) se acopla, en las condiciones de la etapa 4 del ejemplo 3, con el compuesto del ejemplo 7, (500 mg, 1,2 eq.). El producto bruto se cromatografía sobre gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH:7/3/0,2. Sólido blanco, 330 mg (55%).

15 CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18) Rt = 5,4 mn.

Masa ESI(+) [M+H]<sup>+</sup>=693

20 RMN 1H (DMSOd6)  $\delta$  (ppm): 1,0-1,4 (21Hm); 1,5-2,0 (2H m); 2,5 (1Hm); 2,7-3,0 (3H m); 3,65 (1H m), 4,15 (2H q); 4,25 (2H m); 6,6 (2H m); 7,2-7,7 (9H+1H m); 8,5 (1H dd).

**Ejemplo 9: Ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-((1-isobutiriloxi-etoxi)-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil)-propionilamino)-propiónico**



25 Etapa 1: Éster 1-{[2-(1-benciloxycarbonil-etilcarbamoil)-3-bifenil-4-il-propil]-[1-(1-isobutiriloxi-etoxi)-fosfinoil]-etilcarbamoiloxi}-etilo del ácido isobutírico

30 El compuesto final del ejemplo 3 (350 mg) se pone en solución en tolueno. Se añaden bajo atmósfera inerte 90 mg de sulfato de tetrabutilamonio, (nBu)<sub>4</sub>N<sup>+</sup>SO<sub>4</sub>H<sup>-</sup> (0,5 eq.), NaI (80mg, 1 eq.), el éster 1-cloroetilico del ácido isobutírico (160mg, 4 eq.) y 0,9 ml de DIEA. La mezcla se calienta a 120°C durante 3h. La mezcla de reacción se vuelve a llevar a temperatura ambiente y se diluye en 50 ml de acetato de etilo, la solución obtenida se lava con agua, con una solución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> al 10%, con una solución acuosa saturada de NaCl y se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.  
35 Después de la filtración, los disolventes son evaporados y el residuo (400 mg) se purifica por cromatografía sobre gel de sílice con la mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 90/10 como eluyente. Aceite amarillo, 200 mg.

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 80/20, columna Kromasil C18) Rt = 8,8 mn.

40 Masa ESI(+) [M+H]<sup>+</sup>=781.

Etapa 2: Ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-((1-isobutiriloxi-etoxi)-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil)-propionilamino)-propiónico

45 El compuesto de la etapa 1 (200 mg) se solubiliza en MeOH (10 ml). Se añaden 40 mg de Pd/C al 10% y la mezcla se hidrogenoliza a temperatura y presión ordinaria durante 1h bajo atmósfera de hidrógeno. Se diluye la mezcla en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se filtra sobre Celite. El disolvente se evapora hasta sequedad y el residuo se liofiliza. Sólido blanco, 106 mg (60%).

50 Masa ESI (+) [M+H]<sup>+</sup> = 691.

RMN 1H (DMSOd6)  $\delta$  (ppm): 1,0-1,5 (24H m); 1,5-1,7 (2H m); 2,5 (2H m); 2,7-3,0 (3H m); 3,9 (1H m); 4,2 (1H m); 6,4 (1H m); 6,65 (1H m); 7,2-7,7 (9H+1H m); 8,3 (1H m).

**Ejemplo 10: Éster bencílico del ácido 2-(4-bromo-bencil)-acrílico**Etapa 1 Ácido 2-(4-bromo-bencil)-acrílico

5 Este compuesto se sintetiza según el protocolo descrito para la síntesis del ácido 2-bifenil-4-ilmetil-acrílico (ejemplo 2) sustituyendo el bifenil-4-il-acetaldehído por el 4-bromobenzaldehído. Sólido blanco.

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18) Rt = 4,9 mn.

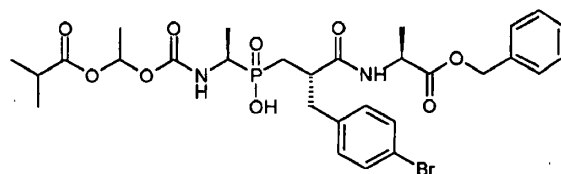
10 Etapa 2: Éster bencílico del ácido 2-(4-bromo-bencil)-4-ilmetil-acrílico

La esterificación se efectúa según el protocolo descrito en la etapa 3 del ejemplo 2. Aceite incoloro.

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18) Rt = 22,0 mn.

15 RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 3,6 (2Hs); 5,2 (2H s); 5,6 (1H d); 6,4 (1H d); 7,1 (2H d); 7,4 (7H m).

20 **Ejemplo 11: Éster bencílico del ácido 2-(2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico**



25 Este compuesto se sintetiza siguiendo el protocolo descrito en el ejemplo 3 sustituyendo el éster bencílico del ácido 2-bifenil-4-ilmetil-acrílico por el éster bencílico del ácido 2-(4-bromo-bencil)-acrílico

25 Etapa 1: Éster bencílico del ácido 3-[(1-benciloxicarbonilamino-etil)-hidroxi-fosfinoil]-2-(4-bromo-bencil)-propiónico

30 El compuesto del ejemplo 1 (5,15 g) de configuración R y el compuesto del ejemplo 10 (7,21 g) se ponen en solución en BSA (18 ml) y la mezcla se calienta durante 30h a 75°C. La mezcla de reacción se vuelve a llevar a temperatura ambiente, y se diluye en acetato de etilo. La fase orgánica se lava con agua y después se evapora hasta sequedad. Se obtiene un producto sólido blanco que corresponde a la mezcla de dos diastereoisómeros 1R,2S y 1R/2R en proporciones relativas 65/35. Mediante recristalización en acetonitrilo, se obtiene el isómero 1R,2S con un exceso enantiomérico ee > 97%. Sólido blanco, 3,35 g (42%).

35 RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,2 (3H dd); 1,7-2,2 (2H m); 2,7-3,1 (3H m); 3,8 (1H p); 4,95 (2H dd); 5,05 (2H s); 7,0-7,4 (14H m); 7,55 (1H m).

40 Etapa 2: Ácido 3-((1-aminoetil)-hidroxi-fosfinoil)-2-(4-bromo-bencil)-propiónico

40 A partir de 3,3 g del compuesto de la etapa 1 y siguiendo el protocolo descrito en la etapa 2 del ejemplo 3, se obtiene el compuesto esperado en forma de un sólido blanco, 2,5 g (98%).

45 Etapa 3: Ácido 2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propiónico

45 A partir de 2,5 g del compuesto de la etapa 2 y siguiendo el protocolo descrito en la etapa 3 del ejemplo 3, se obtiene el compuesto esperado. Sólido blanco, 2,6 g.

Masa (M+H)<sup>+</sup>=508-510

50 RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,0-1,5 (12 Hm); 1,7 (2H m); 2,5 (1H m); 2,9 (3H m); 3,8 (1H)m; 6,6 (1H m); 7,1 (2H d); 7,4 (2H d); 7,75 (1H m).

55 Etapa 4: Éster bencílico del ácido 2-(2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico

55 A partir de 1 g del compuesto de la etapa 3 y 388 mg de éster bencílico de alanina, se obtiene siguiendo el protocolo de la etapa 4 del ejemplo 3, el compuesto esperado. Sólido blanco.

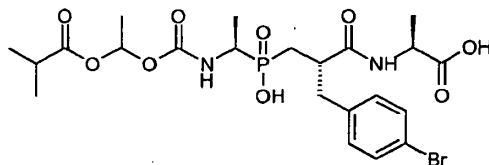
Masa (M+H)<sup>+</sup>=669-671

60 RMN(DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm):1,0-1,3 (6H d); 1,25 (6H m); 1,45 (3H d); 1,6-1,9 (2H m); 2,5 (1H m); 2,7-3,0 (3H m); 3,7 (1H

m); 4,3 (1H m); 5,0 (2H dd); 6,6 (1H m); 7,10 (2H d); 7,3 (4H s, +2H d); 7,5 (1H m), 8,4 (1H dd).

**Ejemplo 12: Ácido 2-(2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico**

5



Etapa 1: Ácido 3-((1-benciloxicarbonilamino-etil)-hidroxi-fosfinoil)-2-(4-bromo-bencil)-propiónico.

10 El compuesto de la etapa 1 del ejemplo 11 (1,2 g) se solubiliza en THF (10 ml) y se añade 0,7 g de NaOH en solución en 5 ml de agua. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 3h. El THF se evapora, la fase acuosa se acidifica a pH=1 con una solución de HCl 1N, y después se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se evapora hasta sequedad. Sólido blanco, 0,9 g (90%).

15 Etapa 2: Éster t-butílico del ácido 2-(3-((1-benciloxicarbonilamino-etil)-hidroxi-fosfinoil)-2-(4-bromo-bencil)-propionilamino)-propiónico.

20 El compuesto de la etapa 1 (0,9 g) se solubiliza en 10 ml de DMF bajo nitrógeno, después se añaden sucesivamente el clorhidrato de alaninato de t-butilo (450 mg), 2,5 ml de DIEA (6 eq.) y 1,98 g de TBTU (3 eq.). La mezcla se agita durante 15 min a temperatura ambiente, después la reacción se trata como en la etapa 4 del ejemplo 3. Se obtiene 1,10 g del producto esperado (97%).

Etapa 3: Ácido 2-(3-((1-amino-etil)-hidroxi-fosfinoil)-2-(4-bromo-bencil)-propionilamino)-propiónico

25 El compuesto obtenido en la etapa 2 se solubiliza en una mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/TFA 50/50 (40 ml) y la mezcla se agita durante 1h a temperatura ambiente. La solución se evapora hasta sequedad, el residuo se recoge en agua y se liofiliza. Se obtiene 1,0 g del compuesto esperado.

30 Éste se solubiliza en una mezcla HBr/AcOH (10 ml) y la solución se agita durante 1h a temperatura ambiente. La mezcla se evapora después bajo presión reducida. El residuo se recoge en agua y se liofiliza. Se obtienen 930 mg del producto esperado.

Etapa 4: Ácido 2-(2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico

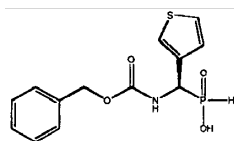
35 El compuesto anterior se solubiliza en 15 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Se añade 0,76 g de isobutiloxietilsuccinimidilo carbonato y 1,87 ml de DIEA y la mezcla se agita durante 1h a temperatura ambiente. La mezcla se lava después con H<sub>2</sub>O y con una solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora hasta sequedad. El producto bruto se purifica mediante CLHP.

40 CLHP (columna C18 ACE, disolvente CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA) /H<sub>2</sub>O (0,1%TFA) 40 /60) Ta 8,66 mn.

ESI: (M+H)<sup>+</sup>= 578-580

45 RMN (DMSO d<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,0 (6H d); 1,1 (3H m); 1,2 (3H d); 1,35 (3H d); 1,6-1,9 (2H m); 2,5 (1H m); 2,7-2,9 (3H m); 3,7 (1H m); 4,1 (1H m); 6,6 (1H m); 7,1 (2H d); 7,4 (2H,d); 7,6 (1H dd); 8,2 (1H dd).

**Ejemplo 13: Ácido (R)-(benciloxicarbonilamino)(tiofen-3-il)metil-fosfínico**



50

Etapa 1: Ácido (benciloxicarbonilamino)(tiofen-3-il)metilfosfínico

55 Una mezcla de 20,0 g (80 mmoles) de ortofosfato de difenilmetilamina en 60 ml de etanol anhidro se lleva a reflujo bajo agitación. Se añaden 160,0 mmoles de 3-tiofencarboxaldehído en solución en 19 ml de etanol, gota a gota en 30 min.

Se continúa la reacción mediante CLHP. Después de 2,5h, la reacción se vuelve a llevar a temperatura ambiente. Una mezcla Et<sub>2</sub>O/Acetona (60 ml) se añade a la mezcla. El precipitado blanco obtenido se filtra, se lava con agua (2x50 ml) y con acetona (2x50 ml) y después se seca. Sólido blanco, 15,4 g (56%).

5 Etapa 2: Aminoácido(tiofen-3-il)metilfosfínico

Una mezcla de 15 g del compuesto de la etapa 1 y de 122 ml de HCl 6N se lleva a reflujo durante 2h. Después del enfriamiento, el medio de reacción se concentra a la mitad y después se extrae con 3x1,5 l de éter etílico. La solución se evapora hasta sequedad y el residuo oleoso se recoge con 120 ml de etanol. La solución se enfría a 0°C y se añaden 30 ml de óxido de propileno. Un sólido blanco precipita. El precipitado se escurre, se lava con etanol (2x20 ml), con éter etílico (2x10 ml) y se seca. Sólido blanco, 7,32 g (95,1%).

RMN (1H) DMSO d<sub>6</sub> δ (ppm): 4,92 (1H dd); 6,77 (1H, d); 7,10-7,50 (3H, m); 8,23 (3H m).

15 Etapa 3: Ácido (benciloxycarbonilamino)(tiofen-3-il)metilfosfínico

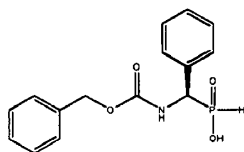
El compuesto de la etapa 2 se pone en suspensión en 25 ml de dioxano. El pH se ajusta a 9,5 mediante adición de sosa (23 ml). Se añaden 6,46 ml de cloroforniato de bencilo bajo agitación. Después de 3h a 0°C, la mezcla se deja volver a temperatura ambiente y se vierte sobre una mezcla de hielo (1L) y de HCl concentrado (30 ml). El precipitado blanco formado se escurre, se lava con agua (2x20 ml) y se seca. Sólido blanco, 7,09 g (47%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18), Rt: 12,19 mn.

La resolución del ácido fosfínico racémico se efectúa por recristalización de la sal obtenida con la (R)(+)-metilbencilamina, como se describe en Baylis *et al.* (J. Chem. Soc. Perkin Trans I 1984, 2845) en una mezcla acetato de etilo/isopropanol = 3,5/1. Sólido blanco, 1,42 g (27%).

RMN (1H) DMSO d<sub>6</sub> δ (ppm): 4,92 (1H dd); 5,05 (2H, s); 6,77 (1H, d); 7,10-7,50 (8H, m); 8,20 (1H, d).

30 **Ejemplo 14: Ácido (R)-(benciloxycarbonilamino)(fenil)metilfosfínico**



35 Etapa 1: Ácido (bencililamino)(fenil)metilfosfínico

Una mezcla de 24,95 g (100 mmoles) de orto-fosfato de difenilmetilamina en 75 ml de etanol anhidro se lleva a reflujo bajo agitación. Se añaden 200 mmoles de benzaldehído en solución en 24 ml de etanol, gota a gota en 30 min. Se continúa la reacción mediante CLHP. Después de 2,5h, la reacción se vuelve a llevar a temperatura ambiente. Una mezcla Et<sub>2</sub>O/acetona (75 ml) se añade a la mezcla. El precipitado blanco obtenido se filtra, se lava con agua (2x60 ml) y con acetona (2x60 ml) y después se seca. Sólido blanco, 20,2 g (60,1%).

Etapa 2: Ácido amino(fenil)metilfosfínico

Una mezcla de 20 g del compuesto de la etapa 1 y de 160 ml de HCl 6N se lleva a reflujo durante 2h. Después del enfriamiento, el medio de reacción se concentra a la mitad y después se extrae con 3x1,5 l de éter etílico. La solución se evapora hasta sequedad y el residuo oleoso se recoge con 160 ml de etanol. La solución se enfría a 0°C y se añaden 40 ml de óxido de propileno. Un sólido blanco precipita. El precipitado se escurre, se lava con etanol (2x20 ml), con éter etílico (2x10 ml) y se seca. Sólido blanco, 7,25 g (95,3%).

RMN (1H) DMSO d<sub>6</sub> δ (ppm): 4,92 (1H dd); 6,77 (1H, d); 7,10-7,50 (5H, m); 8,23 (3H, m).

Etapa 3: Ácido (benciloxycarbonilamino)(fenil)metilfosfínico

El compuesto de la etapa 2 se pone en suspensión en 25 ml de dioxano. El pH se ajusta a 9,5 mediante adición de sosa (23 ml). Se añaden, bajo agitación, 6,46 ml de cloroforniato de bencilo. Después de 3h a 0°C, la mezcla se vuelve a llevar a temperatura ambiente y se vierte sobre una mezcla de hielo (1L) y de HCl concentrado (30 ml). El precipitado blanco formado se escurre, se lava con agua (2x20 ml) y se seca. Sólido blanco, 11,44 g (88,5%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 40/60, columna Kromasil C18), Ta 3,90 mn.

La resolución del ácido fosfínico racémico se efectúa por recristalización de la sal obtenida con la (R)(+)-α-

metilbencilamina, como se describe en Baylis *et al.* (J. Chem. Soc. Perkin Trans I 1984, 2845) en una mezcla acetato de etilo/isopropanol = 3,5/1. Sólido blanco, 3,9 g (34,0%)

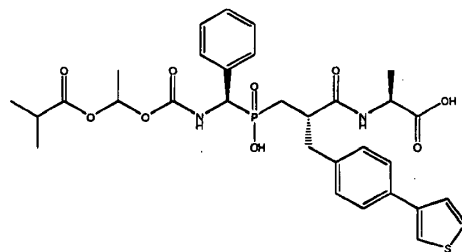
RMN (1H) CDCl<sub>3</sub> δ (ppm): 4,92 (1H dd); 5,0 (2H, s); 6,77 (1H, d); 7,10-7,50 (10H, m); 8,31 (1H, d).

#### Ejemplo 15: Éster metílico del ácido 2-(4-tiofen-3-il-bencil)-acrílico

Este compuesto se sintetiza siguiendo el protocolo descrito para la síntesis del ácido 2-Bifenil-4-ilmetil-acrílico (ejemplo 2) sustituyendo el bifenil-4-il-acetaldehído por el 4-bromobenzaldehído. Sólido blanco (48,0%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18) Rt = 11,28 mn.

#### Ejemplo 16: Ácido 2-[2-(Hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-fenil-metil]-fosfinoilmetil)-3-(4-tiofen-3-il-fenil)-propionilamino]-propiónico



Este compuesto se sintetiza siguiendo el protocolo descrito en el ejemplo 3 sustituyendo el éster bencílico del ácido 2-bifenil-4-ilmetil-acrílico por el éster metílico del ácido 2-(4-tiofen-3-il-bencil)-acrílico (ejemplo 15).

#### Etapa 1: Éster etílico del ácido 3-[(1-benciloxicarbonilamino-etil)-hidroxi-fosfinoil]-2-(4-Tiofen-3-il-bencil)-propiónico

El compuesto del ejemplo 14 (15,42 g; 1,2 eq.) de configuración R y el compuesto del ejemplo 15 (13,82 g; 1,0 eq.) se ponen en solución en BSA (50 ml) y la mezcla se calienta durante 15h a 75°C. La mezcla de reacción se vuelve a llevar a temperatura ambiente, y se diluye en acetato de etilo. La fase orgánica se lava con agua y después se evapora hasta sequedad. Se obtiene un producto sólido blanco que corresponde a la mezcla de los dos diastereoisómeros 1R,2S y 1R,2R en proporciones relativas 65/35. Sólido blanco, 17,26 g (68%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18) Rt = 6,51 mn.

RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm) 1,50 (3H, t), 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12; (2H, m), 3,68 (3H, s); 3,78 (1H, qt); 4,50 (2H, q); 4,90 (1H, m); 5,20 (2H, s); 7,12-8,15 (17 H arom. +NH, m).

#### Etapa 2: Bromhidrato del éster etílico del ácido (R)-amino(fenil)metil-3-etoxi-3-oxo-2-(4-(tiofen-3-il)bencil)propil)fosfínico

Se solubilizan 17,86 g del compuesto de la etapa 1 en 180 ml de HBr al 48% en AcOH. La mezcla se agita durante 1h a temperatura ambiente y la mezcla se evapora bajo presión reducida para dar el producto en estado bruto en forma de aceite (100%)

RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm) 1,50 (3H, t); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12, (2H, m); 3,68 (3H, s); 3,78 (1H, qt); 4,50 (2H, q); 4,90 (1H, m); 5,20 (2H, s); 7,12-8,0 (12 H, m); 8,15 (3H, m).

#### Etapa 3: Éster etílico del ácido (R)-(terc-butoxicarbonilamino)(fenil)metil((S)-3-etoxi-3-oxo-2-(4-(tiofen-3-il)bencil)propil)fosfínico

El compuesto de la etapa 2 (30,9 mmoles) se solubiliza en 300 ml de DMF. A esta solución, se añaden Et<sub>3</sub>N (35 ml, 250 mmoles, 8 eq.) y Boc<sub>2</sub>O (6,75 g, 1 eq.) en 50 ml de DMF. La mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente. El DMF se evapora bajo presión reducida y la mezcla se recoge con AcOEt. La fase orgánica se lava con una solución de ácido cítrico al 10%, una solución de NaHCO<sub>3</sub> al 10%, una solución de NaCl sat., secada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y concentrada bajo presión reducida para dar 15,16 g de producto (90,2%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18) Rt = 5,42 mn.

RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm) 1,50 (3H, t); 1,45 (9H, s); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12, (2H, m); 3,78 (1H, qt); 4,50 (2H, q); 4,90 (1H, m); 7,12-8,0 (12 H aromático + NH, m).

Etapa 4: Ácido 3-(((R)-(terc-butoxicarbonilamino)(fenil)metil)(hidroxi)fosforil)-2-(4-(tiofen-3-il)bencil)propanoico

El compuesto de la etapa 3 (15,16 g; 27,88 mmoles) se solubiliza en 280 ml de acetona y después se añade NaOH 1N (278,8 ml, 10 eq.) gota a gota. La mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente y después se evapora la acetona bajo presión reducida. La mezcla se recoge con AcOEt. La fase acuosa se extrae y después se acidifica con HCl 1N. La fase acuosa se extrae entonces con AcOEt. La fase orgánica se lava después con H<sub>2</sub>O, NaCl sat., se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora bajo presión reducida para dar 13,73 g de aceite (95%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50, columna Kromasil C18) Rt = 11,40 mn.

RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm) 1,45 (9H, s); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12, (2H, m); 3,78 (1H, qt); 4,90 (1H, m); 7,12-8,0 (12 H aromático + NH, m).

Etapa 5: Éster metílico del ácido (R)-(terc-butoxicarbonilamino)(fenil)metil((S)-3-((S)-1-metoxi-1-oxopropan-2-ilamino)-3-oxo-2-(4-(tiofen-3-il)bencil)propil)fosfínico

A partir de 150 mg del compuesto de la etapa 4 y 52 mg de éster metílico de alanina, se obtiene, siguiendo el protocolo de la etapa 4 del ejemplo 3, el compuesto esperado. El diastereoisómero esperado se obtiene mediante purificación por CLHP semipreparativa sobre columna Kromasil C18 con CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50 como sistema de elución. Sólido blanco: 50 mg (30,0%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30, columna Kromasil C18) Rt = 6,0 mn.

RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,10-1,50 (12H, m); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12, (3H, m); 3,48 (3H, s); 3,78 (1H, qt); 4,25 (1H, d); 4,90 (1H, m); 7,12-7,81 (12 H + NH, m); 8,5 (1H, d).

Etapa 6: Ácido (R)-(terc-butoxicarbonilamino)(fenil)metil((S)-3-((S)-1-metoxi-1-oxopropan-2-ilamino)-3-oxo-2-(4-(tiofen-3-il)bencil)propil)fosfínico

Se ponen en solución 50 mg del compuesto de la etapa 5 en 2 ml de acetona. Se añaden 800 µl de NaOH 1N (10 eq.) y la mezcla se agita durante 2,5 h a temperatura ambiente, después se evapora la acetona bajo presión reducida. La mezcla se recoge con AcOEt. La fase acuosa se extrae y después se acidifica con HCl 1N. La fase acuosa se extrae entonces con AcOEt. La fase orgánica se lava después con H<sub>2</sub>O, NaCl sat., se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora bajo presión reducida para dar 48 mg (98%). CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50, columna Kromasil C18) Rt = 7,91 mn.

RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,10-1,50 (12H, m); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12, (3H, m); 3,78 (1H, qt); 4,25 (1H, d); 4,90 (1H, m); 7,12-7,81 (12 H +NH, m); 8,5 (1H, d).

Etapa 7: Trifluoroacetato del ácido (2S)-2-((2S)-3-(((R)-amino(fenil)metil)(hidroxi)fosforil)-2-(4-(tiofen-3-il)bencil)propanamido)propanoico

Se ponen en solución 48 mg del compuesto de la etapa 6 en 4 ml de DCM. Se añaden 60 µl de ácido trifluoroacético y la mezcla se agita durante 45 min a 0°C. La mezcla se evapora bajo presión reducida para dar 49 mg (100%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50, columna Kromasil C18) Rt = 2,60 mn.

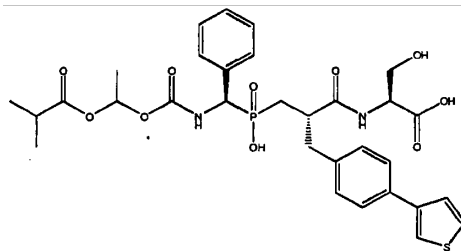
RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,20 (3H, d); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12, (3H, m); 3,78 1H (qt.); 4,25 (1H, d); 4,90 (1H, m); 7,12-7,81 (12H, m); 8,4 (1H, d); 8,7 (3H, m).

Etapa 8: Ácido 2-[2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-fenil-metil]-fosfinoilmetil}-3-(4-tiofen-3-il-fenil)-propionilamino]-propiónico

El compuesto anterior se solubiliza en 1 ml de CH<sub>3</sub>CN y después se añaden 340 µl de NaHCO<sub>3</sub> 2N y 34 mg de isobutiloxietilsuccinimida carbonato (1,2 eq.), la mezcla se agita durante 1h a 60°C. La mezcla se recoge con acetato de etilo y después se lava con H<sub>2</sub>O y con una solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora hasta sequedad. El producto bruto se purifica mediante CLHP.

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 38/62, columna Atlantis T3) Rt = 10,52 mn.

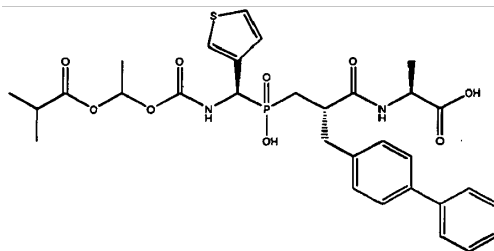
RMN (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,0-1,3 (6H d); 1,20 (3H, d); 1,25 (3H, d); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12, (3H, m); 3,78 1H (qt.); 4,25 (1H, d); 4,90 (1H, m); 6,64 (1H m); 7,12-7,81 (13H, m); 8,28 (1H, d).

**Ejemplo 17: Ácido 2-[2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-fenil-metil]-fosfinoilmetil}-3-(4-tiofen-3-il-fenil)-propionilamino]-3-hidroxi-propiónico**

5 Este compuesto se sintetiza siguiendo el protocolo descrito en el ejemplo 16, sustituyendo el éster metílico de alanina por el éster metílico de serina (O-tBu).

10 CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 38/62, columna Atlantis T3) Rt = 10,02 mn.

15 RMN (DMSOd6) δ (ppm): 1,0-1,3 (6H, d); 1,20 (3H, d); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12, (3H, m); 3,40-3,60 (2H, m); 3,78 (1H, qt); 4,25 (1H, d); 4,90 (1H, m); 6,64 (1H m); 7,12-7,81 (13H, m); 8,28 (1H, d).

**Ejemplo 18: Ácido 2-(3-bifenil-4-il-2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-tiofen-3-il-metil]-fosfinoilmetil}-propionilamino)-propiónico**Etapa 1: 3-(((R)-(benciloxicarbonilamino)(tiofen-3-il)metil)(hidroxi)fosforil)-2-(bifenil-4-ilmetil)propanoico

20 El compuesto del ejemplo 13 (660 mg; 1,0 eq.) de configuración *R* y el compuesto del ejemplo 2, etapa 2 (642 mg; 1,2 eq.) se ponen en solución en BSA (5 ml) y la mezcla se calienta durante 15h a 75°C. La mezcla de reacción se vuelve a llevar a temperatura ambiente, y se diluye en acetato de etilo. La fase orgánica se lava con agua y después se evapora hasta sequedad. Se obtiene un producto sólido blanco que corresponde a la mezcla de los dos diastereoisómeros de configuración respectiva *1R,2S* y *1R,2R* en proporciones relativas 65/35. Sólido blanco, 1,4 g (100%).

25 RMN (DMSOd6) δ (ppm): 1,60-2,00 (2H, m); 2,78-3,12, (2H, m); 3,78 (1H, qt); 4,90 (1H, m); 5,20 (2H, s); 7,12-8,15 (17 H arom. +NH, m).

Etapa 2: Ácido (R)-(benciloxicarbonilamino)(tiofen-3-il)metil(2-(bifenil-4-ilmetil)-3-((S)-1-metoxi-1-oxopropan-2-ilamino)-3-oxopropil)fosfínico

30 A partir de 2,12 mmoles del compuesto de la etapa 1 y 2,75 mmoles de éster metílico de alanina, se obtiene, siguiendo el protocolo de la etapa 4 del ejemplo 3, el compuesto esperado. Sólido blanco: 1,40 g (90,0%).

35 RMN (DMSOd6) δ (ppm): 1,25-1,40 (3H, m); 1,60-2,00 (2H, m); 2,78-3,12, (2H, m); 3,40 (3H, s); 3,78 (1H, qt); 4,25 (1H, m); 4,90 (1H, m); 5,20 (2H, s); 7,12-8,15 (17 H arom. +NH, m).

Etapa 3: Ácido 2-{2-[(benciloxicarbonilamino)-tiofen-3-il-metil]-hidroxi-fosfinoilmetil}-3-bifenil-4-il-propionilamino)-propiónico

40 Se ponen en solución 100 mg del compuesto de la etapa 2 en 4 ml de acetona. Se añade 1,6 ml de NaOH 1N (10 eq.), y la mezcla se agita durante 2,5h a temperatura ambiente, después se evapora la acetona bajo presión reducida. La mezcla se recoge con AcOEt. La fase acuosa se extrae y después se acidifica con HCl 1N. La fase acuosa se extrae entonces con AcOEt. La fase orgánica se lava después con H<sub>2</sub>O, NaCl sat., se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora bajo presión reducida para dar 98 mg (98%).

45 RMN (DMSOd6) δ (ppm): 1,25-1,40 (3H, m); 1,60-2,00 (2H, m); 2,78-3,12, (2H, m); 3,78 (1H, qt); 4,25 (1H, m); 4,90 (1H, m); 5,20 (2H, s); 7,12-8,15 (17 H arom. +NH, m).

Etapa 4: Trifluoroacetato del ácido (2S)-2-((2S)-3-(((R)-amino(tiofen-3-il)metil)(hidroxi)fosforil)-2-(bifenil-4-ilmetil)propanamido)propanoico

5 El compuesto de la etapa 3 se pone en solución en 4 ml de HBr al 48% en solución en el ácido acético. La mezcla se agita durante 2h a temperatura ambiente. La mezcla se evapora bajo presión reducida y el residuo se purifica mediante CLHP semipreparativa sobre columna Kromasil C18 con CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50 como sistema de elución. Sólido blanco: 28 mg (57,1%).

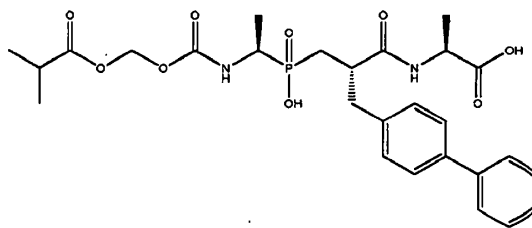
10 RMN (DMSOd6) δ (ppm): 1,25-1,40 (3H, m); 1,60-2,00 (2H, m); 2,78-3,12, (2H, m); 3,78 (1H, qt); 4,25 (1H, m); 4,90 (1H, m); 7,12-8,15 (12 H, m); 8,50 (3H, m).

Etapa 5: Ácido 2-(3-bifenil-4-il-2-{hidroxi-[(1-isobutililoxi-etoxicarbonilamino)-tiofen-3-il-metil]-fosfinoilmetil}-propionilamino)-propiónico

15 El compuesto anterior se solubiliza en 1 ml de CH<sub>3</sub>CN y 195 µl de NaHCO<sub>3</sub> 2N, después se añaden 20 mg de isobutiloxietilsuccinimida carbonato (1,2 eq.). La mezcla se agita durante 1h a 60°C. La mezcla se recoge con acetato de etilo y después se lava con H<sub>2</sub>O y con una solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora hasta sequedad. El producto bruto se purifica mediante CLHP.

20 CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 38/62, columna Atlantis T3) Rt = 10,42 mn.

25 RMN (DMSOd6) δ (ppm): 1,0-1,3 (6H d); 1,20 (3H, d); 1,25 (3H, d); 1,80-2,20 (2H, m); 2,80-3,20, (3H, m); 3,75 1H (qt.); 4,25 (1H, d); 4,90 (1H, m); 6,65 (1H m), 7,10-7,80 (13H, m); 8,28 (1H, d).

**Ejemplo 19: Ácido 2-{3-bifenil-4-il-2-[hidroxi-(1-isobutililoximetoxicarbonilamino-etil)-fosfinoilmetil]-propionilamino}-propiónico**Etapa 1: Ácido 2-[(1-benciloxycarbonilamino-etil)-hidroxi-fosfinoilmetil]-3-bifenil-4-il-propiónico

35 El compuesto de la etapa 1 del ejemplo 3 (1,2 g) se solubiliza en el THF (10 ml) y se añaden 0,7 g de NaOH en solución en 5 ml de agua. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 3h. El THF se evapora, la fase acuosa se acidifica a pH=1 con una solución de HCl 1N, y después se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se evapora hasta sequedad. Sólido blanco, 0,9 g (90%). CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 38/62, columna ACE C18) Rt = 17,16 mn.

40 RMN 1H (DMSOd6): δ (ppm) 1,26 (3H, dd); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12(3H, m); 3,78 (1H, qt); 5,20 (2H, q); 7,12-7,68 (14H arom. +NH (m).)

Etapa 2: Éster t-butílico del ácido 2-{2-[(1-benciloxycarbonilamino-etil)-hidroxi-fosfinoilmetil]-3-bifenil-4-il-propionilamino}-propiónico

45 El compuesto de la etapa 1 (0,9 g) se solubiliza en 10 ml de DMF bajo nitrógeno, después se añaden sucesivamente el clorhidrato de alaninato de t-butilo (450 mg), 2,5 ml de DIEA (6 eq.) y 1,98 g de TBTU (3 eq.). La mezcla se agita durante 15 min a temperatura ambiente, después la reacción se trata como en la etapa 4 del ejemplo 3. Se obtienen 1,10 g del producto esperado (97%).

50 CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50, columna ACE C18) Rt = 11,93 mn.

RMN 1H (DMSOd6): δ (ppm) 1,15-1,35 (6H, m); 1,42 (9H, s); 1,81-2,16 (2H, m); 2,78-3,12(3H, m); 3,78 (1H, qt); 4,22 (1H, q); 5,20 (2H, q); 7,12-7,68 (14H arom. +NH (m).

Etapa 3: Ácido 2 (2S)-2-((2S)-3-(((R)-1-aminoetil)(hidroxi)fosforil)-2-(bifenil-4-ilmetil)propanamido)propanoico

El compuesto obtenido en la etapa 2 se solubiliza en una mezcla HBr/AcOH (10 ml) y la solución se agita durante 1h a temperatura ambiente. La mezcla se evapora después bajo presión reducida. El residuo se recoge en agua y se liofiliza. Se obtienen 930 mg del producto esperado (100%).



CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50, columna ACE C18) Rt = 11,93 mn.

RMN 1H (DMSO d<sub>6</sub>): δ (ppm) 1,15-1,35 (6H, m), 1,42 (9H, s), 1,81-2,16 (2H, m), 2,78-3,12(3H, m), 3,78 (1H, qt), 4,22 (1H, q), 5,20 (2H, q), 7,12-7,68 (14H arom. +NH (m).

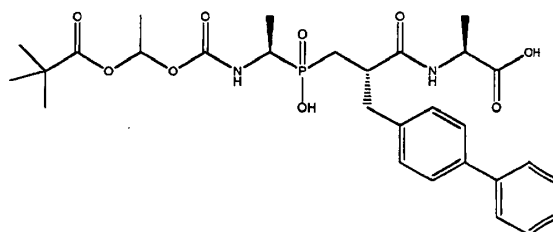
**Etapa 4: Ácido 2-{3-bifenil-4-il-2-[hidroxi-(1-isobutiriloximetoxicarbonilamino-etil)-fosfinoilmetil]-propionilamino}-propiónico**

Se solubilizan 300 mg del compuesto de la etapa 3 en 2 ml de CH<sub>3</sub>CN y 2ml de NaHCO<sub>3</sub> 2N, después se añaden 186 mg de isobutiloxisuccinimida carbonato (1,2 eq.). La mezcla se agita durante 1h a 60°C. La mezcla se recoge con acetato de etilo y se lava con H<sub>2</sub>O y con una solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora hasta sequedad. El producto bruto se purifica mediante CLHP para dar 170 mg del producto deseado (50,5%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 38/62, columna Atlantis T3) Rt = 8,15 mn.

RMN (DMSO d<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,0-1,3 (6H, d); 1,25 (3H, dd); 1,45 (3H, d); 1,6-1,9 (2H, m); 2,5 (1H, m); 2,7-3,0 (3H, m); 3,7 (1H, m); 4,3 (1H, m); 5,65 (2H, s); 7,10-7,80 (9H, m); 8,4 (1H dd).

**Ejemplo 20: Ácido 1-(1-{[3-bifenil-4-il-2-(1-carboxi-etilcarbamoil)-propil]-hidroxi-fosfinoil}-etilcarbamoiloxi)-etilo del ácido 2-dimetil-propiónico**

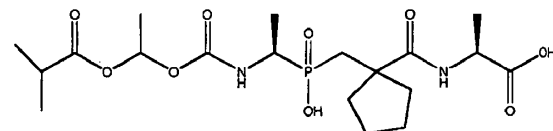


Se solubilizan 394 mg del compuesto de la etapa 3, ejemplo 19, en 2 ml de CH<sub>3</sub>CN y 2ml de NaHCO<sub>3</sub> 2N, después se añaden 272 mg de isobutiloxisuccinimida carbonato (1,2 eq.) y la mezcla se agita durante 1h a 60°C. La mezcla se recoge con acetato de etilo, se lava con H<sub>2</sub>O y con una solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora hasta sequedad. El producto bruto se purifica mediante CLHP para dar 330 mg del producto deseado (71,6%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 38/62, columna Atlantis T3) Rt = 16,93 y 18,41 mn.

RMN (DMSO d<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,20 (9H, d); 1,25 (3H, dd); 1,45 (3H, d); 1,6-1,9 (2H, m); 2,5 (1H, m); 2,7-3,0 (3H, m); 3,7 (1H, m); 4,3 (1H, m); 6,6 (1H, m); 7,10-7,80 (9H, m); 8,4 (1H dd).

**Ejemplo 21: Ácido 2-[(1-{[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil}-ciclopentanocarbonil)-amino]-propiónico**



**Etapa 1: Éster t-butílico del ácido ciclopentanoico**

El ácido ciclopentanoico (15 g, 0,131 mol), tBuOH (2,1 ml) y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (750 μl) se colocan en un frasco de paredes gruesas. Se añaden entonces aproximadamente 150 ml de isobutileno condensado a -78°C. El frasco se cierra, se vuelve a llevar a temperatura ambiente y se agita 4 noches a temperatura ambiente.

Después de la evaporación del exceso de isobutileno, la mezcla se recoge en Et<sub>2</sub>O y se lava con NaHCO<sub>3</sub> al 10%. La fase orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra bajo presión reducida para dar 12,03 g del producto esperado (Rendimiento: 80,6%).

RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 1,40 (9H, d); 1,45-1,90 (8H, m); 2,55 (1H, m).

Etapa 2: Éster t-butilico del ácido 1-(hidroximetil)ciclopentanocarboxílico.

5 A una solución a 0°C de  $iPr_2NH$  (7,91 ml, 56,11 mmoles) en THF (190 ml) se añade  $nBuLi$  en hexano (2,5 M, 23,3 ml, 58,17 mmoles, 1,04 eq.). Después de 30 min, la mezcla se enfría hasta -78°C y se añade una solución del compuesto de la etapa 1 (9,54 g, 56,11 mmoles) en 25 ml de THF bajo nitrógeno en 30 min. La mezcla se agita durante 1h a -78°C y después se añade el paraformaldehído (5 eq., 8,37 g), y la mezcla se agita durante 1h a -78°C y después durante 12h a temperatura ambiente.

10 Se añaden 190 ml de una solución de  $NH_4Cl$  sat., y la mezcla se extrae con  $AcOEt$  (2x200 ml). La fase orgánica se lava con  $HCl$  1N,  $NaCl$  sat., se seca sobre  $Na_2SO_4$  y se concentra bajo presión reducida para dar el producto deseado (Rendimiento: 60%).

RMN ( $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm): 1,40 (9H, d); 1,45-1,90 (8H, m); 3,50 (2H, s).

15 CLHP Atlantis T3 4,6 x 100 mm, 3  $\mu m$ , gradiente de  $CH_3CN$  (0,1% TFA)/ $H_2O$  (0,1% TFA) 10 al 90% de  $CH_3CN$  en 30 min, Rt: 12,43 mn.

Etapa 3: (1R)-1-(metoxihidrofosforil)etilcarbamato de bencilo

20 Bajo nitrógeno, el compuesto de la etapa 2, ejemplo 3 (6 g, 24,67 mmoles) se solubiliza en una mezcla  $MeOH$ /tolueno. Una solución de trimetilsilildiazometano se añade gota a gota hasta que la coloración persiste (lo que corresponde al final de la emisión de gas). La mezcla se agita durante 1h a temperatura ambiente y después se evapora el tolueno bajo presión reducida. La mezcla se extrae por  $AcOEt$ . La fase orgánica se lava con  $NaHCO_3$  al 10%,  $NaCl$  sat., se seca sobre  $Na_2SO_4$  y se concentra bajo presión reducida para dar 5,75 g del producto deseado (Rendimiento: 90,7%).

25 RMN ( $DMSO-d_6$ )  $\delta$  ppm: 1,20-1,35 (3H, m); 3,60 (2H, m); 3,70-4,10 (1H, m); 5,05 (2H, d); 6,90 (1H, m); 7,20-7,50 (5H, m); 7,75 (1H, m).

30 CLHP Atlantis T3 4,6 x-100mm, 3 $\mu m$ ,  $CH_3CN$  (0,1% TFA)/ $H_2O$  (0,1% TFA) 30 a  $CH_3CN$  en 30 min, Rt: 4,30 y 4,48 mn.

Etapa 4: Éster terc-butílico del ácido 1-((trifluorometilsulfonilo)metil)ciclopentanoico.

35 Una mezcla de piridina de 6,80 ml (84,2 mmoles) y de 50 ml de diclorometano se enfría hasta -78°C bajo nitrógeno. Una solución de anhídrido triflico, 6,80 g, (24,14 mmoles) en 7 ml de  $CH_2Cl_2$  se añade con la ayuda de una ampolla de bromo. Después de 10 min., se añade gota a gota una solución de 3,4 g del compuesto de la etapa 2 (17 mmoles) en 14 ml de  $CH_2Cl_2$ . La mezcla se agita durante 30 min a -78°C y después se vuelve a llevar hasta temperatura ambiente. Se añaden 300 ml de hexano. La fase orgánica se lava con  $HCl$  1N,  $H_2O$ ,  $NaCl$  sat., se seca sobre  $Na_2SO_4$  y se concentra bajo presión reducida para dar 5,67 g del producto deseado (Rendimiento: 100%) utilizado tal cual para la etapa siguiente.

40 RMN ( $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm): 1,40 (9H, d); 1,45-1,90 (8H, m); 4,65 (2H, s).

Etapa 5: Ácido 1-(((R)-1-(benciloxycarbonilamino)etil)(hidroxi)fosforil)metil)ciclopentanocarboxílico.

50 Una solución de  $iPr_2NH$  (2,19 ml, 15,64 mmoles) en THF (17 ml) se enfría a 0°C, después se añaden 6,23 ml de  $nBuLi$  2,5 M en hexano (15,64 mmoles, 1,04 eq.). Después de 15 min, la mezcla se enfría hasta -78°C y se añade una solución del compuesto de la etapa 3 (3,64 g, 14,16 mmoles) en 28 ml de THF, bajo nitrógeno, con el fin de mantener la temperatura inferior a -60°C. La mezcla se agita durante 10 min a -78°C y después se añade el compuesto de la etapa 4 (17 mmoles) en 15 ml de THF y la mezcla se agita durante 15 min a -78°C y después durante 4h a temperatura ambiente.

55 Se diluye la mezcla con  $AcOEt$ . La fase orgánica se lava con  $HCl$  1N,  $NaHCO_3$  al 10%,  $NaCl$  sat., se seca sobre  $Na_2SO_4$  y se concentra bajo presión reducida.

60 El producto bruto obtenido se pone en solución en 10 ml de  $CH_2Cl_2$  y se añaden 3,2 ml de TFA. La mezcla se agita durante 2h a 0°C. Después de la evaporación hasta sequedad, el producto esperado se purifica mediante CLHP semipreparativa sobre columna ACE C18,  $CH_3CN$  (0,1% TFA)/ $H_2O$  (0,1% TFA) 40/60 para dar 120 mg del producto puro (Rendimiento: 29,4%). RMN ( $DMSO-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,20-1,35 (3H, m); 1,50-2,20 (10H, m); 3,75 (1H, q); 5,05 (2H, d); 5,05 (2H, d); 7,20-7,60 (6H, m).

CLHP ACE C18 4,6x250mm, 5  $\mu m$ ,  $CH_3CN$  (0,1% TFA)/ $H_2O$  (0,1% TFA) 40/60, Rt: 5,57 mn.

Etapa 6: Ácido (R)-1-(benciloxicarbonilamino)etil(((S)-1-terc-butoxi-1-oxopropan-2-ilcarbamoil)ciclopentil)metil fosfínico.

El compuesto de la etapa 5 (0,118 g, 0,319 mmol) se solubiliza en 2 ml de DMF bajo nitrógeno, después se añaden sucesivamente el clorhidrato de alaninato de t-butilo (70 mg), 279  $\mu$ l de DIEA (5 eq.) y 308 mg de TBTU (3 eq.). La mezcla se agita durante 15 min a temperatura ambiente, después la reacción se trata como en la etapa 4 del ejemplo 3. Se obtienen 111 mg del producto esperado (70,3%).

CLHP (CH<sub>3</sub>CN (0,1% TFA)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50, columna ACE (C18) Rt = 7,71 mn.

RMN 1H (DMSOd6)  $\delta$  (ppm): 1,15-1,35 (6H, m); 1,42 (9H, s); 1,40-2,20 (10H, m); 3,85 (1H, q); 4,15 (1H, q); 5,05 (2H, s); 7,1-7,45 (5H, m); 7,90 (1H, d).

Etapa 7: Trifluoroacetato del ácido (2S)-2-(1-(((R)-1-aminoetil)(hidroxi)fosforilmetil)-ciclopentanocarboxamido)propiónico

El compuesto obtenido en la etapa 6 se solubiliza en una mezcla HBr/AcOH (2 ml) y la solución se agita durante 1h a temperatura ambiente. La mezcla se evapora después bajo presión reducida. El producto se purifica mediante CLHP semi-preparativa sobre columna ACE C18 con un gradiente del 0 al 60% de CH<sub>3</sub>CN en 30 min de una mezcla CH<sub>3</sub>CN (0,1%TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) para dar 57,2 mg del producto esperado (Rendimiento: 61,9%). CLHP ACE C18 gradiente del 0 al 60% de CH<sub>3</sub>CN en 30 min de una mezcla CH<sub>3</sub>CN (0,1%)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) Rt: 9,97 mn

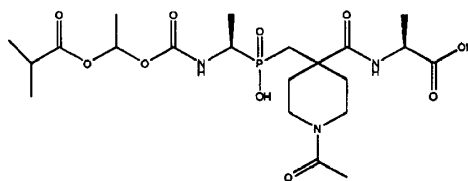
RMN 1H (DMSOd6)  $\delta$  (ppm): 1,15-1,35 (6H, m); 1,50-2,20 (10H, m); 3,40 (1H, q); 4,25 (1H, q); 7,85 (1H, d); 8,10 (3H, m).

Etapa 8: Ácido 2-[(1-{Hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil}-ciclopentanecarbonil)-amino]-propiónico ácido

Se solubilizan 55 mg del compuesto de la etapa 7 en 1 ml de CH<sub>3</sub>CN y 366  $\mu$ l de NaHCO<sub>3</sub> 2N. Se añaden 35 mg de isobutiloxisuccinimida carbonato (1,2 eq.), la mezcla se agita durante 1h a 60°C. La mezcla se recoge después con acetato de etilo, se lava con H<sub>2</sub>O y con una solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora hasta sequedad. El producto bruto se purifica mediante CLHP para dar 45 mg del producto esperado (71,4%).

CLHP ACE C18 CH<sub>3</sub>CN (0,1%)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 70/30 Rt: 4,53 mn.

RMN 1H (DMSOd6)  $\delta$  (ppm): 1,10-2,20 (19H, m); 3,40 (1H, q); 3,7 (1H, m); 4,25 (1H, q); 6,20 (m, 1H); 7,85 (1H, d); 8,4 (1H, dd).

**Ejemplo 22: Ácido 2-[(1-acetil-4-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil}-piperidin-4-carbonil)-amino]-propiónico**Etapa 1: Éster t-butílico del ácido 1-acetilpiperidin-4-carboxílico

El ácido 1-acetilpiperidin-4-carboxílico (2,97 g), puesto en suspensión en 25 ml de una mezcla THF/tolueno, se calienta a 85°C bajo corriente de nitrógeno. El N,N-dimetilformamida dit-butilacetil (25 ml, 6 eq.) se añade gota a gota y se mantiene el calentamiento durante 30 min. La mezcla se evapora hasta sequedad y el residuo se recoge con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con agua, con una solución saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se evapora hasta sequedad. Aceite amarillo p=3,45 g (Rendimiento: 88%)

CLHP Atlantis T3 gradiente 10-90 de CH<sub>3</sub>CN (0,1%TFA)/H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) en 15 min. Rt = 10,3 mn.

ESI (+) (M+H)<sup>+</sup>=228

RMN (DMSO d6)  $\delta$  (ppm): 1,20-1,80 (13H, m), 2,10 (3H, s), 2,40 (1H, m), 2,60-3,20 (4H, m), 3,60-4,30 (4H, m).

Etapa 2: Éster t-butílico del ácido 1-acetil-4-hidroximetil-piperidin-4-carboxílico

A una solución a 0°C de iPr<sub>2</sub>NH (2,10 ml, 14,89 mmoles) en THF (16 ml), se añade nBuLi en hexano (2,5 M) (6,8 ml,

16,92 mmoles, 2,5 eq.). Después de 30 min., la mezcla se enfría a  $-78^{\circ}\text{C}$  y se añade una solución del compuesto de la etapa 1 (1,54 g 6,77 mmoles) en 9 ml de THF bajo nitrógeno en 30 min. La mezcla se agita durante 1h a  $-78^{\circ}\text{C}$  y después se añade el paraformaldehído (5 eq., 1,01 g) y la mezcla de reacción se vuelve a llevar a temperatura ambiente bajo agitación. Después de 30 min a TA, la mezcla se divide entre una solución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (120 ml) y  $\text{AcOEt}$  (60 ml). La fase acuosa se extrae con  $\text{AcOEt}$  (2x40 ml). La fase orgánica se lava con  $\text{HCl}$  1N,  $\text{NaCl}$  sat., se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentra bajo presión reducida para dar un aceite amarillo  $P=1,20$  g.

El producto bruto se purifica mediante CLHP semi-preparativa sobre columna Atlantis 30x100 mm, eluyente  $\text{CH}_3\text{CN}$  (0,01% TFA)/ $\text{H}_2\text{O}$  (0,01% TFA) 15/85. Rendimiento: 27%. CLHP Atlantis T3 20% durante 10 min y después gradiente 20-90 de  $\text{CH}_3\text{CN}$  (0,1%TFA/ $\text{H}_2\text{O}$  (0,1% TFA) en 15 min,  $R_t = 8,85$  mn.

ESI (+) (M+H) $^+$ =258,2

RMN (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,20-1,80 (13H, m), 2,10 (3H, s), 2,60-3,20 (4H, m), 3,40 (2H, s), 3,60-4,30 (4H, m).

### Etapa 3: Éster terc-butílico del ácido 1-acetil-4-trifluorometanosulfoniloximetil-piperidin-4-carboxílico

Una mezcla de piridina de 2,0 ml (250 mmoles) y de 20 ml de diclorometano se enfría hasta  $-78^{\circ}\text{C}$  bajo nitrógeno. El anhídrido tríflico (2,10 ml, 12,5 mmoles) se añade gota a gota. Después de 10 min., se añade gota a gota una solución de 1,29 g del compuesto de la etapa 2 (5,0 mmoles) en 15 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La mezcla se agita durante 2h a  $-78^{\circ}\text{C}$ . La fase orgánica se lava con  $\text{HCl}$  1N,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaCl}$  sat., se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentra bajo presión reducida para dar 1,68 g del producto esperado (Rendimiento: 86%) utilizado tal cual para la etapa siguiente.

CLHP Atlantis T3 (4,6\*100 mm, 3  $\mu\text{m}$ ) 20% durante 10 min y después gradiente 20-90% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  (0,1%TFA/ $\text{H}_2\text{O}$  (0,1% TFA) en 15 min,  $R_t = 22,7$  mn.

ESI (+) (M+H) $^+$ =390,2

RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1,40-1,60 (11H, m), 1,90-2,30 (5H, m), 2,90 (2H, m), 3,40-3,80 (2H, m), 4,30-4,60 (2H, m).

### Etapa 4: Ácido 1-acetil-4-(((R)-1-(benciloxicarbonilamino)etil)(hidroxi)fosforil)metil)piperidin-4-carboxílico

Una solución de  $i\text{Pr}_2\text{NH}$  (0,61 ml, 4,31 mmoles) en THF (5 ml) se enfría hasta  $0^{\circ}\text{C}$  y después se añaden 3,1 ml de  $n\text{BuLi}$  1,5 M en hexano (4,67 mmoles, 3,0 eq.). Después de 15 min, la mezcla se enfría hasta  $-78^{\circ}\text{C}$  y se añade una solución del compuesto de la etapa 3 (925 mg, 3,59 mmoles) en 8 ml de THF bajo nitrógeno con el fin de mantener la temperatura inferior a  $-60^{\circ}\text{C}$ . La mezcla se agita durante 10 min a  $-78^{\circ}\text{C}$  y después se añade el compuesto de la etapa 4 (4,31 mmoles) en 10 ml de THF y la mezcla se agita durante 10 min a  $-78^{\circ}\text{C}$  y después durante 5h a temperatura ambiente.

Se diluye la mezcla con  $\text{AcOEt}$ . La fase orgánica se lava con  $\text{HCl}$  1N,  $\text{NaHCO}_3$  10%,  $\text{NaCl}$  sat., se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentra bajo presión reducida.

El producto bruto obtenido se pone en solución en 31 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se añaden 12 ml de TFA. La mezcla se agita durante 2h a temperatura ambiente. Después de la evaporación hasta sequedad, el producto esperado se purifica mediante CLHP semipreparativa sobre columna Atlantis T3,  $\text{CH}_3\text{CN}$  (0,1% TFA)/  $\text{H}_2\text{O}$  (0,1% TFA) 15/85 para dar 367 mg del producto puro (Rendimiento: 23%).

RMN (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,17 (3H, m), 1,40-1,95 (9H, m), 3,00 (1H, m), 3,23 (1H, m), 3,55-3,81 (2H, m), 5,03 (dd, 2H), 7,33 (5H, m), 7,46 (1H, d)

CLHP Atlantis T3 4,6x100 mm, 3  $\mu\text{m}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$  (0,1% TFA)/ $\text{H}_2\text{O}$  (0,1% TFA) 20/80,  $R_t = 7,67$  mn.

### Etapa 5: Trifluoroacetato del ácido (2S)-2-(1-acetil-4-(((R)-1-aminoetil)(hidroxi)fosforil)metil)piperidin-4-carboxamido)propanoico

El compuesto de la etapa 4 (0,175 g, 0,41 mmoles) se solubiliza en 2 ml de DMF bajo nitrógeno, después se añaden sucesivamente el clorhidrato de alaninato de t-butilo (89 mg, 1,2 eq.), 360  $\mu\text{l}$  de DIEA (5 eq.) y 395 mg de TBTU (3 eq.). La mezcla se agita durante 15 min. a temperatura ambiente, después la mezcla de reacción se evapora hasta sequedad. El residuo bruto obtenido se solubiliza en una mezcla  $\text{HBr}/\text{AcOH}$  (4 ml) y la solución se agita durante 1h a temperatura ambiente. La mezcla se evapora después bajo presión reducida. El producto se purifica mediante CLHP semi-preparativa sobre columna Atlantis T3 con un gradiente del 0 al 30% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  en 30 min de una mezcla  $\text{CH}_3\text{CN}$  (0,1%TFA)/  $\text{H}_2\text{O}$  (0,1% TFA) para dar 80,8 mg del producto esperado (Rendimiento: 40,9%). CLHP Atlantis T3 con un gradiente del 0 al 30% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  en 30 min.  $R_t = 8,59$  mn. RMN 1H (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,15-1,35 (9H, m), 1,50-2,20 (10H, m), 3,23 (1H, m), 3,40 (1H, q), 4,25 (1H, q), 7,85 (1H, d), 8,10 (3H, m).

Etapa 6: Ácido 2-[(1-acetil-4-(hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil)-piperidin-4-carbonil)-amino]-propiónico

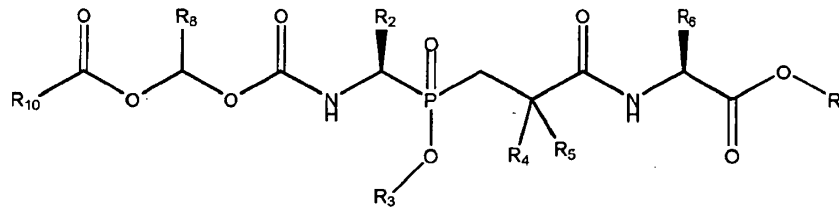
5 Se solubilizan 80 mg (0,166 mmoles) del compuesto de la etapa 5 en 2 ml de CH<sub>3</sub>CN y 560 µl de NaHCO<sub>3</sub> 2N. Se añaden 52 mg de isobutilisuccinimida carbonato (1,2 eq.), la mezcla se agita durante 1h a 60°C. La mezcla se recoge después con acetato de etilo, se lava con H<sub>2</sub>O y con una solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora hasta sequedad. El producto bruto se purifica por CLHP para dar 70 mg del producto esperado (81,4%).

10 CLHP ACE C<sub>18</sub>CH<sub>3</sub>CN (0,1%)/ H<sub>2</sub>O (0,1% TFA) 50/50 Rt: 5.37 mn

RMN 1H (DMSOd<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,10-2,20 (29H, m), 3,20 (1H, m), 3,40 (1H, q), 3,7 (1H, m), 4,25 (1H, q), 6,20 (m, 1H), 7,85 (1H, d), 8,10 (3H, m).

15 Resumen de las moléculas descritas

Esta lista no es limitativa



Ejemplo	R <sub>10</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
3	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Fenil-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph
4	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Fenil-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	H
6	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Fenil-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
8	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Fenil-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )OCOEt
9	iPr	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )OCOiPr	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Fenil-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	H
11	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Bromo-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph
12	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Bromo-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	H
16	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-Fenilo	(S)-4-(3-Tiofen)-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	H
17	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-Fenilo	(S)-4-(3-Tiofen)-Bencilo	H	CH <sub>2</sub> OH	H
18	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-3-Tiofeno	(S)-4-Fenil-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	H
19	iPr	H	H	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Fenil-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	H
20	tBu	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	(S)-4-Fenil-Bencilo	H	CH <sub>3</sub>	H
21	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	Ciclopentano		CH <sub>3</sub>	H
22	iPr	CH <sub>3</sub>	H	(R)-CH <sub>3</sub>	4(1-acetil)piperidina		CH <sub>3</sub>	H

20 **Ejemplo 23: Estudio de la estabilidad de derivados fosfínicos protegidos por un grupo aciloxialquilo sobre la función fosfínica y cuya función amina está libre**

25 La inhibición de la neprilisina (NEP) y de la aminopeptidasa N (APN) requerida para proteger completamente las encefalinas de su catabolismo, exige el reconocimiento de los sitios activos de las dos metalopeptidasas con zinc por la misma molécula en la presente invención. Esto se ha obtenido, en la técnica anterior, con unos derivados fosfínicos descritos en particular en la solicitud de patente FR 2 755 135. Sin embargo, por razones de biodisponibilidad por vía parenteral, fue necesario proteger de manera temporal la función fosfínica por un grupo aciloxialquilo (profármaco) y en algunos casos también la función carboxilo de los inhibidores descritos en la técnica anterior.

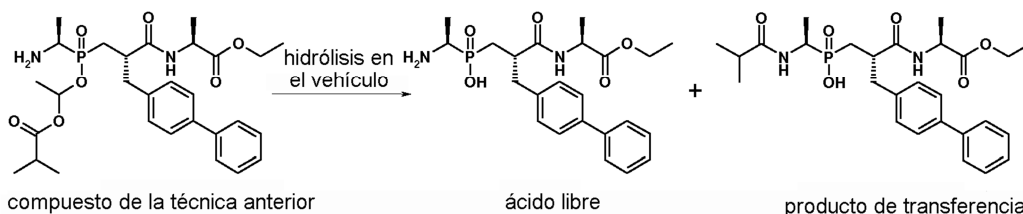
Por otra parte, es esencial señalar que el reconocimiento de APN y su inhibición exige imperativamente la presencia de una función amina libre.

35 Ahora bien, el estudio en solución de los profármacos descritos en la técnica anterior muestra que la protección del grupo fosfínico por un resto de aciloxialquilo lleva a una transferencia de una parte de este grupo hacia la función amina para dar lugar a una molécula que posee una función amida en lugar de la amina libre necesaria para la afinidad por la APN.

40 De este modo, el compuesto formado, no hidrolizable, es totalmente inactivo frente a esta enzima. Por lo tanto, estos compuestos no pueden ser utilizados debido a su inestabilidad en preparaciones utilizadas en clínica humana.

El estudio en solución de un compuesto de la técnica anterior se ha realizado de la siguiente manera:

El compuesto de la técnica anterior se pone en solución en diferentes mezclas utilizadas para una administración parenteral, siendo la solución seguida después en el tiempo por CLHP (Columna Kromasil C18 4,5\*250 mm, 50%CH<sub>3</sub>CN(0,1%TFA)/50% H<sub>2</sub>O (0,1% TFA)) para determinar la composición de la solución. En todos los casos, se observa la formación a lo largo del tiempo de dos productos, el ácido fosfónico libre (compuesto activo) y el producto de transferencia, como se ilustra en el esquema siguiente:



Así, en el caso de una solución del compuesto de la técnica anterior en una mezcla etanol/cremofor/H<sub>2</sub>O (1/1/8), el contenido del compuesto inicial en el vehículo disminuye a lo largo del tiempo, como se muestra en la tabla 1 siguiente:

Tiempo después de la solubilización	0h	3h	6h	96h
% compuesto de partida	90,5%	82,0%	75,7%	25,1%

### Ejemplo 25: Resultados farmacológicos

Las moléculas de la presente invención se han estudiado por su acción analgésica sobre los modelos animales más predictivos de la respuesta en el ser humano. Los ensayos recomendados son los que se dirigen a los dolores neuroinflamatorios (NI) y neuropáticos (NP) en la rata y el ratón.

Las moléculas de la presente invención se revelaron activas en los ensayos siguientes en el ratón:

- i) dolor provocado por la administración de formalina en la pata y estudio de la respuesta analgésica en la primera fase considerada por reflejar una acción periférica a nivel de los nociceptores, y
- ii) hiperalgesia y alodinia producidas por compresión parcial y unilateral del nervio ciático (modelo de Seltzer) (Bennett G.J. y Xie Y.K., Pain (1998) 33, 87-107).

Las técnicas utilizadas en estos ensayos son descritas en detalle y catalogadas en revistas tales como: M.J. Millan. The induction of pain: an integrative review, in Progress in Neurobiology (1999), 52, 1-164.

La asociación y la sinergia entre un opioide y la gabapentina se ha detallado, en particular en la referencia: Menendez *et al.* (2008), Eur. J. Pharmacol, 596,50-55.

Se han realizado así los ensayos siguientes.

#### A/ Ensayo con formalina (fase I)

Las moléculas se estudiaron en un tiempo (90 min) para unos ensayos comparativos y en dos tiempos, 90 y 150 minutos, con el fin de observar su duración de acción.

#### Descripción del ensayo:

Los animales (ratón macho OF1) provienen del criadero de Charles River (Francia) y pesan 25-35 g al principio del experimento. El peso de cada ratón se tiene en cuenta para la administración del producto.

El ensayo se basa en el protocolo descrito por S. HUNSKAAR *et al.*, Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics, J. Neurosci. Methods (1995), 14, 69-75. Esta es la primera fase del ensayo (5 a 10 minutos después de la inyección de formalina), que se considera como que refleja un dolor de tipo neuropático, el cual se estudia.

Los ratones (n=8) se colocan individualmente en un recinto transparente (50x25 cm<sup>2</sup>) y se acostumbran a este entorno durante 20 minutos. Después de este periodo, se inyectan por vía subcutánea 20 µl de formalina (5% HCHO) en solución en suero fisiológico (H<sub>2</sub>O, NaCl 0,9%), sobre la cara plantar de la pata derecha del animal. Se utiliza una jeringa de 26 conectada a una microjeringa. Cada ratón se recoloca después inmediatamente en el recinto del ensayo y se miden las respuestas dolorosas (nociceptivas) durante 5 minutos (fase inicial). Sólo se cuentan las lameduras de la pata.

La actividad analgésica se prueba después del cebado de los animales en diferentes tiempos (generalmente 20 minutos, 90 minutos y 150 minutos) después de la inyección de formalina, por:

- 5 - el vehículo sólo (etanol, metilcelulosa al 0,5% en agua)
- el vehículo y un compuesto de la invención (50 mg/kg)

La acción analgésica del producto se mide por la disminución del número de lameduras de la pata lesionada, con respecto al número de lameduras del animal que ha recibido el vehículo sólo. La duración total (discontinua) de las lameduras, expresada en segundos para cada ratón, se cuenta durante 4 minutos. Los valores acumulados para n ratones se dividen después por el número n de ratones estudiados.

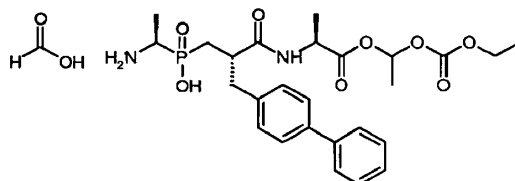
Los resultados se indican por los tres compuestos de los ejemplos 3, 4 y 8 en la figura 1.

15 Los tres compuestos muestran unos efectos analgésicos potentes (del 40 al 60%) caracterizados por una disminución muy significativa del número de lameduras con respecto al vehículo (control) y los efectos son más o menos constantes durante el periodo del ensayo. Así, se observa una actividad analgésica de los compuestos de la invención en unos tiempos que van hasta 150 minutos, lo que atestigua la larga duración de acción de los compuestos de la invención.

20 La acción analgésica es bloqueada por una pre-administración de un antagonista, el metil-naloxonio que, a la dosis utilizada (2 mg/kg) es incapaz de superar la barrera hematomeníngea (Milne R.J. *et al.*, *Neurosci. Lett.* (1990), 114, 25-32), lo que demuestra que la actividad de estas moléculas se ejerce a nivel periférico (nociceptores) en el que aumentan las encefalinas liberadas en el sitio lesionado. Estos resultados muestran claramente que los compuestos según la invención no superan la barrera hematomeníngea.

25 B/ Estudio comparativo del efecto analgésico del compuesto del ejemplo 8 y de una molécula de referencia de la técnica anterior

30 La molécula de referencia de la técnica anterior, utilizada para este estudio tiene la estructura siguiente:



35 El ensayo A descrito anteriormente se ha reiterado con el compuesto del ejemplo 8 (50 mg/kg; figura 2A) y la molécula de referencia de la técnica anterior (100 mg/kg; figura 2B) con el fin de comparar su acción en el tiempo a los 90 minutos después de la inyección de formalina.

40 Se constata así que la molécula de referencia no posee ninguna actividad a los 90 minutos a una dosis de 100 mg/kg (*per os*) mientras que el compuesto del ejemplo 8 conduce, al contrario, a una actividad analgésica muy significativa a los 90 minutos a una dosis de 50 mg/kg (*pero so*) dos veces inferior (véase la figura 2).

La presente invención se caracteriza por lo tanto por la realización de moléculas que poseen unas propiedades analgésicas por vía oral con una larga duración de acción.

45 C/ Efectos antialodínico y antihiperalgésico del compuesto del ejemplo 3 después de la administración oral en el ratón

Este ensayo se ha descrito con detalle por A.B. Malmberg y A.I. Basbaum, *Partial Sciatic nerve injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioural and neuroanatomical correlates*. *Pain*, (1998) 76, 215-222.

50 Se ha realizado sobre unos ratones machos OF1 (Charles River, n=39), de 18 a 20 g, por ligadura parcial del nervio ciático del lado ipsilateral. Los animales son testados en un periodo de 3 a 26 días después de la operación.

55 La medición de la hiperalgésia se ha efectuado según el método descrito por K. Hargreaves *et al.*, *A new sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia*, *Pain*, (1988), 32, 77-88, utilizando como fuente de calor, el aparato "Plantar test" (Bioseb, Francia). La intensidad del estímulo nociceptivo se calibra a 8-10 s con un umbral de apagado automático (cut-off time) de 20 segundos. La media de las retiradas de la pata inducida por el calor se ha medido sobre las patas ipsilaterales (nervio dañado) y contralaterales (nervio intacto). Cada medición se efectúa 3 veces sobre cada pata.

60 La alodinia mecánica se mide como se describe por S.R. Chaplan *et al.*, *Quantitative assesment of tactile*

allodynia in the rat paw, J. Neurosci. Meth. (1994), 53, 55-63. Las patas ipsilateral (lesión) y contralateral (control) se testan como anteriormente, siendo el efecto antialodínico mecánico medido por el método Von Frey (Malmerg A.B. y Basbaum A.I.,1998, Pain, 76, 215-222) con filamentos de tamaño creciente que ejercen una presión asimismo creciente.

5

Efecto antihiperálgico:

Los resultados obtenidos, representados en la figura 3, muestran que, administrado *per os* a 50 mg/kg, el compuesto del ejemplo 3 produce una disminución significativa muy importante (65-100%) de la hiperalgesia térmica inducida por la ligadura parcial del nervio ciático en el periodo 45-120 minutos con un efecto máximo a 90 minutos.

10

Efecto anti-alodínico:

El efecto del compuesto del ejemplo 3 sobre la alodinia mecánica se mide mediante el ensayo de Von Frey. Los resultados obtenidos, representados en la figura 4, muestran un efecto anti-alodínico significativo de larga duración (45-120 minutos) con un máximo de 60 minutos, que corresponde al 75% de la respuesta máxima (control no tratado).

15

D/ Potencialización de los efectos anti-alodínicos del compuesto del ejemplo 4 por asociación con la gabapentina.

20

El efecto de la asociación del compuesto del ejemplo 4 y de la gabapentina, siendo los dos productos administrados por vía oral, se mide por el ensayo de Von Frey. Los resultados obtenidos, después de 60 minutos, representados en la figura 5, muestran una potencialización muy fuerte de la asociación (>300%) con respecto al compuesto del ejemplo 4 o a la gabapentina utilizados solos, que se muestran inactivos a las mismas dosis. No se obtiene ningún efecto sobre la pata contralateral no lesionada.

25



## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula general (I) siguiente:



o una sal farmacéuticamente aceptable de éste,

para la cual:

- 10
- $R_1$  representa un grupo  $-C(=O)-O-C(R^8)(R^9)-OC(=O)-R^{10}$ , en el que
    - $R^8$  y  $R^9$  representan, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo,
    - y  $R^{10}$  representa un grupo alquilo,
  - 15
  - $R_2$  representa:
    - un grupo alquilo lineal o ramificado, que comprende de 1 a 6 átomos de carbono,
    - un grupo fenilo;
  - 20
  - $R_3$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo de fórmula  $-C(R^{12})(R^{13})-OC(=O)-R^{14}$ , en el que
    - $R^{12}$  y  $R^{13}$  representan, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo,
    - y  $R^{14}$  representa un grupo alquilo;
  - 25
  - $R_5$  representa un átomo de hidrógeno y  $R_4$  representa:
    - un bencilo eventualmente sustituido en el núcleo fenilo por:
      - 30
      - de 1 a 5 átomo(s) de halógeno tal(es) como el flúor o el bromo;
      - un grupo  $OR^{15}$  o  $SR^{15}$ , en el que  $R^{15}$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo bencilo o una cadena hidrocarbonada, saturada o insaturada, lineal o ramificada, que comprende de 1 a 4 átomos de carbono;
      - 35
      - un grupo amino;
      - un grupo  $CF_3$ ;
      - 40
      - un grupo fenilo; o
      - un anillo heteroaromático de 5 o 6 eslabones;
  - 45
  - $R_4$  y  $R_5$  forman juntos, con el carbono que los lleva:
    - un anillo hidrocarbonado saturado de 5 o 6 eslabones; o
    - un anillo piperidina, encontrándose el nitrógeno en posición 4 y estando eventualmente sustituido con:
      - 50
      - \* un grupo  $-SO_2-Ph$ ;
      - \* un grupo  $CF_3$ ;
      - \* un grupo alquilo de  $C_1$  a  $C_4$ ;
      - 55
      - \* un grupo acilo de  $C_1$  a  $C_4$ ;
      - \* un fenilo o un bencilo eventualmente sustituido por uno o varios átomo(s) de halógeno, un grupo alquilo de  $C_1$  a  $C_4$  o un grupo alcoxi de  $C_1$  a  $C_4$ ; o
      - 60
      - \* un heterociclo aromático tal como una piridina o una pirimidina, eventualmente sustituido con un grupo alquilo de  $C_1$  a  $C_4$  o un grupo alcoxi de  $C_1$  a  $C_4$ ;
  - 65
  - $R_6$  representa:
    - un grupo alquilo lineal o ramificado, que comprende de 1 a 6 átomos de carbono, y eventualmente sustituido con:

- un grupo OR<sup>16</sup>, en el que R<sup>16</sup> representa un átomo de hidrógeno,
  - R<sub>7</sub> representa un radical seleccionado de entre el grupo constituido por un átomo de hidrógeno, un bencilo, un alquilo de C<sub>2</sub> a C<sub>4</sub>, -CHR<sup>18</sup>-COOR<sup>19</sup>, -CHR<sup>18</sup>-OC(=O)R<sup>19</sup> y -CHR<sup>18</sup>-OC(=O)OR<sup>19</sup>, en los que R<sup>18</sup> y R<sup>19</sup> representan, independientemente el uno del otro, un grupo alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, heteroalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.
2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R<sub>1</sub> representa un grupo -(C=O)O-CHMe-OC(=O)CHMe<sub>2</sub>.
3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado por que R<sub>3</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo -CHMe-OC(=O)CHMe<sub>2</sub>, y preferentemente representa un átomo de hidrógeno.
4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que R<sub>6</sub> representa un grupo alquilo tal como un grupo metilo.
5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que R<sub>7</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, tal como un etilo, o un grupo bencilo o un grupo -CH(CH<sub>3</sub>)-O-C(=O)-O-Et.
6. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de éste, seleccionado de entre los compuestos siguientes:
- Éster bencílico del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico
- Ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico
- Éster etílico del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico
- Éster etoxicarbonilo del ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico
- Ácido 2-(2-bifenil-4-ilmetil-3-{(1-isobutiriloxi-etoxi)-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico
- Éster bencílico del ácido 2-(2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico
- Ácido 2-(2-(4-bromo-bencil)-3-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoil}-propionilamino)-propiónico
- Ácido 2-[2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-fenil-metil]-fosfinoilmetil}-3-(4-tiofen-3-il-fenil)-propionilamino]-propiónico
- Ácido 2-[2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-fenil-metil]-fosfinoilmetil}-3-(4-tiofen-3-il-fenil)-propionilamino]-3-hidroxipropiónico
- Ácido 2-(3-bifenil-4-il-2-{hidroxi-[(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-tiofen-3-il-metil]-fosfinoilmetil}-propionilamino)-propiónico
- Ácido 2-(3-bifenil-4-il-2-[hidroxi-(1-isobutiriloxi-metoxicarbonilamino-etil)-fosfinoilmetil]-propionilamino)-propiónico
- Ácido 1-(1-[[3-bifenil-4-il-2-(1-carboxi-etilcarbamoil)-propil]-hidroxi-fosfinoil]-etilcarbamoilo)-etilo del ácido 2-dimetil-propiónico
- Ácido 2-[[1-(Hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil)-ciclopentanocarbonil]-amino]-propiónico
- Ácido 2-[[1-Acetil-4-{hidroxi-[1-(1-isobutiriloxi-etoxicarbonilamino)-etil]-fosfinoilmetil]-piperidin-4-carbonil]-amino]-propiónico.
7. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su utilización como medicamento, destinado en particular para el tratamiento del dolor, tal como dolores intensos o dolores neuropáticos o neuroinflamatorios.

8. Composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y por lo menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 5 9. Composición farmacéutica según la reivindicación 8, caracterizada por que el vehículo es apropiado para una administración por vía oral.
- 10 10. Composición farmacéutica según la reivindicación 8 o 9, que comprende además por lo menos otro principio activo, en particular un analgésico seleccionado de entre el grupo constituido por la morfina y sus derivados, el tetrahidrocannabinol y sus derivados, los derivados de Gaba, tales como la Gabapentina o la Pregabalina, un antagonista de los receptores purinérgicos P2X3 o las toxinas botúlicas, tales como la toxina botúlica A.
11. Composición farmacéutica que comprende:
- 15 (i) por lo menos un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y
- (ii) por lo menos otro principio activo, seleccionado de entre el grupo constituido por la morfina y sus derivados, el tetrahidrocannabinol, los derivados de Gaba tal como la Gabapentina o la Pregabalina, un antagonista de los receptores purinérgicos P2X3 y las toxinas botúlicas tales como la toxina botúlica A
- 20 como productos de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo.
12. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, para su utilización como medicamento destinado al tratamiento de los dolores neuropáticos o inflamatorios, causados en particular por una diabetes de tipo I o II, una infección viral o retroviral, una quimioterapia de un cáncer, una radioterapia, una intervención quirúrgica que incluye la ilusión de los amputados y las secuelas de una mastectomía, el alcoholismo, una neuralgia facial, un traumatismo tal como un síndrome del plexo braquial, una radiculopatía o una radiculalgia, tal como una ciática, una cruralgia o un síndrome del desfiladero toracobraquial, una fibromialgia, un síndrome de las piernas inquietas, un dolor articular inflamatorio causado en particular por la artritis o una fase aguda de la artrosis, un dolor articular degenerativo causado en particular por la artrosis, o también una lumbalgia.
- 25 30 13. Composición farmacéutica según la reivindicación 8, caracterizada por que el vehículo es apropiado para una administración por vía sublingual, parenteral, subcutánea, pulmonar, nasal, intramuscular, intravenosa, intratecal, intra-articular o transdérmica.
- 35 14. Composición farmacéutica según la reivindicación 13, que comprende además por lo menos otro principio activo, en particular un analgésico seleccionado de entre el grupo constituido por la morfina y sus derivados, el tetrahidrocannabinol y sus derivados, y sus mezclas.
- 40 15. Composición farmacéutica según las reivindicaciones 13 o 14, para su utilización como medicamento destinado al tratamiento de los dolores intensos.

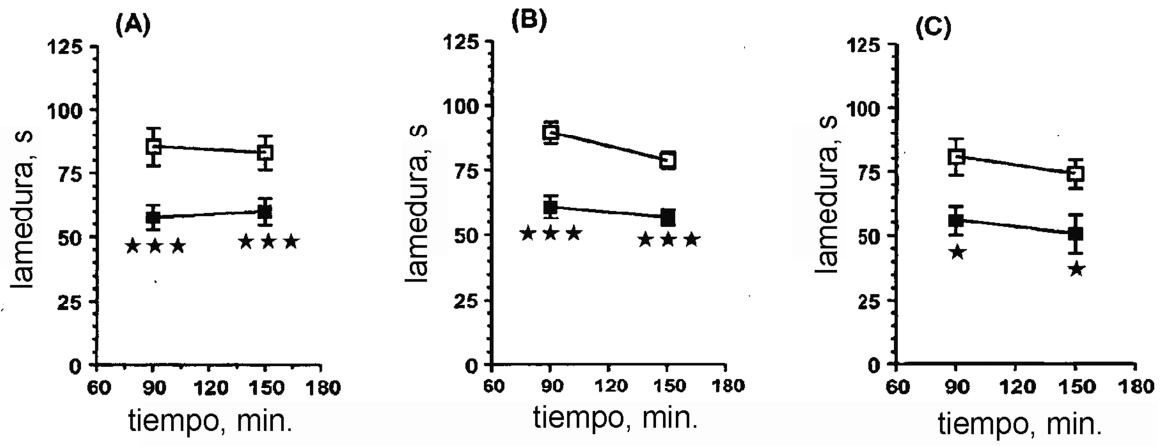


Figura 1

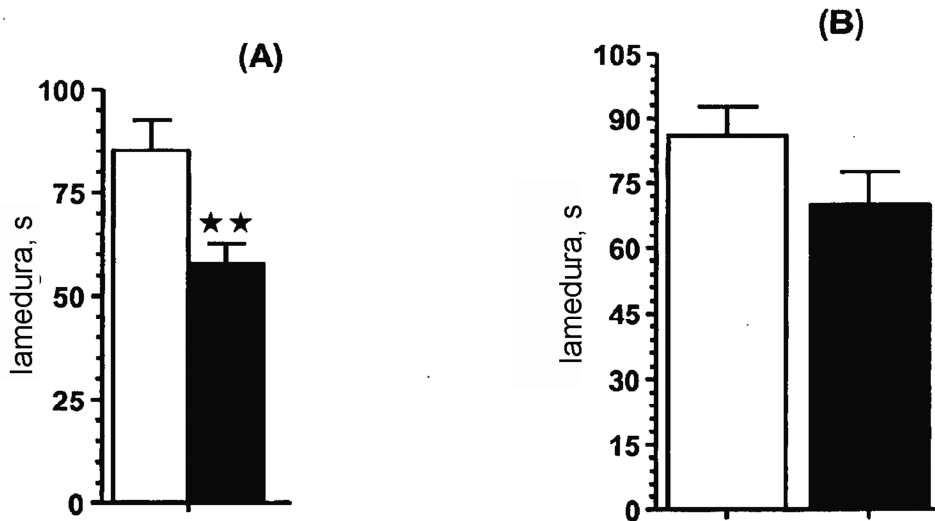


Figura 2

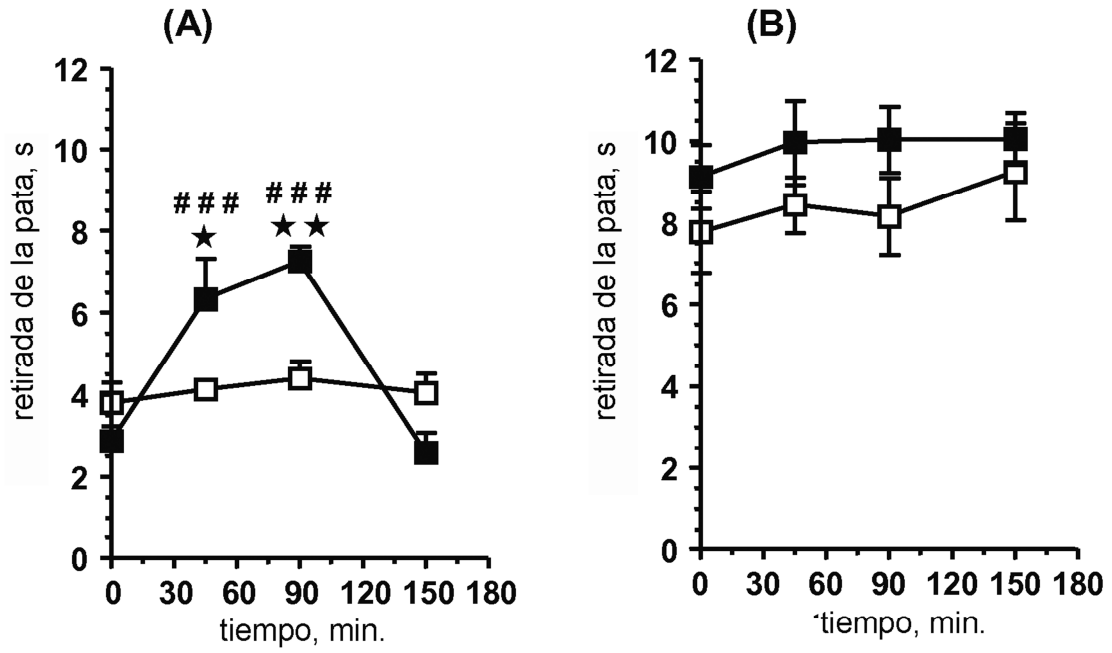


Figura 3

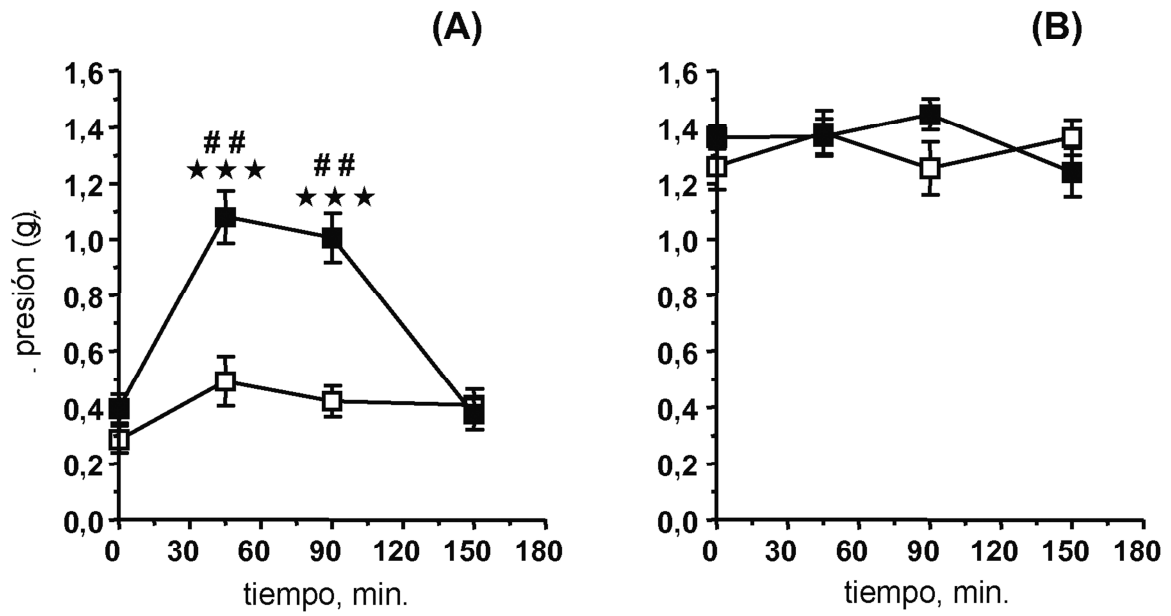


Figura 4

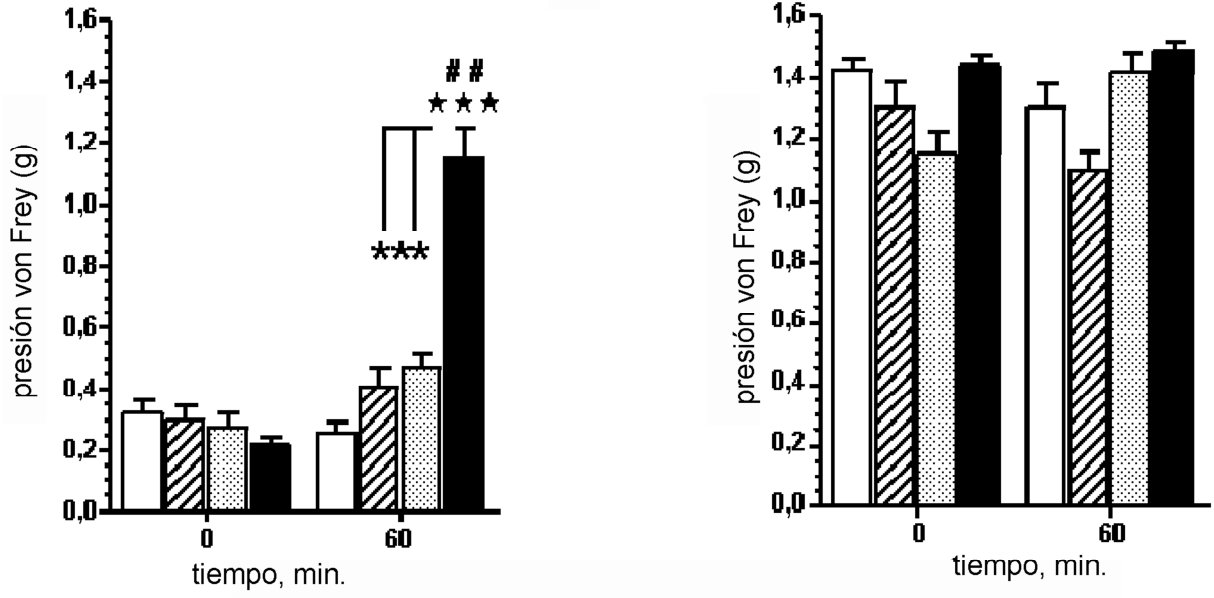


Figura 5