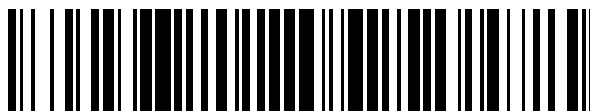


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 874**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/08** (2006.01)

**C07K 1/107** (2006.01)

**C07K 7/06** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2011** **E 11760500 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2015** **EP 2621508**

54 Título: **N-Carboxialquil-auristatinas y su uso**

30 Prioridad:

**16.03.2011 EP 11158466**

**29.09.2010 EP 10181966**

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

**14.12.2015**

73 Titular/es:

**SEATTLE GENETICS, INC. (100.0%)**

**21823 30th Drive, S.E.**

**Bothell, WA 98021, US**

72 Inventor/es:

**LERCHEN, HANS-GEORG;**

**EL SHEIKH, SHERIF;**

**STELTE-LUDWIG, BEATRIX;**

**GOLFIER, SVEN;**

**SCHUHMACHER, JOACHIM;**

**GNOTH, MARK, JEAN y**

**KRENZ, URSULA**

74 Agente/Representante:

**FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás**

ES 2 553 874 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

## N-Carboxialquil-auristatinas y su uso

5 La presente solicitud se refiere a nuevos derivados de monometilauristatina F sustituidos con un grupo carboxialquilo en el extremo N-terminal, a procedimientos para la producción de estos derivados, al uso de estos derivados para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades así como al uso de estos derivados para la producción de fármacos para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en particular de enfermedades hiperproliferativas y/o angiogénicas, como por ejemplo enfermedades cancerosas. Tales tratamientos pueden tener lugar como  
10 monoterapia o también en combinación con otros fármacos o medidas terapéuticas adicionales.

Las enfermedades cancerosas son la consecuencia de un crecimiento celular incontrolado de los tejidos más diversos. En muchos casos las nuevas células se introducen en tejidos ya existentes (crecimiento invasivo), o forman metástasis en órganos alejados. Las enfermedades cancerosas aparecen en los órganos más diversos y  
15 tienen a menudo evoluciones de la enfermedad específicas del tejido. Por tanto, la expresión enfermedad cancerosa describe como concepto principal un gran grupo de enfermedades definidas de diferentes órganos, tejidos y tipos celulares.

Los tumores en estadios tempranos pueden eliminarse dado el caso mediante medidas quirúrgicas y radioterapéuticas. Los tumores metastatizados por regla general sólo pueden tratarse mediante agentes quimioterápicos de forma paliativa. A este respecto, la finalidad es conseguir la combinación óptima de una mejora de la calidad de vida y de la prolongación del tiempo de vida.

La mayoría de los agentes quimioterápicos aplicados hoy en día por vía parenteral a menudo no van dirigidos al tejido tumoral o a las células tumorales, sino que debido a la administración sistémica se distribuyen en el cuerpo de manera no específica, es decir también a lugares en los que no se desea una exposición al principio activo tal como, por ejemplo, en células, tejidos y órganos sanos. Esto puede llevar a desde efectos secundarios no deseados hasta graves efectos tóxicos en general, que limitan entonces fuertemente el intervalo de dosificación terapéuticamente útil del principio activo o exigen una interrupción completa de la medicación.

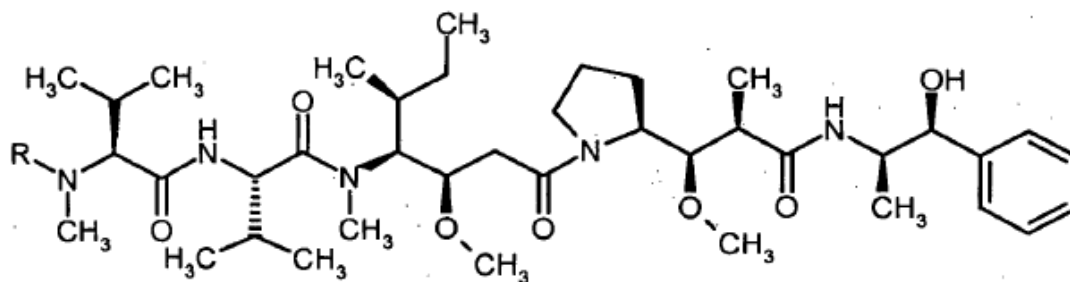
La disponibilidad mejorada y selectiva de estos agentes quimioterápicos en la célula tumoral o en el tejido directamente circundante y el aumento del efecto unido a ello, por un lado, y la minimización de efectos secundarios tóxicos, por otro lado, se encuentra por tanto desde hace varios años en el centro de atención del desarrollo de nuevos agentes quimioterápicos. Hasta el momento se han hecho muchos intentos para desarrollar métodos  
35 eficaces para la introducción de principios activos en la célula diana. Sin embargo, la optimización de la asociación entre principio activo y diana intracelular y la minimización de la distribución entre células del principio activo, por ejemplo a células vecinas, siguen representando un objetivo complicado.

Para la selección como diana de manera dirigida de tejidos tumorales y células tumorales son adecuados, por ejemplo, anticuerpos monoclonales. La importancia de tales anticuerpos para el tratamiento clínico de enfermedades cancerosas ha crecido en general en los últimos años de manera considerable, basándose en la eficacia de agentes tales como trastuzumab (Herceptin), rituximab (Rituxan), cetuximab (Erbix) y bevacizumab (Avastin), que entre tanto han sido autorizados para la terapia de enfermedades tumorales específicas individuales [véase, por ejemplo, G. P. Adams y L. M. Weiner, Nat. Biotechnol. 23, 1147-1157 (2005)]. Como consecuencia de esto, también ha  
45 aumentado claramente el interés por los denominados inmunoconjugados, en los que un anticuerpo internalizante dirigido contra un antígeno asociado al tumor está unido covalentemente a través de una unidad de unión ("linker") con un agente de acción citotóxica, que tras la introducción y posterior escisión del conjugado dentro de la célula tumoral se libera y puede desplegar allí su efecto directa y selectivamente. De esta manera podría mantenerse el daño de tejido normal en márgenes significativamente más estrechos en comparación con una quimioterapia convencional de la enfermedad cancerosa [véanse, por ejemplo, J. M. Lambert, Curr. Opin. Pharmacol. 5, 543-549 (2005); A. M. Wu y P. D. Senter, Nat. Biotechnol. 23, 1137-1146 (2005); P. D. Senter, Curr. Opin. Chem. Biol. 13, 235-244 (2009); L. Ducry y B. Stump, Bioconjugate Chem. 21, 5-13 (2010)].

En lugar de anticuerpos también pueden utilizarse ligandos de la gama de principios activos de moléculas pequeñas, que se unen selectivamente a un sitio diana especial ("target"), como por ejemplo a un receptor [véanse, por ejemplo, E. Ruoslahti *et al.*, Science 279, 377-380 (1998); D. Karkan *et al.*, PLoS ONE 3 (6), e2469 (25 de junio de 2008)]. También se conocen los conjugados de principio activo citotóxico y ligando de selección como diana, que entre el ligando y el principio activo presentan un punto de escisión definido para la liberación del principio activo. Un "punto de rotura teórico" de este tipo puede consistir, por ejemplo, en una cadena peptídica, que puede escindirse en  
60 un punto determinado en el sitio de actuación mediante una enzima especial [véase por ejemplo R. A. Firestone y L. A. Telan, solicitud de patente estadounidense 2002/0147138].

La auristatina E (AE) y la monometilauristatina E (MMAE) son análogos sintéticos de las dolastatinas, un grupo especial de pseudopéptidos lineales, que se aislaron originariamente a partir de fuentes marinas y que presentan en parte una actividad citotóxica muy potente frente a células tumorales [para un resumen general véanse, por ejemplo, G. R. Pettit, Prog. Chem. Org. Nat. Prod. 70, 1-79 (1997); G. R. Pettit *et al.*, Anti-Cancer Drug Design 10, 529-544

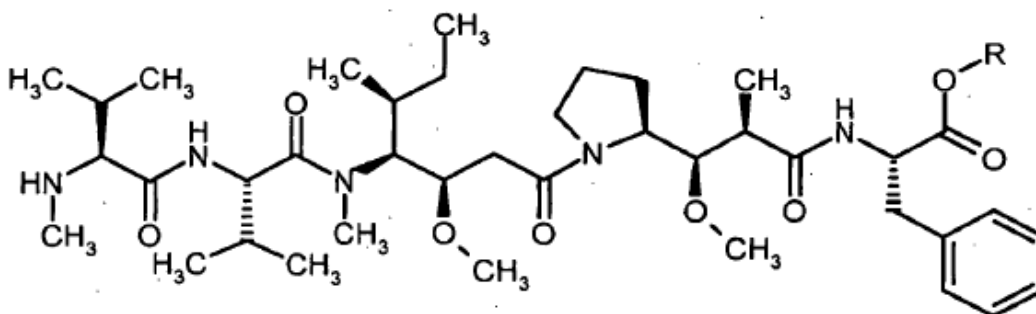
(1995); G. R. Pettit *et al.*, *Anti-Cancer Drug Design* 13, 243-277 (1998)].



Auristatina E (AE): R = CH<sub>3</sub>  
Monometilauristatina E (MMAE): R = H

Sin embargo, la MMAE tiene la desventaja de una toxicidad sistémica comparativamente elevada. Además, este compuesto en el caso de una aplicación en forma de conjugados de anticuerpo-principio activo (inmunoconjugados) no es compatible con unidades de unión (*linkers*) entre anticuerpo y principio activo, que no presenten ningún punto de rotura teórico que pueda escindirse enzimáticamente [S. O. Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 17, 114-124 (2006)].

La monometilauristatina F (MMAF) es un derivado de auristatina con una unidad de fenilalanina C-terminal, que sólo presenta un efecto antiproliferativo moderado en comparación con la MMAE. Muy probablemente esto pueda atribuirse al grupo carboxilo libre, que debido a su polaridad y carga influye negativamente en la capacidad de acceso a las células de este compuesto. En este contexto, el éster metílico de MMAF (MMAF-OMe) se describió como un derivado de tipo profármaco con carga neutra con capacidad de acceso a la célula, que en comparación con la MMAF presenta una citotoxicidad *in vitro* aumentada en varios órdenes de magnitud frente a diferentes líneas celulares de carcinoma [S. O. Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 17, 114-124 (2006)]. Puede suponerse que este efecto lo provoca la propia MMAF, que tras la absorción del profármaco en las células se libera rápidamente por hidrólisis estérica intracelular.



Monometilauristatina F (MMAF): R = H  
Éster metílico de monometilauristatina F (MMAF-OMe): R = CH<sub>3</sub>

Sin embargo, los compuestos de principio activo a base de derivados de tipo éster sencillos pueden correr en general el riesgo de una inestabilidad química debido a una hidrólisis estérica no específica, independiente del sitio de acción previsto, por ejemplo mediante las esterasas existentes en el plasma sanguíneo; esto puede limitar claramente la posibilidad de aplicación de tales compuestos en la terapia. Además, los derivados de auristatina tales como MMAE y MMAF también son sustratos para proteínas transportadoras, que se expresan por parte de muchas células tumorales, lo que puede llevar a desarrollar resistencia a estos principios activos.

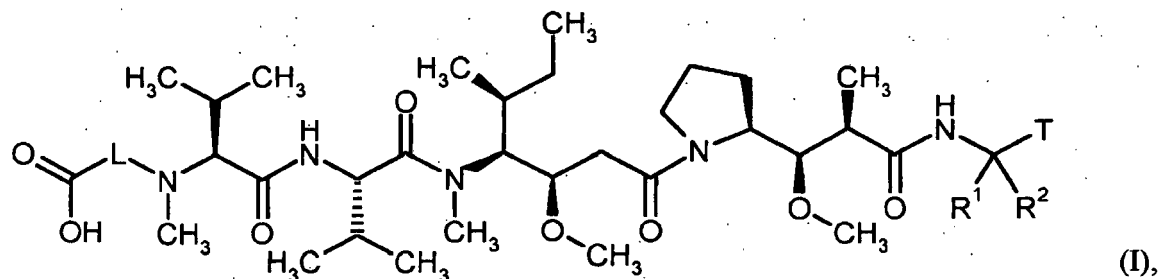
Por tanto, el objetivo de la presente invención era, partiendo de la monometilauristatina F (MMAF) de acción sólo moderada, identificar nuevos compuestos y ponerlos a disposición para el tratamiento en particular de enfermedades cancerosas, que por un lado presentan una actividad citotóxica claramente más potente en ensayos de células completas y por otro lado muestran propiedades de sustrato para proteínas transportadoras menos pronunciadas. Tales sustancias podrían ser adecuadas en una medida especial como toxóforos para la unión con proteínas, tales como por ejemplo anticuerpos, o también con ligandos de bajo peso molecular para dar (inmuno)conjugados que actúen de manera antiproliferativa.

La monometilauristatina F (MMAF) así como diferentes derivados de tipo éster y amida de la misma se dieron a conocer en el documento WO 2005/081711-A2. Otros análogos de auristatina con una unidad de fenilalanina amidosustituida, C-terminal, se describen en el documento WO-01/18032-A2. En los documentos WO 02/088172-A2 y WO 2007/008603-A1 se reivindican análogos de MMAF, que se refieren a modificaciones en las cadenas laterales

de la fenilalanina, y en el documento WO 2007/008848-A2 aquéllos en los que el grupo carboxilo de la fenilalanina está modificado. Otros conjugados de auristatina unidos a través del extremo N o C-terminal se describen, entre otros, en los documentos WO 2004/010957-A2 y WO 2009/117531-A1 [véase también S. O. Doronina *et al.*, Bioconjugate Chem. 19, 1960-1963 (2008)].

5

El objeto de la presente invención son ahora compuestos de fórmula general (I)



10 en la que

L representa alcanodiilo ( $C_1$ - $C_{12}$ ) de cadena lineal, que puede estar sustituido hasta cuatro veces con metilo y en el que (a) dos átomos de carbono pueden estar unidos en puente en una relación 1,2, 1,3 ó 1,4 entre sí incluyendo los átomos de carbono que se encuentran dado el caso entre los mismos formando un anillo de cicloalquilo ( $C_3$ - $C_6$ ) o un anillo de fenilo o (b) hasta tres grupos  $CH_2$  no adyacentes entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

15

$R^1$  representa hidrógeno o metilo,

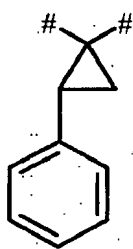
20

$R^2$  representa isopropilo, isobutilo, sec-butilo, *tert*-butilo, 1-hidroxietilo, fenilo, bencilo, 4-hidroxibencilo, 1-feniletilo, difenilmetilo, 1*H*-imidazol-4-ilmetilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

25

$R^1$  y  $R^2$  junto con el átomo de carbono, al que están ambos unidos, forman un grupo 2-fenilciclopropano-1,1-diilo de fórmula



, en la que

30

# indica los puntos de unión con las partes restantes de la molécula,

y

T representa un grupo de fórmula  $-C(=O)-OR^3$ ,  $-C(=O)-NR^4R^5$ ,  $-C(=O)-NH-NH-R^6$  o  $-CH_2-O-R^7$ , en las que

35

$R^3$  significa hidrógeno, alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ) o cicloalquilo ( $C_3$ - $C_{10}$ ),

pudiendo el alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ) estar sustituido con fenilo, naftilo o cicloalquilo ( $C_3$ - $C_{10}$ ),

40

$R^4$  significa hidrógeno o alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ),

$R^5$  significa hidrógeno, alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ) o cicloalquilo ( $C_3$ - $C_{10}$ ),

pudiendo el alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ) estar sustituido con fenilo,

45

o

$R^4$  y  $R^5$  están unidos entre sí y junto con el átomo de nitrógeno, al que están unidos, forman un aza-

heterociclo saturado, de 5 a 7 miembros, que puede contener un heteroátomo de anillo adicional de la serie >N-H, >N-CH<sub>3</sub> o -O-, que se encuentra en una posición 1,3 o dado el caso 1,4 en relación con el átomo de nitrógeno mencionado en primer lugar,

5 R<sup>6</sup> alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilcarbonilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), fenilo o benzoílo,

y

10 R<sup>7</sup> significa alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), que puede estar sustituido con fenilo,  
pudiendo el fenilo estar a su vez sustituido con alcoxicarbonilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) o carboxilo,

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

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

20 Los compuestos según la invención, dependiendo de su estructura, pueden existir en diferentes formas estereoisoméricas, es decir en forma de isómeros de configuración o dado el caso también como isómeros de conformación (enantiómeros y/o diastereómeros, incluyendo aquéllos en el caso de atropisómeros). Por tanto, la presente invención comprende los enantiómeros y diastereómeros y sus respectivas mezclas. A partir de tales  
25 mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros pueden aislarse de manera conocida los componentes estereoisoméricos unitarios; para ello se utilizan preferiblemente procedimientos cromatográficos, especialmente la cromatografía HPLC en fase quiral o aquiral.

30 Siempre que los compuestos según la invención puedan estar presentes en formas tautoméricas, la presente invención comprende todas las formas tautoméricas.

En el marco de la presente invención, como sales se prefieren las sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención. También están comprendidas las sales que en sí mismas no son adecuadas para aplicaciones farmacéuticas, pero que pueden utilizarse, por ejemplo, para el aislamiento o la purificación de los compuestos  
35 según la invención.

Las sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención comprenden las sales de adición de ácido de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, por ejemplo sales del ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico,  
40 ácido toluenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

Las sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención comprenden también sales de bases habituales, tales como, por ejemplo y preferiblemente, sales de metales alcalinos (por ejemplo sales de sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo sales de calcio y magnesio) y sales de amonio, derivadas de amoniaco o de aminas orgánicas con de 1 a 16 átomos de C, tales como, por ejemplo y preferiblemente, etilamina, dietilamina, trietilamina, *N,N*-diisopropiletilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dimetilaminoetanol, dietilaminoetanol, procaína, dicitclohexilamina, dibencilamina, *N*-metilpiperidina, *N*-metilmorfolina, arginina, lisina y 1,2-etilendiamina.  
50

En el marco de la invención, como solvatos se designan aquellas formas de los compuestos según la invención, que en estado sólido o líquido forman un complejo por coordinación con moléculas de disolvente. Los hidratos son una forma especial de solvatos, en los que la coordinación tiene lugar con agua. En el marco de la presente invención, como solvatos se prefieren los hidratos.  
55

Además, la presente invención también comprende profármacos de los compuestos según la invención. A este respecto, el término "profármacos" designa compuestos que en sí mismos pueden ser biológicamente activos o inactivos, pero que durante su tiempo de residencia en el cuerpo se convierten en compuestos según la invención (por ejemplo de manera metabólica o hidrolítica).  
60

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

65 En el marco de la invención, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) representan un resto alquilo de cadena lineal o ramificado con de 1 a 6 o de 1 a 4 átomos de carbono. Se prefiere un resto alquilo de cadena lineal o ramificado con de 1 a 4 átomos de carbono. A modo de ejemplo y preferiblemente se mencionan: metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo,

*n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, neopentilo, *n*-hexilo, 2-hexilo y 3-hexilo.

En el marco de la invención, alquilcarbonilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y alquilcarbonilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) representan un resto alquilo de cadena lineal o ramificado con de 1 a 6 o de 1 a 4 átomos de carbono, que está unido a través de un grupo carbonilo [-C(=O)-]. Se prefiere un grupo alquilcarbonilo de cadena lineal o ramificado con de 1 a 4 átomos de carbono en el resto alquilo. A modo de ejemplo y preferiblemente se mencionan: acetilo, propionilo, *n*-butirilo, iso-butirilo, *n*-pentanoilo, pivaloilo, *n*-hexanoilo y *n*-heptanoilo.

En el marco de la invención, alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) representan un resto alcoxilo de cadena lineal o ramificado con de 1 a 6 o de 1 a 4 átomos de carbono. Se prefiere un resto alcoxilo de cadena lineal o ramificado con de 1 a 4 átomos de carbono. A modo de ejemplo y preferiblemente se mencionan: metoxilo, etoxilo, *n*-propoxilo, isopropoxilo, *n*-butoxilo, *terc*-butoxilo, *n*-pentoxilo y *n*-hexoxilo.

En el marco de la invención, alcoxicarbonilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y alcoxicarbonilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) representan un resto alcoxilo de cadena lineal o ramificado con de 1 a 6 o de 1 a 4 átomos de carbono, que está unido a través de un grupo carbonilo [-C(=O)-] unido al átomo de oxígeno. Se prefiere un grupo alcoxicarbonilo de cadena lineal o ramificado con de 1 a 4 átomos de carbono en el resto alcoxilo. A modo de ejemplo y preferiblemente se mencionan: metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, *n*-propoxicarbonilo, isopropoxicarbonilo, *n*-butoxicarbonilo, *terc*-butoxicarbonilo, *n*-pentoxicarbonilo y *n*-hexoxicarbonilo.

En el marco de la invención, alcanodiilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), alcanodiilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>) y alcanodiilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) representan un resto alquilo lineal,  $\alpha,\omega$ -divalente, con de 1 a 12, de 1 a 8 o de 1 a 6 átomos de carbono. Se prefiere un grupo alcanodiilo de cadena lineal con de 1 a 8, de manera especialmente preferible con de 1 a 6 átomos de carbono. A modo de ejemplo y preferiblemente se mencionan: metileno, etano-1,2-diilo (1,2-etileno), propano-1,3-diilo (1,3-propileno), butano-1,4-diilo (1,4-butileno), pentano-1,5-diilo (1,5-pentileno), hexano-1,6-diilo (1,6-hexileno), heptano-1,7-diilo (1,7-hexileno), octano-1,8-diilo (1,8-octileno), nonano-1,9-diilo (1,9-nonileno), decano-1,10-diilo (1,10-decileno), undecano-1,11-diilo (1,11-undecileno) y dodecano-1,12-diilo (1,12-dodecileno).

En el marco de la invención, cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) representa un grupo cicloalquilo monocíclico, saturado, con de 3 a 6 átomos de carbono. A modo de ejemplo y preferiblemente se mencionan: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

En el marco de la invención, cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>) representa un grupo cicloalquilo monocíclico o dado el caso bi o tricíclico, saturado, con de 3 a 10 átomos de carbono. A modo de ejemplo y preferiblemente se mencionan: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoililo, ciclodecilo, hexahidroindanilo, decalinilo, biciclo[2.1.1]hexilo, biciclo[2.2.1]heptilo, biciclo[3.2.1]octilo, biciclo[2.2.2]octilo, biciclo[3.2.2]nonilo, biciclo[3.3.1]nonilo, biciclo[3.3.2]decilo, biciclo[4.3.1]decilo y adamantilo.

En el marco de la invención, un aza-heterociclo de 5 a 7 miembros representa un heterociclo monocíclico, saturado, con en total de 5 a 7 átomos de anillo, que contiene un átomo de nitrógeno de anillo, a través del cual está unido al mismo tiempo, y que además de éste puede contener un heteroátomo de anillo adicional de la serie >N-H, >N-CH<sub>3</sub> o -O-, que se encuentra en una posición 1,3 o dado el caso 1,4 en relación con el átomo de nitrógeno de anillo mencionado en primer lugar. A modo de ejemplo y preferiblemente se mencionan: pirrolidinilo, 1,3-oxazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, *N*'-metilpiperazinilo y morfolinilo.

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

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

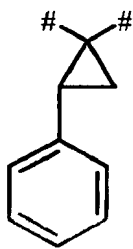
L representa alcanodiilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>) de cadena lineal, en el que (a) dos átomos de carbono pueden estar unidos en puente en una relación 1,3 ó 1,4 entre sí incluyendo el o los dos átomos de carbono que se encuentran entre los mismos formando un anillo de fenilo o (b) hasta dos grupos CH<sub>2</sub> no adyacentes entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

R<sup>1</sup> representa hidrógeno,

R<sup>2</sup> representa bencilo, 4-hidroxibencilo, 1-feniletilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> junto con el átomo de carbono, al que están ambos unidos, forman un grupo 2-fenil-ciclopropano-1,1-diilo de fórmula



, en la que

# indica los puntos de unión con las partes restantes de la molécula,

5 y

T representa un grupo de fórmula  $-C(=O)-OR^3$ ,  $-C(=O)-NR^4R^5$ ,  $-C(=O)-NH-NH-R^6$  o  $-CH_2-O-R^7$ , en las que

10  $R^3$  significa hidrógeno o alquilo ( $C_1-C_4$ ), que puede estar sustituido con fenilo, naftilo o cicloalquilo ( $C_3-C_{10}$ ),

$R^4$  significa hidrógeno o metilo,

15  $R^5$  significa hidrógeno o alquilo ( $C_1-C_4$ ), que puede estar sustituido con fenilo,

o

20  $R^4$  y  $R^5$  están unidos entre sí y junto con el átomo de nitrógeno, al que están unidos, forman un anillo de piperidina o de morfolino,

$R^6$  significa alquilcarbonilo ( $C_1-C_4$ ) o benzoilo,

y

25  $R^7$  significa alquilo ( $C_1-C_4$ ) o bencilo, que puede estar sustituido en el grupo fenilo con alcóxicarbonilo ( $C_1-C_4$ ) o carboxilo,

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

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

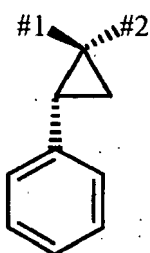
L representa alcanodiilo ( $C_1-C_6$ ) de cadena lineal,

35  $R^1$  representa hidrógeno,

$R^2$  representa bencilo, 1-feniletilo o 1H-indol-3-ilmetilo,

o

40  $R^1$  y  $R^2$  junto con el átomo de carbono, al que están ambos unidos, forman un grupo (1S,2R)-2-fenilciclopropano-1,1-diilo de fórmula



, en la que

45 #1 indica el punto de unión con el átomo de nitrógeno adyacente

y

#2 indica el punto de unión con el grupo T,

y

T representa un grupo de fórmula  $-C(=O)-OR^3$ ,  $-C(=O)-NR^4R^5$ ,  $-C(=O)-NH-NH-R^6$  o  $-CH_2-O-R^7$ , en las que

$R^3$  significa hidrógeno, metilo, etilo, *n*-propilo, bencilo o adamantilmetilo,

$R^4$  significa hidrógeno o metilo,

$R^5$  significa hidrógeno, metilo, etilo, *n*-propilo o bencilo,

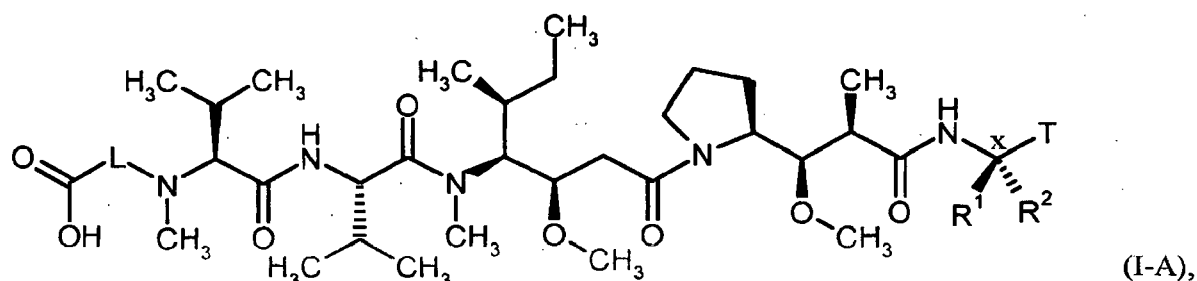
$R^6$  significa benzoilo,

y

$R^7$  significa bencilo, que puede estar sustituido en el grupo fenilo con metoxycarbonilo o carboxilo,

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

En el marco de la presente invención son especialmente importantes los compuestos de fórmula (I-A)



en la que L,  $R^1$ ,  $R^2$  y T tienen los significados definidos anteriormente, y el átomo de carbono de  $C^x$  que porta los restos  $R^1$  y  $R^2$  presenta la configuración absoluta ilustrada,

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

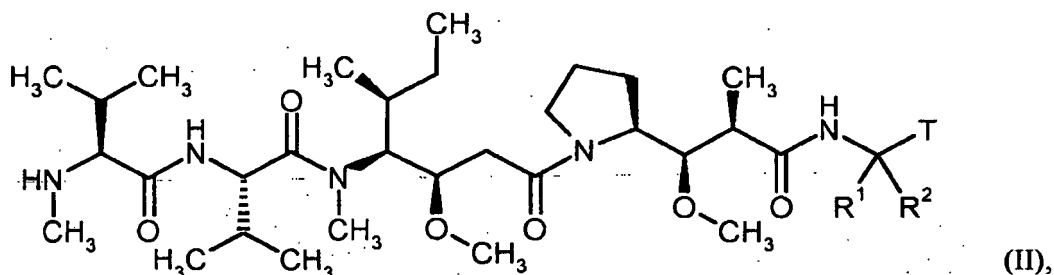
En el marco de la presente invención también son especialmente importantes los compuestos de fórmulas (I) y (I-A), en las que

L representa propano-1,3-diilo,

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

Las definiciones de restos indicadas en detalle en las respectivas combinaciones o combinaciones preferidas de restos se reemplazan también de manera arbitraria, independientemente de las respectivas combinaciones de restos indicadas, por definiciones de radicales de otras combinaciones. Se prefieren muy especialmente las combinaciones de dos o más de los rangos preferidos mencionados anteriormente.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para la producción de los compuestos de fórmula (I), caracterizado porque se hace reaccionar un compuesto de fórmula (II)

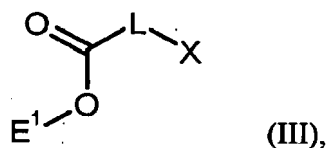


en la que  $R^1$ ,  $R^2$  y T tienen los significados indicados anteriormente,

en un disolvente inerte o bien



[A] mediante alquilación inducida por bases con un compuesto de fórmula (III)



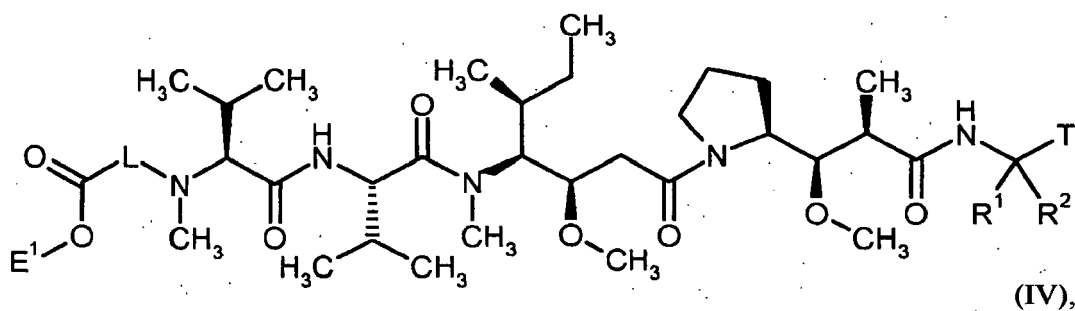
en la que L tiene el significado indicado anteriormente,

E¹ representa hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o bencilo,

y

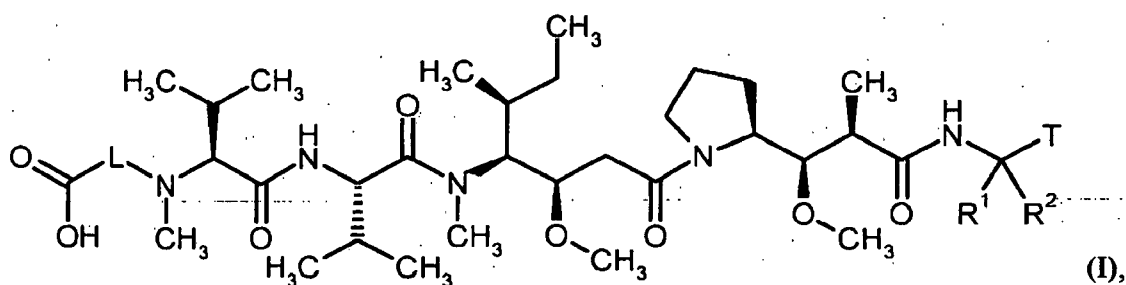
X representa un grupo saliente, como por ejemplo cloruro, bromuro, yoduro, mesilato, triflato o tosilato,

para dar un compuesto de fórmula (IV)



en la que E¹, L, R¹, R² y T tienen los significados indicados anteriormente,

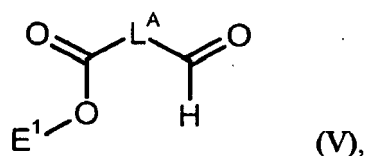
y a continuación, en el caso de que E¹ represente alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o bencilo, se escinde este resto éster según métodos habituales, de modo que, al igual que en el caso de que E¹ en (III) represente hidrógeno, se obtiene el ácido carboxílico según la invención de fórmula (I)



en la que L, R¹, R² y T tienen los significados indicados anteriormente,

o

[B] mediante la reacción con un compuesto de fórmula (V)



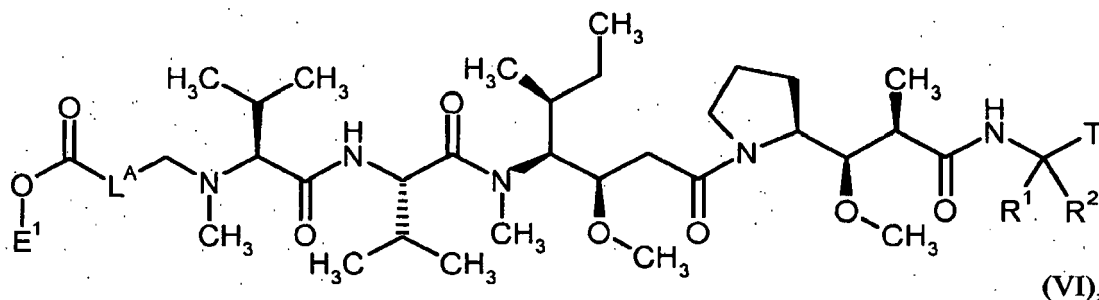
en la que

E¹ representa hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o bencilo,

y

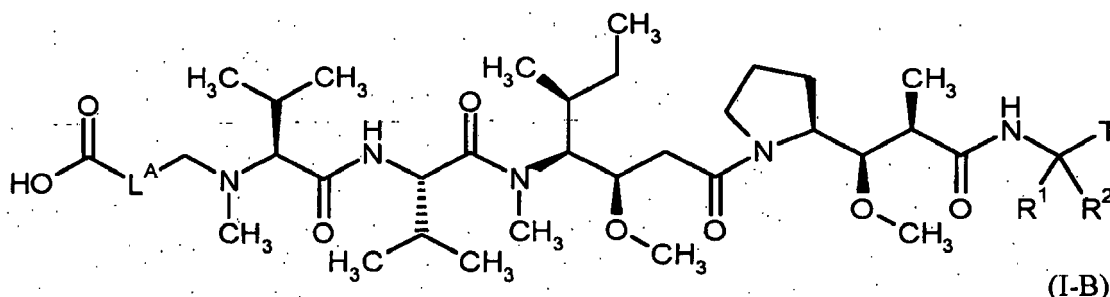
$L^A$  tienen el significado de L definido anteriormente, pero está acortado una unidad  $CH_2$  en la longitud de cadena de alquilo,

se convierte en presencia de un agente reductor adecuado en un compuesto de fórmula (VI)



en la que  $E^1$ ,  $L^A$ ,  $R^1$ ,  $R^2$  y T tienen los significados indicados anteriormente,

y a continuación, en el caso de que  $E^1$  represente alquilo ( $C_1$ - $C_4$ ) o bencilo, se escinde este resto éster según métodos habituales, de modo que, al igual que en el caso de que  $E^1$  en (V) represente hidrógeno, se obtiene el ácido carboxílico según la invención de fórmula (I-B)



en la que  $L^A$ ,  $R^1$ ,  $R^2$  y T tienen los significados indicados anteriormente,

y se separan los compuestos resultantes de fórmula (I) o (I-B) dado el caso en sus enantiómeros y/o diastereómeros y/o se hacen reaccionar con los (i) disolventes y/o (ii) bases o ácidos correspondientes para dar sus solvatos, sales y/o solvatos de las sales.

Como disolventes inertes para la reacción (II) + (III)  $\rightarrow$  (IV) son adecuados, por ejemplo, éteres tales como dietil éter, diisopropil éter, metil-*tert*-butil éter, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, 1,2-dimetoxietano o bis-(2-metoxietil) éter, hidrocarburos tales como benceno, tolueno, xileno, pentano, hexano, heptano, ciclohexano o fracciones de petróleo, o disolventes apróticos dipolares tales como acetona, metiletilcetona, acetonitrilo, dimetilsulfóxido (DMSO), *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N,N*-dimetilacetamida (DMA), *N,N*-dimetilpropilenurea (DMPU), *N*-metilpirrolidinona (NMP) o piridina. Igualmente es posible utilizar mezclas de tales disolventes. Preferiblemente se utiliza acetona o *N,N*-dimetilformamida.

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

La reacción (II) + (III)  $\rightarrow$  (IV) se lleva a cabo en general en un intervalo de temperatura de desde  $-20^\circ\text{C}$  hasta  $+100^\circ\text{C}$ , preferiblemente a de  $0^\circ\text{C}$  a  $+50^\circ\text{C}$ . La reacción puede tener lugar a presión normal, elevada o reducida (por ejemplo de desde 0,5 hasta 5 bar); por regla general se trabaja a presión normal.

La reacción (II) + (V)  $\rightarrow$  (VI) tiene lugar en los disolventes habituales para una aminación reductora, inertes en las condiciones de reacción, dado el caso en presencia de un ácido y/o de un agente extractor de agua como

catalizador. A tales disolventes pertenecen, por ejemplo, alcoholes tales como metanol, etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol o *terc*-butanol, éteres tales como tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, 1,2-dimetoxietano o bis-(2-metoxietil) éter, u otros disolventes tales como diclorometano, 1,2-dicloroetano, *N,N*-dimetilformamida o también agua. Igualmente es posible utilizar mezclas de estos disolventes. Como disolvente se utiliza preferiblemente una mezcla de 1,4-dioxano/agua con adición de ácido acético o ácido clorhídrico diluido como catalizador.

Como agentes reductores para esta reacción son adecuados en particular borohidruros complejos, tales como, por ejemplo, borohidruro de sodio, cianoborohidruro de sodio, triacetoxiborohidruro de sodio o borohidruro de tetra-*n*-butilamonio. Preferiblemente se utiliza cianoborohidruro de sodio.

La reacción (II) + (V)  $\rightarrow$  (VI) se lleva a cabo en general en un intervalo de temperatura de desde 0°C hasta +120°C, preferiblemente a de +50°C a +100°C. La reacción puede tener lugar a presión normal, elevada o reducida (por ejemplo de desde 0.5 hasta 5 bar); por regla general se trabaja a presión normal.

La escisión de un resto éster E<sup>1</sup> en las etapas de procedimiento (IV) → (I) y (VI) → (I-B) [E<sup>1</sup> = alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o bencilo] se lleva a cabo según métodos habituales, tratando el éster en un disolvente inerte con un ácido o una base, convirtiéndose en esta última variante la sal de carboxilato formada en primer lugar en el ácido carboxílico libre, mediante la posterior adición de un ácido. En el caso de un *terc*-butil éster, la escisión tiene lugar preferiblemente por medio de un ácido. En el caso de un éster bencílico, la escisión puede tener lugar también mediante hidrogenólisis en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón activo.

El resto éster E<sup>1</sup> procedente del compuesto (III) o (V) se selecciona en este caso de tal modo que las condiciones para su escisión sean compatibles con el respectivo grupo T en el compuesto (IV) y (VI).

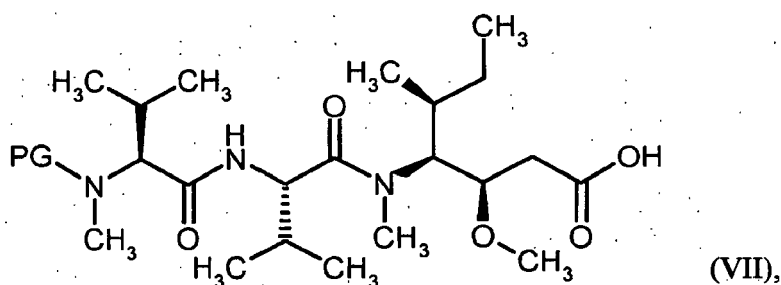
Como base para la hidrólisis estérica son adecuadas las bases inorgánicas habituales. A éstas pertenecen en particular hidróxidos alcalinos o alcalinotérreos tales como, por ejemplo, hidróxido de litio, de sodio, de potasio o de bario, o carbonatos alcalinos o alcalinotérreos tales como carbonato de sodio, de potasio o de calcio. Se prefieren los hidróxidos de litio, de sodio o de potasio.

Como ácido para la escisión de ésteres son adecuados en general ácido sulfúrico, cloruro de hidrógeno/ácido clorhídrico, bromuro de hidrógeno/ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido trifluorometanosulfónico o sus mezclas, dado el caso con adición de agua. Se prefieren cloruro de hidrógeno o ácido trifluoroacético en el caso de un éster *terc*-butílico y ácido clorhídrico en el caso de un éster metílico.

Como disolventes inertes para estas reacciones son adecuados agua o los disolventes orgánicos habituales para una escisión de ésteres. A éstos pertenecen preferiblemente los alcoholes inferiores tales como metanol, etanol, *n*-propanol o isopropanol, éteres tales como dietil éter, tetrahydrofurano, 1,4-dioxano o 1,2-dimetoxietano, u otros disolventes tales como diclorometano, acetona, metiletilcetona, *N,N*-dimetilformamida o dimetilsulfóxido. Igualmente es posible utilizar mezclas de estos disolventes. En el caso de una hidrólisis estérica básica se utilizan preferiblemente mezclas de agua con 1,4-dioxano, tetrahydrofurano, metanol, etanol y/o dimetilformamida. En el caso de la reacción con ácido trifluoroacético se utiliza preferentemente diclorometano y en el caso de la reacción con cloruro de hidrógeno, preferiblemente tetrahydrofurano, dietil éter, 1,4-dioxano o agua.

La escisión de ésteres tiene lugar en general en un intervalo de temperatura de desde -20°C hasta +100°C, preferiblemente a de 0°C a +50°C.

Los compuestos de fórmula (II) pueden producirse según métodos habituales de la química de péptidos, por ejemplo acoplando un compuesto de fórmula (VII)



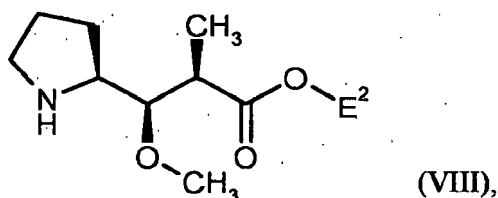
en la que

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

butoxicarbonilo o benciloxycarbonilo,

en un disolvente inerte activando la función carboxilo en (VII) o bien

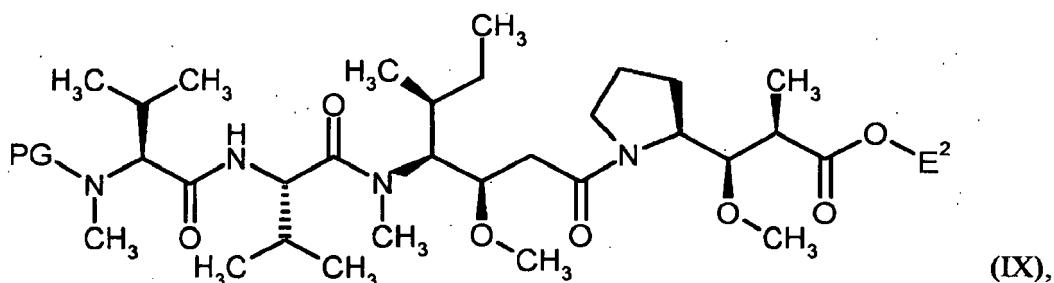
5 [C] en primer lugar con un compuesto de fórmula (VIII)



en la que

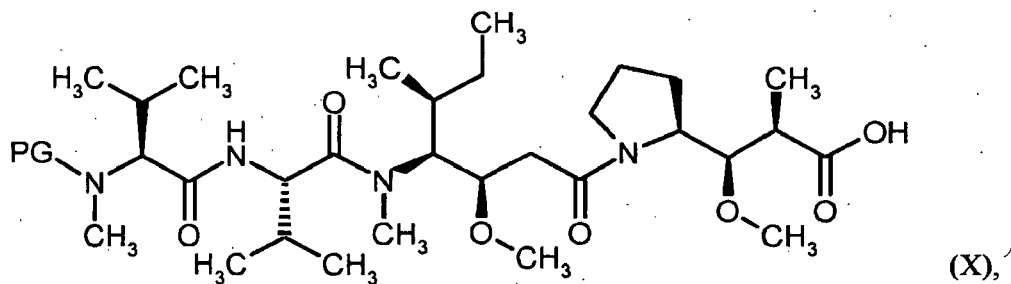
10  $E^2$  representa hidrógeno, alquilo ( $C_1$ - $C_4$ ) o bencilo,

o una sal de este compuesto para dar un compuesto de fórmula (IX)



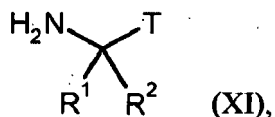
en la que  $E^2$  y PG tienen los significados indicados anteriormente,

20 a continuación, en el caso de que  $E^2$  represente alquilo ( $C_1$ - $C_4$ ) o bencilo, se escinde este resto éster según métodos habituales y se acopla el ácido carboxílico resultante de fórmula (X)



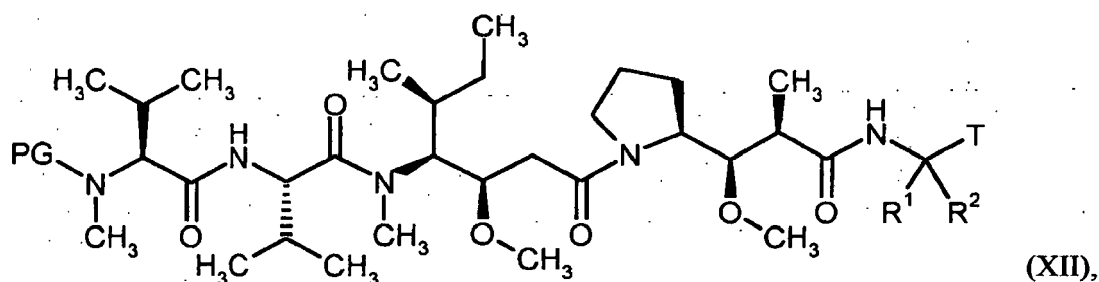
en la que PG tiene el significado indicado anteriormente,

25 entonces en un disolvente inerte activando la función carboxilo con un compuesto de fórmula (XI)



30 en la que  $R^1$ ,  $R^2$  y T tienen los significados indicados anteriormente,

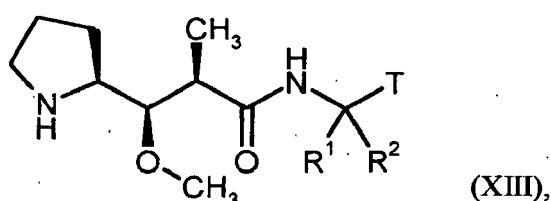
o una sal de este compuesto para dar un compuesto de fórmula (XII)



en la que PG, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y T tienen los significados indicados anteriormente,

5 o

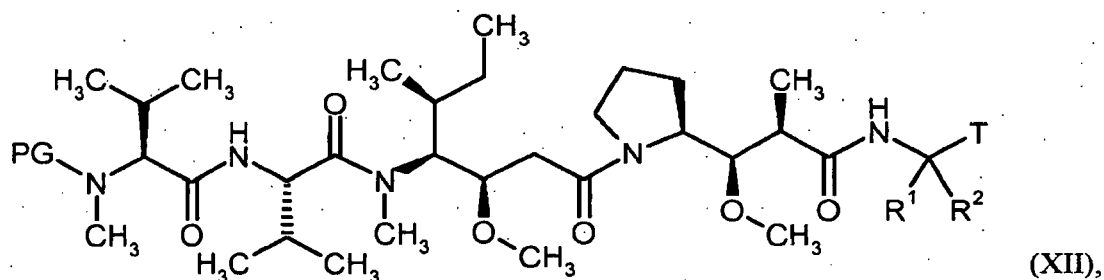
[D] con un compuesto de fórmula (XIII)



10

en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y T tienen los significados indicados anteriormente,

o una sal de este compuesto para dar igualmente el compuesto de fórmula (XII)

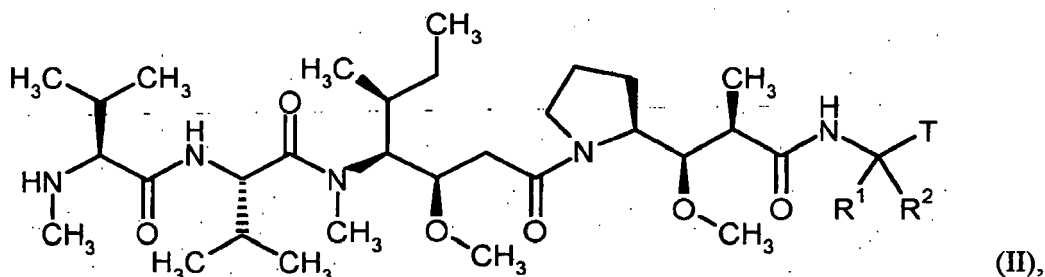


15

en la que PG, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y T tienen los significados indicados anteriormente,

y desprotegiendo el compuesto de fórmula (XII) entonces de manera habitual para dar un compuesto de fórmula (II)

20



en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y T tienen los significados indicados anteriormente.

25

Las reacciones de acoplamiento descritas anteriormente (formación de amida a partir del respectivo componente de amina y ácido carboxílico) se llevan a cabo según métodos generalmente habituales de la química de péptidos [véanse por ejemplo M. Bodanszky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlín, 1993; M. Bodanszky y A. Bodanszky, The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlín, 1984; H.-D. Jakubke y H. Jeschkeit, Aminosäuren, Peptide, Proteine, Verlag Chemie, Weinheim, 1982].

30

Disolventes inertes para las reacciones de acoplamiento (VII) + (VIII) → (IX), (X) + (XI) → (XII) y (VII) + (XIII) → (XII) son por ejemplo éteres tales como dietil éter, diisopropil éter, *tert*-butil-metil éter, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, 1,2-

dimetoxietano o bis-(2-metoxietil) éter, hidrocarburos tales como benceno, tolueno, xileno, pentano, hexano, heptano, ciclohexano o fracciones de petróleo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, triclorometano, tetraclorometano, 1,2-dicloroetano, tricloroetileno o clorobenceno, o disolventes apróticos dipolares tales como acetona, metiletilcetona, acetonitrilo, acetato de etilo, piridina, dimetilsulfóxido (DMSO), *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N,N*-dimetilacetamida (DMA), *N,N*-dimetilpropilenurea (DMPU) o *N*-metilpirrolidinona (NMP). Igualmente es posible utilizar mezclas de tales disolventes. Preferiblemente se emplea *N,N*-dimetilformamida.

Como agentes de activación/condensación para estos acoplamientos son adecuados por ejemplo carbodiimidas tales como *N,N'*-dietil-, *N,N'*-dipropil-, *N,N'*-diisopropil-, *N,N'*-d ciclohexil-carbodiimida (DCC) o hidrocloreuro de *N*-(3-dimetilaminoisopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDC), derivados de fosgeno tales como *N,N'*-carbonildiimidazol (CDI) o cloroformiato de isobutilo, compuesto s de 1,2-oxazolio tales como 3-sulfato de 2-etil-5-fenil-1,2-oxazolio o perclorato de 2-*terc*-butil-5-metilisoxazolio, compuestos de acilamino tales como 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina,  $\alpha$ -clorenaminas tales como 1-cloro-2-metil-1-dimetilamino-1-propeno, compuestos de fósforo tales como anhídrido del ácido propanofosfónico, éster dietílico del ácido cianofosfónico, cloruro de bis-(2-oxo-3-oxazolidinil)-fosforilo, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)fosfonio o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris-(pirrolidino)fosfonio (PyBOP), o compuestos de uronio tales como tetrafluoroborato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametiluronio (TBTU), hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de 2-(2-oxo-1-(2*H*)-piridil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TPTU), hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametiluronio (HATU) o tetrafluoroborato de *O*-(1*H*-6-clorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TCTU), dado el caso en combinación con otros adyuvantes tales como 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) o *N*-hidroxisuccinimida (HOSu), y como bases carbonatos alcalinos, por ejemplo carbonato de sodio o de potasio, o bases de amina terciarias tales como trietilamina, *N*-metilmorfolina, *N*-metilpiperidina, *N,N*-diisopropiletilamina, piridina o 4-*N,N*-dimetilaminopiridina.

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

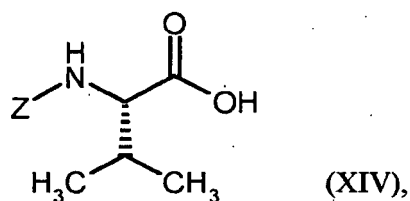
Las reacciones de acoplamiento (VII) + (VIII)  $\rightarrow$  (IX), (X) + (XI)  $\rightarrow$  (XII) y (VII) + (XIII)  $\rightarrow$  (XII) se llevan a cabo por regla general en un intervalo de temperaturas de desde -20°C hasta +60°C, preferiblemente a de 0°C a +40°C. Las reacciones pueden tener lugar a presión normal, elevada o reducida (por ejemplo de desde 0,5 hasta 5 bar); en general se trabaja a presión normal.

Grupos funcionales dado el caso presentes, como en particular grupos amino, hidroxilo y carboxilo, en las etapas de procedimiento descritas anteriormente, en caso de que fuera conveniente o necesario, también pueden estar presentes en forma temporalmente protegida. A este respecto, la introducción y eliminación de estos grupos protectores tiene lugar según métodos habituales conocidos de la química de péptidos [véanse por ejemplo T.W. Greene y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, Nueva York, 1999; M. Bodanszky y A. Bodanszky, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlín, 1984]. En el caso de existir varios grupos protegidos, su liberación puede producirse dado el caso de manera simultánea en una reacción de una sola etapa o también en etapas de reacción separadas.

Como grupo protector de amino se utiliza preferiblemente *terc*-butoxicarbonilo (Boc), benciloxicarbonilo (Z) o (9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo (Fmoc); para una función hidroxilo o carboxilo se utiliza preferentemente *terc*-butilo o bencilo como grupo protector. La escisión de un grupo *terc*-butilo o *terc*-butoxicarbonilo se efectúa habitualmente mediante el tratamiento con un ácido fuerte tal como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno o ácido trifluoroacético, en un disolvente inerte tal como dietil éter, 1,4-dioxano, diclorometano o ácido acético; dado el caso, esta reacción también puede llevarse a cabo sin adición de un disolvente inerte. En el caso del bencilo o benciloxicarbonilo como grupo protector, éstos se eliminan preferiblemente mediante hidrogenólisis en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón activo. El grupo (9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo se escinde generalmente con ayuda de una base de amina secundaria tal como dietilamina o piperidina.

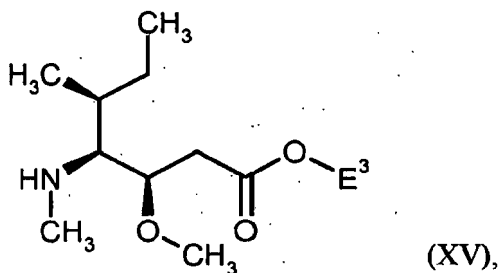
A este respecto, un resto éster E<sup>2</sup> en el compuesto (VIII) [E<sup>2</sup> = alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o bencilo] se selecciona de tal manera que las condiciones de su escisión sean compatibles con el grupo protector PG utilizado en cada caso del compuesto (VII).

Los compuestos de fórmula (VII) pueden producirse de manera análoga, por ejemplo porque en primer se acopla *N*-(benciloxicarbonil)-L-valina de fórmula (XIV)



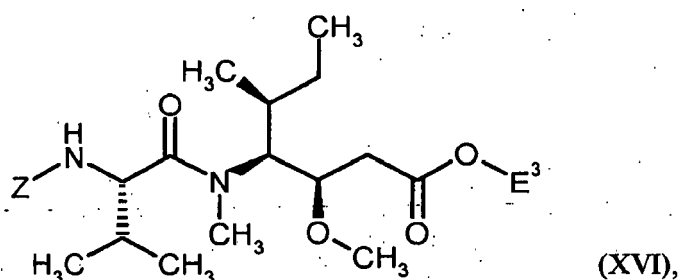
en la que Z representa el grupo protector de benciloxycarbonilo,

5 con ayuda de un agente de condensación con un compuesto de fórmula (XV)



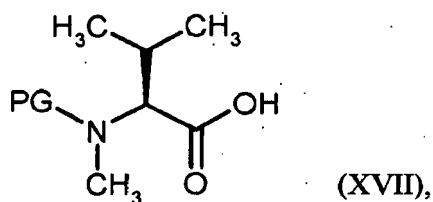
en la que E<sup>3</sup> representa alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>),

10 o una sal de este compuesto para dar un compuesto de fórmula (XVI)



15 en la que E<sup>3</sup> y Z tienen los significados indicados anteriormente,

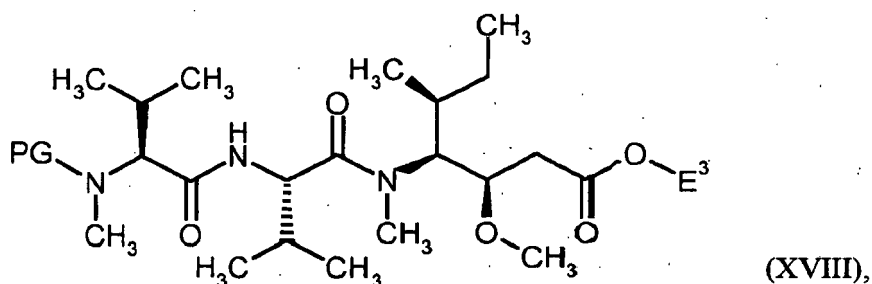
éste, tras la eliminación hidrogenolítica del grupo protector Z, se acopla entonces en presencia de un agente de condensación con *N*-metil-L-valina *N*-protegida de fórmula (XVII)



20 en la que

25 PG representa un grupo protector de amino como por ejemplo (9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo, *tert*-butoxicarbonilo o benciloxycarbonilo,

para dar un compuesto de fórmula (XVIII)



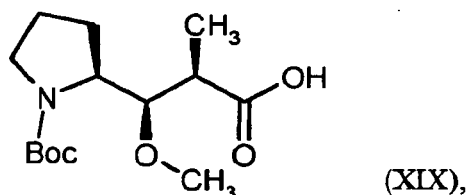
en la que  $E^3$  y PG tienen los significados indicados anteriormente,

- 5 y finalmente se convierte el grupo éster  $-C(O)O-E^3$  en (XVIII) según métodos habituales en el ácido carboxílico libre (VII).

Los acoplamientos (XIV) + (XV)  $\rightarrow$  (XVI) y (XVI) Z-desprotegido + (XVII)  $\rightarrow$  (XVIII) se llevan a cabo en condiciones de reacción análogas a las descritas anteriormente para las etapas de acoplamiento explicadas en los procedimientos [C] y [D].

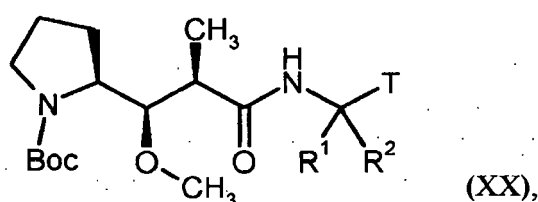
La hidrólisis del grupo éster  $-C(O)O-E^3$  en la etapa de reacción (XVIII)  $\rightarrow$  (VII) tiene lugar de manera análoga a la descrita anteriormente en el marco de las secuencias de procedimiento [A] y [B] para el resto éster  $E^1$ . A este respecto, el grupo alquilo  $E^3$  en el compuesto (XV) se selecciona de tal manera que las condiciones de su escisión sean compatibles con el grupo protector PG utilizado en cada caso del compuesto (XVII).

Por su parte, puede accederse a los compuestos de fórmula (XIII) mediante el acoplamiento del compuesto (XI) descrito anteriormente con el compuesto (XIX)



en la que Boc representa el grupo protector de *tert*-butoxicarbonilo,

para dar un compuesto de fórmula (XX)



en la que Boc,  $R^1$ ,  $R^2$  y T tienen los significados indicados anteriormente,

- 30 y la escisión posterior del grupo protector Boc.

La reacción de acoplamiento (XI) + (XIX)  $\rightarrow$  (XX) se lleva a cabo a su vez en condiciones análogas a las descritas anteriormente en las etapas de acoplamiento explicadas en los procedimientos [C] y [D].

35 Los compuestos de fórmulas (III), (V), (VIII), (XI), (XIV), (XV), (XVII) y (XIX) incluyendo, cuando sea adecuado, las formas quirales o diastereoméricas de los mismos, pueden obtenerse comercialmente o se encuentran descritas como tales en la bibliografía, o pueden obtenerse de manera conocida para el experto, en analogía con los métodos publicados en la bibliografía. Numerosas prescripciones detalladas así como citas bibliográficas para la producción de los materiales de partida se encuentran también en la parte experimental en el apartado con respecto a la producción de los compuestos de partida y productos intermedios.

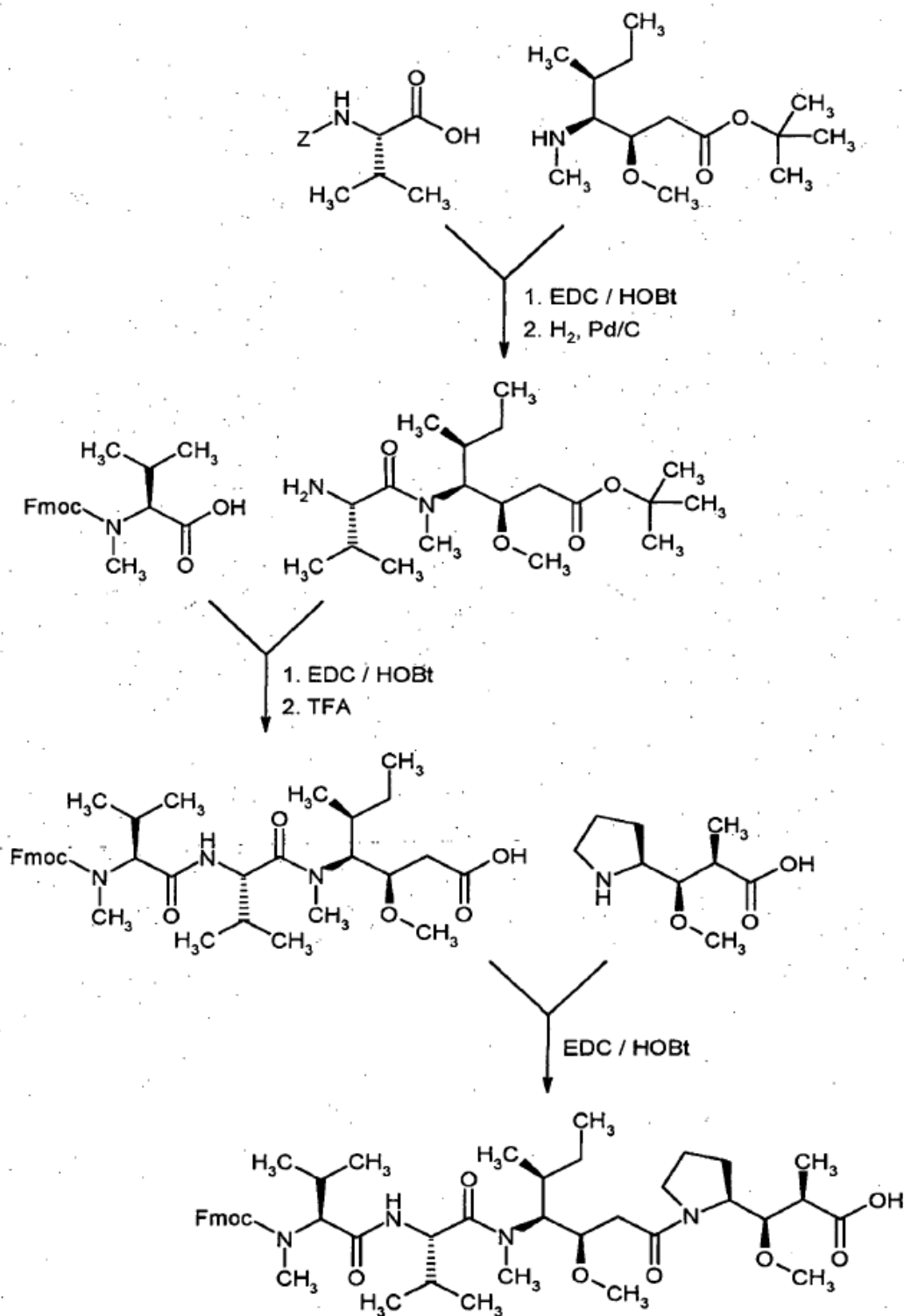
Si no estuvieran a disposición los correspondientes materiales de partida isoméricamente puros, entonces una separación de los compuestos según la invención en los correspondientes enantiómeros y/o diastereómeros también puede tener lugar convenientemente ya en la etapa de los compuestos (II), (IV), (VI), (XI), (XII), (XIII) y (XX), que



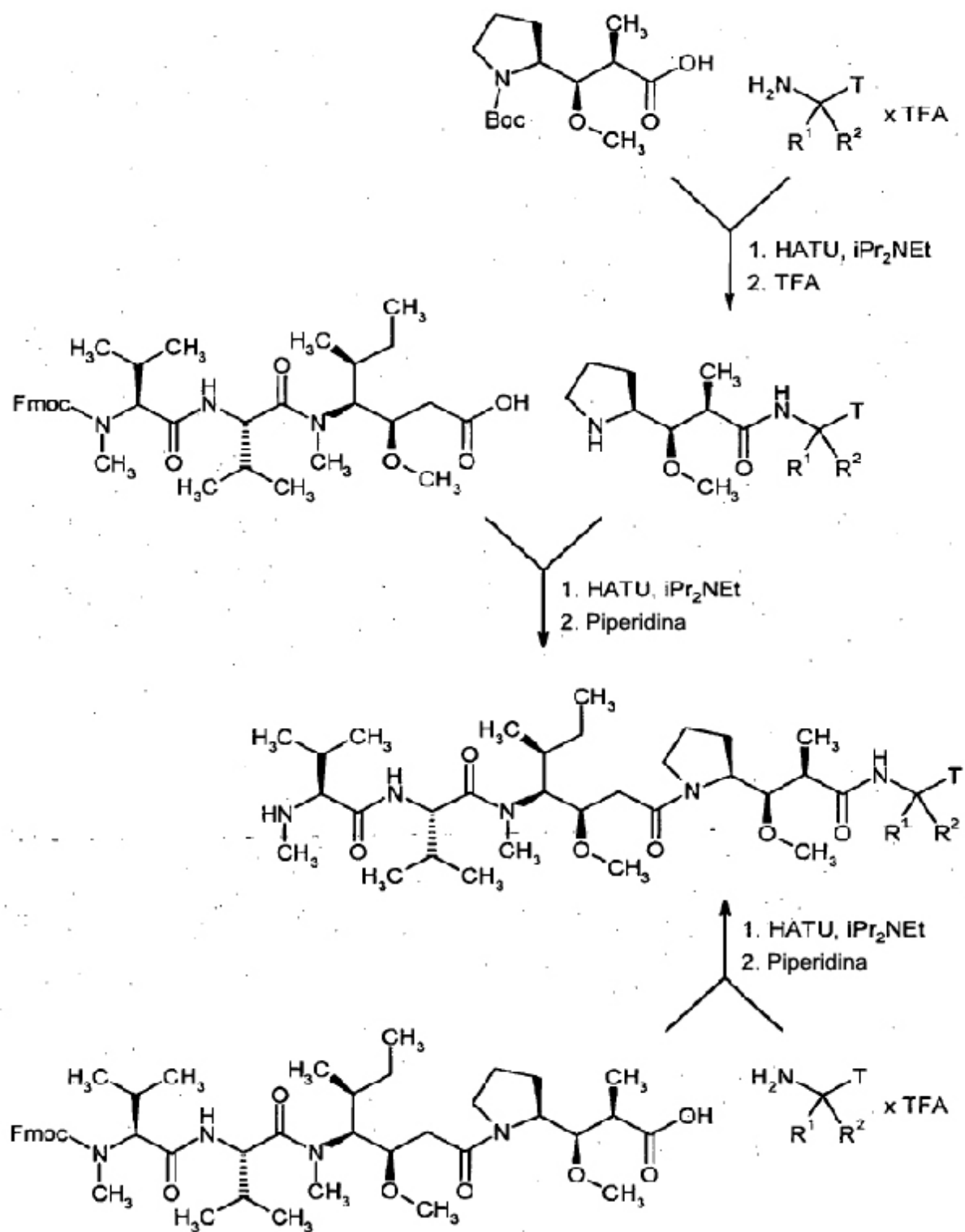
entonces se siguen haciendo reaccionar de forma separada según las etapas de reacción descritas anteriormente. Una separación de los estereoisómeros de este tipo puede llevarse a cabo según métodos habituales conocidos por el experto. Preferiblemente se aplican procedimientos cromatográficos en fases de separación aquirales, o quirales; en el caso de ácidos carboxílicos libres como productos intermedios, alternativamente puede tener lugar también una separación a través de las sales diastereoméricas con ayuda de bases quirales.

La producción de los compuestos según la invención puede ilustrarse a modo de ejemplo mediante los siguientes esquemas de reacción:

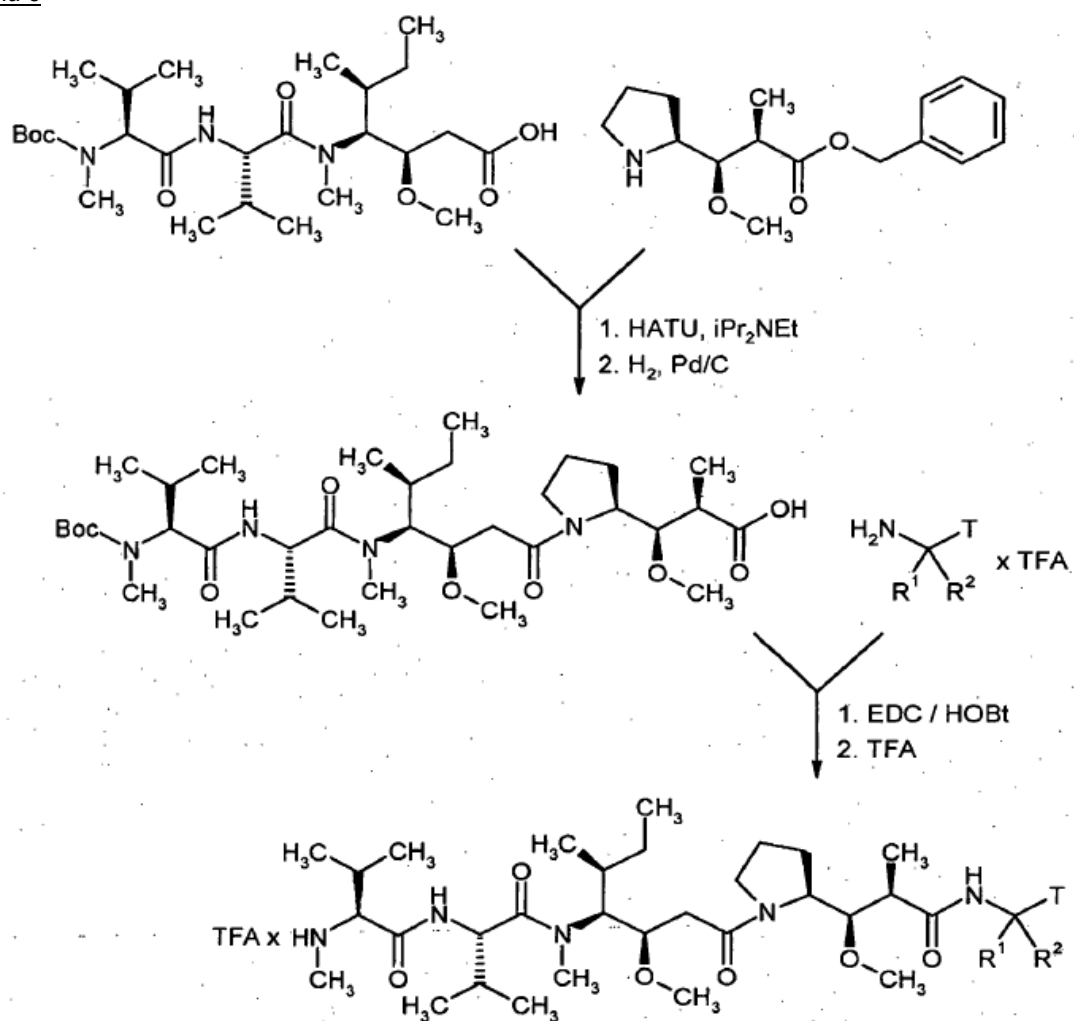
*Esquema 1*



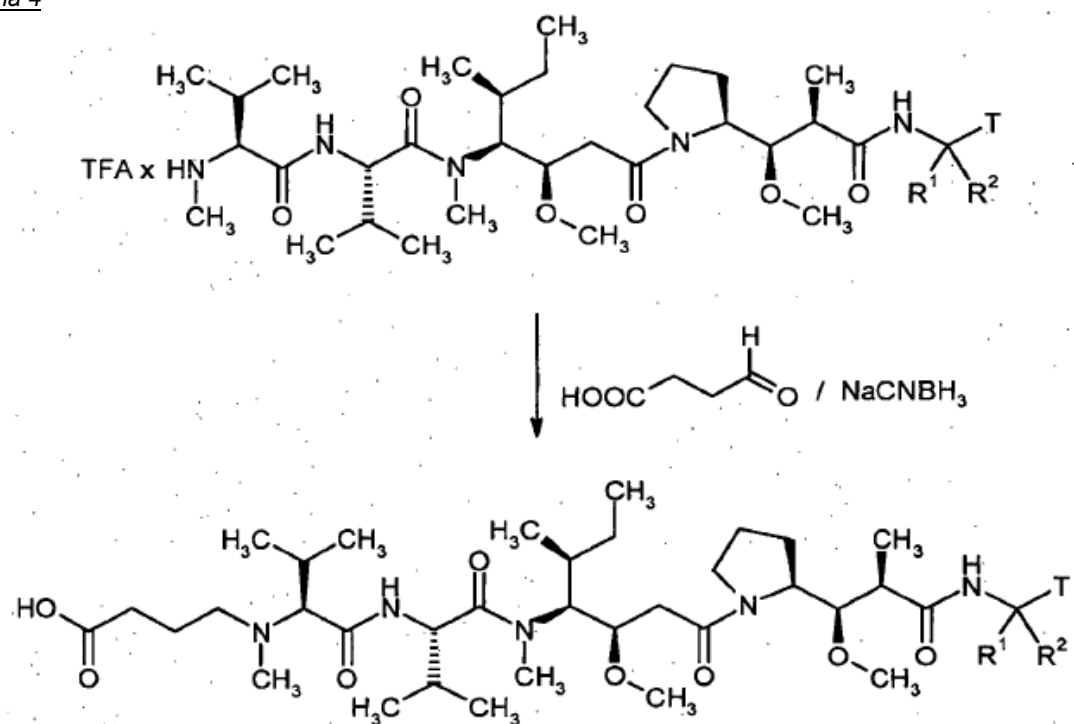
Esquema 2



Esquema 3



Esquema 4



Los compuestos según la invención presentan propiedades farmacológicas valiosas y pueden utilizarse para la prevención y el tratamiento de enfermedades en humanos y animales.

En comparación con otros derivados de auristatina conocidos del estado de la técnica, el grupo carboxialquilo N-terminal [HOOC-L- en la fórmula (I)] contenido en los compuestos de la presente invención, no tiene la mera función de un grupo de unión para la unión potencial con proteínas de anticuerpos u otros ligandos, sino que representa más bien un elemento estructural constitutivo para el perfil de propiedades sorprendentemente ventajoso de estos compuestos.

Los compuestos según la invención presentan en comparación, por ejemplo, con la monometilauristatina F (MMAF) una actividad citotóxica claramente más fuerte y tiene por otro lado un potencial reducido de ser al mismo tiempo también sustratos para proteínas transportadoras celulares.

Por tanto, los compuestos según la invención son adecuados, en especial medida, para el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas en humanos y mamíferos en general. Los compuestos pueden, por un lado, inhibir, bloquear, reducir o disminuir la proliferación celular y la división celular y, por otro lado, reforzar la apoptosis.

A las enfermedades hiperproliferativas, para cuyo tratamiento pueden utilizarse los compuestos según la invención, pertenece especialmente el grupo de las enfermedades cancerosas y tumorales. Entre ellas, en el marco de la presente invención, se entienden en particular las siguientes enfermedades, pero sin estar limitado a las mismas: carcinomas de pecho y tumores de pecho (carcinomas mamarios incluyendo formas ductales y lobulares, también *in situ*), tumores de las vías respiratorias (carcinoma de células pequeñas y células no pequeñas, carcinomas bronquiales), tumores cerebrales (por ejemplo del tronco cerebral y del hipotálamo, astrocitoma, ependimoma, glioblastoma, gliomas, meduloblastoma, meningiomas así como tumores neuroectodérmicos y pineales), tumores de los órganos digestivos (carcinomas de esófago, estómago, vesícula biliar, intestino delgado, intestino grueso, recto y anal), tumores hepáticos (entre otros carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma y colangiocarcinoma hepatocelular mixto), tumores de la zona de la cabeza y el cuello (carcinoma de laringe, hipofaringe, nasofaringe, orofaringe, labios y cavidad oral, melanomas orales), tumores cutáneos (basaliomas, espinaliomas, carcinomas del epitelio escamoso, sarcoma de Kaposi, melanomas malignos, cáncer de piel de tipo no melanoma, cáncer de piel de células Merkel, tumores de mastocitos), tumores del tejido conjuntivo y de apoyo (entre otros sarcomas de partes blandas, osteosarcomas, histiocitomas fibrosos malignos, condrosarcomas, fibrosarcomas, hemangiosarcomas, leiomiomasarcomas, liposarcomas, linfosarcomas y rhabdomiomasarcomas), tumores oculares (entre otros, melanoma intraocular y retinoblastoma), tumores de las glándulas endocrinas y exocrinas (por ejemplo de las glándulas tiroideas y paratiroides, carcinomas de páncreas, adenocarcinomas), tumores del tracto urinario (tumores de vejiga, pene, riñones, pelvis renal y vías urinarias) así como tumores de los órganos reproductivos (carcinomas de endometrio, de cuello cervical, ovárico, vaginal, de vulva y de útero de la mujer, así como carcinomas de próstata y testículos del hombre). A éstas pertenecen también enfermedades proliferativas de la sangre, del sistema linfático y de la médula espinal, en forma sólida y como células circulantes tales como leucemias, linfomas y enfermedades mieloproliferativas, por ejemplo leucemia mieloide aguda, linfoblástica aguda, linfocítica aguda, mielogénica crónica y leucemia de las células pilosas, linfomas relacionados con SIDA, linfomas de Hodgkin, linfomas no-Hodgkin, linfomas cutáneos de células T, linfomas de Burkitt y linfomas del sistema nervioso central.

Estas enfermedades del hombre, bien caracterizadas, pueden aparecer también con etiología comparable en otros mamíferos e igualmente pueden ser tratadas en los mismos con los compuestos de la presente invención.

El tratamiento de las enfermedades cancerosas mencionadas anteriormente por medio de los compuestos según la invención comprende tanto un tratamiento de los tumores sólidos como un tratamiento de formas metastatizadas o circulantes de los mismos.

El término “tratamiento” o “tratar” se utiliza en el marco de esta invención de manera convencional y significa la previsión, el cuidado y la atención de un paciente con el fin de combatir, reducir, debilitar o paliar una enfermedad o una alteración de la salud y mejorar las condiciones de vida que se ven deterioradas por esa enfermedad, como por ejemplo en el caso de una enfermedad cancerosa.

Por tanto, otro objeto de la presente invención es el uso de los compuestos según la invención para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en particular de las enfermedades mencionadas anteriormente.

Otro objeto de la presente invención es el uso de los compuestos según la invención para la producción de un fármaco para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en particular de las enfermedades mencionadas anteriormente.

Otro objeto de la presente invención es el uso de los compuestos según la invención en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en particular de las enfermedades mencionadas anteriormente.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en

particular de las enfermedades mencionadas anteriormente, usando una cantidad eficaz de al menos uno de los compuestos según la invención.

Los compuestos según la invención pueden utilizarse solos o si fuera necesario en combinación con una o más de otras sustancias farmacológicamente activas, siempre que esta combinación no lleve a efectos secundarios no deseados e inaceptables. Por tanto, otro objeto de la presente invención son fármacos, que contienen al menos uno de los compuestos según la invención y uno o varios principios activos adicionales, en particular para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades mencionadas anteriormente.

Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden combinarse con sustancias antihiperproliferativas, citostáticas o citotóxicas conocidas para el tratamiento de enfermedades cancerosas. Como principios activos de combinación adecuados se mencionan a modo de ejemplo:

aldesleucina, ácido alendróico, alfaferona, alitretinoína, alopurinol, aloprim, Aloxi, altretamina, aminoglutetimida, amifostina, amrubicina, amsacrina, anastrozol, Anzemet, Aranesp, arglabina, trióxido de arsénico, Aromasin, 5-azacitidina, azatioprina, BCG o tice-BCG, bestatina, acetato de betametasona, fosfato de sodio de betametasona, bexaroteno, sulfato de bleomicina, broxuridina, bortezomib, busulfano, calcitonina, Campath, capecitabina, carboplatino, Casodex, cefesona, celmoleucina, cerubidina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, ácido clodróico, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomomicina, DaunoXome, decadrona, fosfato de decadrona, Delestrogen, Denileukin Diftitox, Depomedrol, deslorelina, dextrazoxano, dietilestilbestrol, Diflucan, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina, dronabinol, DW-166HC, Eligard, Elitek, Ellence, Emend, epirubicina, epoetina-alfa, Epogen, Eptaplatin, Ergamisol, Estrace, estradiol, fosfato de sodio de estramustina, etinilestradiol, etiol, ácido etidróico, Etopophos, etopósido, fadrozol, Farston, filgrastim, finasterida, Fligastim, floxuridina, fluconazol, fludarabina, 5- monofosfato de fluorodesoxiuridina, 5-fluoruracilo (5-FU), fluoximesterona, flutamida, formestano, fosteabina, fotemustina, fulvestrant, Gammagard, gemcitabina, gemtuzumab, Gleevec, Gliadel, goserelina, hidroclicloruro de granisetron, histrelina, Hycamtin, Hydrocorton, eritro-hidroxinoniladenina, hidroxiiurea, ibritumomab tiuxetano, idarubicina, ifosfamida, interferón-alfa, interferón-alfa-2, interferón-alfa-2 $\alpha$ , interferón-alfa-2 $\beta$ , interferón-alfa-n1, interferón-alfa-n3, interferón-beta, interferón-gamma-1 $\alpha$ , interleucina-2, Intron A, Iressa, irinotecán, Kytril, sulfato de Lentinan, Letrozol, leucovorina, leuprolida, acetato de leuprolida, levamisol, sal de calcio del ácido levofolínico, Levothroid, Levoxyl, lomustina, lonidamina, marinol, mecloretamina, mecabalamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, Menest, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, Metvix, miltefosina, minociclina, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, Modrenal, Myocet, nedaplatino, Neulasta, Neumega, Neupogen, nilutamida, Nolvadex, NSC-631570, OCT-43, octreotida, hidroclicloruro de ondansetrón, Orapred, oxaliplatino, paclitaxel, Pediapred, pegaspargasa, Pegasys, pentostatina, Picibanil, hidroclicloruro de pilocarpina, pirarubicina, plicamicina, porfímero-sodio, prednimustina, prednisolona, prednisona, premarina, procarbazona, Procrit, raltitrexed, Rebif, etidronato de renio-186, rituximab, Roferon-A, Romurtid, Salagen, sandostatina, sargramostima, semustina, Sizofiran, sobuzoxano, Solu-Medrol, estreptozocina, cloruro de estroncio-89, Synthroid, tamoxifeno, tamsulosina, tasonermina, tastolactona, Taxotere, teceleucina, temozolomida, tenipósido, propionato de testosterona, Testred, tioguanina, tiotepa, tiotropina, ácido tiludróico, topotecán, toremifeno, tositumomab, tastuzumab, Teosulfan, tretinoína, Trexall, trimetilmelamina, trimetrexato, acetato de triptorelina, pamoato de triptorelina, UFT, uridina, valrubicina, vesnarinona, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, virulicina, Zinecard, zinostatina estimalamero, Zofran; ABI-007, acolbifeno, Actimun, Afinitak, aminopterina, arzoxifeno, asoprisnilo, atamestano, Atrasentan, avastina, BAY 43-9006 (Sorafenib), CCI-779, CDC-501, Celebrex, cetuximab, crisnatol, acetato de ciproterona, decitabina, DN-101, doxorubicin-MTC, dSLIM, dutasterida, edotecarina, eflornitina, exatecán, fenretinida, dihidroclicloruro de histamina, implante de hidrogel de histrelina, Holmium-166-DOTMP, ácido ibandróico, interferón-gamma, intrón-PEG, ixabepilona, hemocianina de lapa californiana, L-651582, lanreotida, lasofoxifeno, Libra, lonafarnib, miproxifeno, minodronato, MS-209, MTP-PE lipoómico, MX-6, nafarelina, nemorubicina, Neovastat, nolatrexed, oblimersén, Onko-TCS, Osidem, poliglutamato de paclitaxel, pamidronato disódico, PN-401, QS-21, Quazepam, R-1549, raloxifeno, Ranpirnas, ácido 13-cis-retinoico, satraplatino, seocalcitol, T-138067, Tarceva, taxoprexina, timosina-alfa-1, tiazofurina, tipifarnib, tirapazamina, TLK-286, toremifeno, TransMID-107R, Valspodar, vaporeotida, vatalanib, verteporfina, vinflunina, Z-100, ácido zoledróico, así como combinaciones de los mismos.

En una forma de realización preferida, los compuestos de la presente invención pueden combinarse con agentes antihiperproliferativos, que podrían ser a modo de ejemplo, sin que esta relación sea excluyente:

aminoglutetimida, L-asparaginasa, azatioprina, 5-azacitidina, bleomicina, busulfano, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, colaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomomicina, daunorubicina, dietilstilbestrol, 2',2'-difluorodesoxicidina, docetaxel, doxorubicina (adriamicina), epirubicina, epotilona y sus derivados, eritro-hidroxinoniladenina, etinilestradiol, etopósido, fosfato de fludarabina, 5-fluorodesoxiuridina, monofosfato de 5- fluorodesoxiuridina, 5-fluoruracilo, fluoximesterona, flutamida, hexametilmelamina, hidroxiiurea, caproato de hidroxiprogesterona, idarubicina, ifosfamida, interferón, irinotecán, leucovorina, lomustina, mecloretamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, 6-mercaptopurina, Mesna, metotrexato, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, paclitaxel, pentostatina, L-aspartato de N-fosfonoacetilo (PALA), plicamicina, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno, semustina, estreptozocina, tamoxifeno, tenipósido, propionato de testosterona, tioguanina, tiotepa, topotecán, trimetilmelamina, uridina, vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina.

De manera muy prometedora, los compuestos según la invención pueden combinarse también con sustancias terapéuticas biológicas tales como anticuerpos (por ejemplo avastina, Rituxan, Erbitux, herceptina). Los compuestos según la invención pueden conseguir también efectos positivos en combinación con terapias dirigidas contra la angiogénesis como, por ejemplo, con avastina, Axitinib, Recentin, Regorafenib, Sorafenib o Sunitinib. Combinaciones con inhibidores del proteasoma y de mTOR, así como combinaciones con antihormonas e inhibidores enzimáticos metabólicos esteroideos, debido a su perfil de efectos secundarios favorable, son en particular igualmente adecuadas.

En general, con la combinación de compuestos de la presente invención con otros agentes eficaces desde el punto de vista citostático o citotóxico pueden perseguirse los siguientes objetivos:

- una eficacia mejorada en la ralentización del crecimiento de un tumor, en la reducción de su tamaño o incluso en su total eliminación en comparación con un tratamiento con un único principio activo;
- la posibilidad de utilizar los agentes quimioterápicos usados en una dosificación menor que en el caso de la monoterapia;
- la posibilidad de una terapia más tolerable con menos efectos secundarios en comparación con la administración única;
- la posibilidad para el tratamiento de un espectro más amplio de enfermedades tumorales;
- conseguir una mayor tasa de respuesta a la terapia;
- una supervivencia más prolongada de los pacientes en comparación con la terapia convencional hoy en día.

Además, los compuestos según la invención pueden utilizarse también en combinación con radioterapia y/o una intervención quirúrgica.

Otro objeto de la presente invención son fármacos que contienen al menos un compuesto según la invención, habitualmente junto con uno o varios adyuvantes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados, así como su uso para los fines mencionados anteriormente.

Los compuestos según la invención pueden actuar sistémica y/o localmente. Con este fin, pueden aplicarse de manera adecuada tal como, por ejemplo por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmica, transdérmica, conjuntival, ótica o como implante o "endoprótesis".

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

Para la aplicación oral son adecuados, según el estado de la técnica, formas de aplicación funcionales que liberan los compuestos según la invención de forma rápida y/o modificada, que contienen los compuestos según la invención en forma cristalina y/o amorfa y/o disuelta tales como, por ejemplo, comprimidos (comprimidos no recubiertos o recubiertos, por ejemplo con resistencia a los jugos gástricos o que se disuelven de manera retardada o con revestimientos insolubles, que controlan la liberación del compuesto según la invención), comprimidos que se deshacen rápidamente en la cavidad bucal o películas/oblas, películas/líofilizados, cápsulas (por ejemplo cápsulas de gelatina blanda o dura), grageas, granulados, microgránulos, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o disoluciones.

La aplicación parenteral puede producirse evitando una etapa de resorción (por ejemplo por vía intravenosa, intraarterial, intracardial, intraespinal o intralumbal) o desencadenando una resorción (por ejemplo por vía intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la aplicación parenteral son adecuadas como formas de aplicación, entre otras las preparaciones inyectables y para infusión en forma de disoluciones, suspensiones, emulsiones, líofilizados o polvos estériles.

Para las demás vías de aplicación son adecuadas, por ejemplo, formas farmacológicas de inhalación (entre otros inhaladores de polvos, nebulizadores), gotas, soluciones o pulverizaciones nasales, comprimidos de aplicación lingual, sublingual u bucal, películas/oblas o cápsulas, supositorios, preparaciones para oídos y ojos, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas de agitación), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (por ejemplo parches), leche, pastas, espumas, polvos esparcibles, implantes o endoprótesis.

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

Los compuestos según la invención pueden convertirse en las formas de aplicación expuestas. Esto puede tener

lugar de manera en sí conocida mediante mezclado con adyuvantes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados. A estos adyuvantes pertenecen, entre otros, los excipientes (por ejemplo celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (por ejemplo polietilenglicoles líquidos), emulsionantes y dispersantes o humectantes (por ejemplo dodecilsulfato de sodio, oleato de polioxisorbitano), aglutinantes (por ejemplo polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo albúmina), estabilizantes (por ejemplo antioxidantes como, por ejemplo, ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo pigmentos inorgánicos como, por ejemplo, óxidos de hierro) y correctores de sabor y/u olor.

En general, ha resultado ser ventajoso, en el caso de aplicación parenteral, administrar cantidades de aproximadamente 0,001 a 1 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/kg de peso corporal para conseguir resultados eficaces. En el caso de aplicación oral, la dosificación asciende aproximadamente a de 0,01 a 100 mg/kg, preferiblemente a aproximadamente de 0,01 a 20 mg/kg y de manera especialmente preferible de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal.

A pesar de ello, dado el caso puede ser necesario desviarse de dichas cantidades, concretamente en función del peso corporal, la vía de aplicación, el comportamiento individual frente al principio activo, el tipo de preparación y el momento o el intervalo en la que tiene lugar la aplicación. Así, en algunos casos puede ser suficiente menos de la cantidad mínima mencionada anteriormente, mientras que en otros casos debe superarse dicho límite máximo. En el caso de la aplicación de grandes cantidades, puede ser aconsejable distribuirlas en varias administraciones individuales a lo largo del día.

Los siguientes ejemplos de realización ilustran la invención. La invención no se limita a los ejemplos.

Los datos porcentuales en las siguientes pruebas y ejemplos son, si no se indica de otro modo, porcentajes en peso; las partes son partes en peso. Las razones de disolventes, razones de dilución y datos de concentración de disoluciones líquido/líquido se refieren en cada caso al volumen.

## A. Ejemplos

### Abreviaturas y acrónimos:

|        |                                                                                             |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| abs.   | absoluto                                                                                    |
| Ac     | acetilo                                                                                     |
| ac.    | acuoso, disolución acuosa                                                                   |
| Boc    | <i>tert</i> -butoxicarbonilo                                                                |
| a.     | ancho (en RMN)                                                                              |
| Ej.    | ejemplo                                                                                     |
| aprox. | aproximadamente                                                                             |
| CI     | ionización química (en MS)                                                                  |
| d      | doblete (en RMN)                                                                            |
| d      | día(s)                                                                                      |
| DC     | cromatografía en capa fina                                                                  |
| DCI    | ionización química directa (en MS)                                                          |
| dd     | doblete de doblete (en RMN)                                                                 |
| DMAP   | 4- <i>N,N</i> -dimetilaminopiridina                                                         |
| DME    | 1,2-dimetoxietano                                                                           |
| DMF    | <i>N,N</i> -dimetilformamida                                                                |
| DMSO   | dimetilsulfóxido                                                                            |
| DPBS   | solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco                                           |
| dt     | doblete de triplete (en RMN)                                                                |
| d. T.  | de la teoría (en rendimiento químico)                                                       |
| EDC    | hidrocloruro de <i>N</i> '-(3-dimetilaminopropil)- <i>N</i> -etilcarbodiimida               |
| EI     | ionización por impacto de electrones (en MS)                                                |
| eq.    | equivalente(s)                                                                              |
| ESI    | ionización por electrospray (en MS)                                                         |
| SBF    | suero bovino fetal                                                                          |
| Fmoc   | (9 <i>H</i> -fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo                                                   |
| sat.   | saturado                                                                                    |
| GTP    | guanosina-5'-trifosfato                                                                     |
| h      | hora(s)                                                                                     |
| HATU   | hexafluorofosfato de <i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio |
| HEPES  | ácido 4-(2-hidroxietil)piperazin-1-etanosulfónico                                           |
| HOAc   | ácido acético                                                                               |
| HOBt   | 1-hidroxi-1 <i>H</i> -benzotriazol hidratado                                                |
| HOSu   | <i>N</i> -hidroxisuccinimida                                                                |
| HPLC   | cromatografía de líquidos a alta presión, de alta resolución                                |

|                |                                                                          |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------|
| conc.          | concentrado                                                              |
| LC-MS          | espectrometría de masas acoplada a cromatografía de líquidos             |
| m              | multiplete (en RMN)                                                      |
| min            | minuto(s)                                                                |
| MS             | espectrometría de masas                                                  |
| MTT            | bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2 <i>H</i> -tetrazolio |
| NMM            | <i>N</i> -metilmorfolina                                                 |
| NMP            | <i>N</i> -metil-2-pirrolidinona                                          |
| RMN            | espectrometría de resonancia nuclear                                     |
| PBS            | solución salina tamponada con fosfato                                    |
| Pd/C           | paladio sobre carbón activo                                              |
| cuant.         | cuantitativo (en rendimiento)                                            |
| cuart          | cuartete (en RMN)                                                        |
| quint          | quintete (en RMN)                                                        |
| R <sub>f</sub> | índice de retención (en DC)                                              |
| TA             | temperatura ambiente                                                     |
| R <sub>t</sub> | tiempo de retención (en HPLC)                                            |
| s              | singlete (en RMN)                                                        |
| t              | triplete (en RMN)                                                        |
| terc           | terciario                                                                |
| TFA            | ácido trifluoroacético                                                   |
| THF            | tetrahidrofurano                                                         |
| UV             | espectrometría ultravioleta                                              |
| v/v            | razón volumen a volumen (de una disolución)                              |
| Z              | benciloxicarbonilo                                                       |
| jun.           | juntos                                                                   |

#### Métodos de HPLC y LC-MS:

##### Método 1 (LC-MS):

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

##### Método 2 (LC-MS):

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

##### Método 3 (LC-MS):

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

##### Método 4 (LC-MS):

25 Tipo de aparato MS: Micromass ZQ; tipo de aparato HPLC: Serie HP 1100; UV DAD; columna: Phenomenex Gemini 3  $\mu$  30 mm x 3,00 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A  $\rightarrow$  2,5 min 30% de A  $\rightarrow$  3,0 min 5% de A  $\rightarrow$  4,5 min 5% de A; caudal: 0,0 min 1 ml/min  $\rightarrow$  2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; estufa: 50°C; detección UV: 210 nm.

##### Método 5 (HPLC):

35 Aparato: HP 1090 Serie II; columna: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4,6 mm; precolumna: Merck Chromolith Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4,6 mm; volumen de inyección: 5  $\mu$ l; eluyente A: 70% de HClO<sub>4</sub> en agua (4 ml/litro), eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0,00 min 20% de B  $\rightarrow$  0,50 min 20% de B  $\rightarrow$  3,00 min 90% de B  $\rightarrow$  3,50 min 90% de B  $\rightarrow$  3,51 min 20% de B  $\rightarrow$  4,00 min 20% de B; caudal: 5 ml/min; temperatura de la columna: 40°C.



Método 6 (HPLC):

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

Método 7 (LC-MS):

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

Método 8 (LC-MS):

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

Método 9 (LC-MS):

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

Método 10 (HPLC):

Aparato: Serie Agilent 1200; columna: Agilent Eclipse XDB-C18 5 μ 4,6 mm x 150 mm; precolumna: Phenomenex KrudKatcher Disposable Pre-Column; volumen de inyección: 5 μl; eluyente A: 1 l de agua + 0,01% de ácido trifluoroacético; eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,01% de ácido trifluoroacético; gradiente: 0,00 min 10% de B → 1,00 min 10% de B → 1,50 min 90% de B → 5,5 min 10% de B; caudal: 2 ml/min; temperatura de la columna: 30°C.

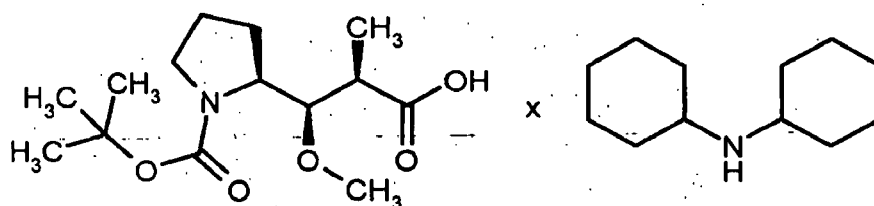
Método 11 (LC-MS):

Instrumento: Sistema Waters Acquity SQD UPLC; columna: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8 μ 30 mm x 2 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,25 ml de ácido fórmico al 99%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,25 ml de ácido fórmico al 99%; gradiente: 0,0 min 90% de A → 1,2 min 5% de A → 2,0 min 5% de A; caudal: 0,60 ml/min; estufa: 50°C; detección UV: 208-400 nm.

Para todos los reactantes o reactivos cuya preparación no se describe explícitamente a continuación, es aplicable que fueron adquiridos comercialmente de fuentes accesibles en general. Para todos los demás reactantes o reactivos cuya preparación tampoco se describe a continuación y que no pudieron adquirirse comercialmente o se adquirieron de fuentes que no son accesibles en general, se indica una referencia a la bibliografía publicada, en la que se describe su producción.

Compuestos de partida y productos intermedios:Compuesto de partida 1

Sal de dicitohexilamina del ácido (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (Boc-dolaproína)



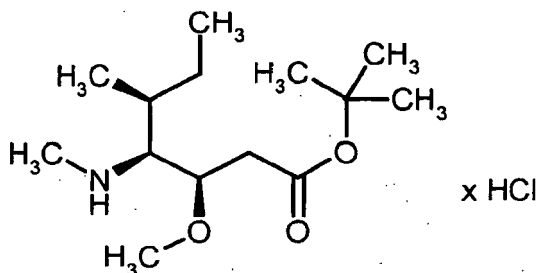
El compuesto del título puede producirse de diferentes maneras según las prescripciones de la bibliografía, véanse

por ejemplo Pettit *et al.*, Synthesis 1996, 719; Shioiri *et al.*, Tetrahedron Lett. 1991, 32, 931; Shioiri *et al.*, Tetrahedron 1993, 49, 1913; Koga *et al.*, Tetrahedron Lett. 1991, 32, 2395; Vidal *et al.*, Tetrahedron 2004, 60, 9715; Poncet *et al.*, Tetrahedron 1994, 50, 5345. Se sintetizó en este caso de manera correspondiente a la prescripción de Shioiri *et al.* (Tetrahedron Lett. 1991, 32, 931).

5

#### Compuesto de partida 2

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



10

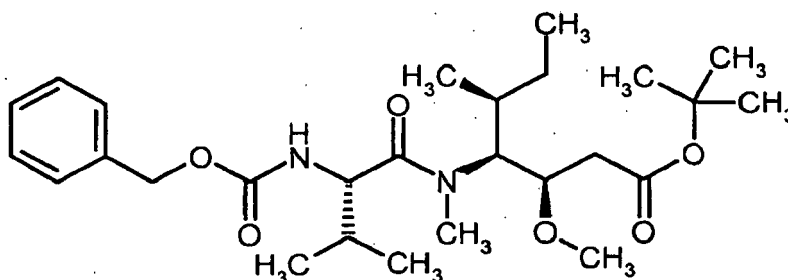
El compuesto del título puede producirse de diferentes maneras según las prescripciones de la bibliografía, véanse por ejemplo Pettit *et al.*, J. Org. Chem. 1994, 59, 1796; Koga *et al.*, Tetrahedron Lett. 1991, 32, 2395; Shioiri *et al.*, Tetrahedron Lett. 1991, 32, 931; Shioiri *et al.*, Tetrahedron 1993, 49, 1913. Se sintetizó en este caso manera correspondiente a la prescripción de Koga *et al.* (Tetrahedron Lett. 1991, 32, 2395).

15

#### Producto intermedio 1

(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[[*N*-[(Benciloxi)carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metil-heptanoato de *tert*-butilo

20



Se disolvieron 425 mg (1,7 mmol) de *N*-[(benciloxi)carbonil]-L-valina en 50 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 500 mg (1,7 mmol) de hidrocloruro de (3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-(metilamino)-heptanoato de *tert*-butilo (compuesto de partida 2), 356 mg (1,9 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 285 mg (1,9 mmol) de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol hidratado así como 655 mg (5,1 mmol) de *N,N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla 20 h a TA. A continuación se añadieron de nuevo 142 mg (0,5 mmol) de *N*-[(benciloxi)carbonil]-L-valina, 119 mg (0,6 mmol) de hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 95 mg (0,6 mmol) de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol hidratado así como 218 mg (1,7 mmol) de *N,N*-diisopropiletilamina y se trató la mezcla durante 90 min con ultrasonidos. Entonces se vertió la mezcla básica en una mezcla de disolución de cloruro de amonio acuosa semisaturada y acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se lavó sucesivamente con disolución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y disolución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró.

25

30

Se purificó el residuo mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron 329 mg (40% d. T.) del compuesto del título como aceite incoloro.

35

HPLC (método 5):  $R_t = 2,5$  min;

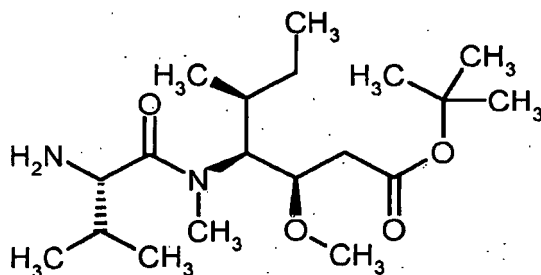
40

LC-MS (método 1):  $R_t = 1.45$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 493$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 2

(3*R*,4*S*,5*S*)-3-Metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoato de *tert*-butilo

45



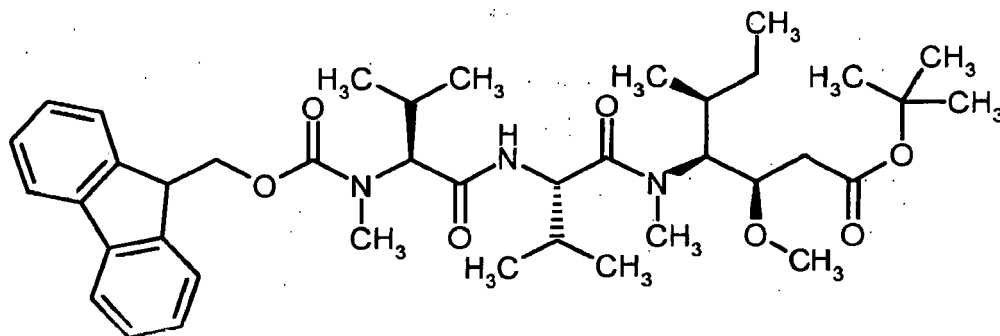
Se disolvieron 500 mg (1 mmol) de (3R,4S,5S)-4-[(N-[(benciloxi)carbonil]-L-valil)(metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoato de *terc*-butilo (producto intermedio 1) en 50 ml de metanol y tras la adición de 100 mg de paladio sobre carbón activo al 10% se hidrataron durante 1 h a TA a presión normal. Después se eliminó mediante filtración el catalizador y se eliminó el disolvente a vacío. Se obtuvieron 370 mg (cuant.) del compuesto del título como aceite prácticamente incoloro.

HPLC (método 5):  $R_t = 1,59$  min;

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

#### Producto intermedio 3

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



Se disolvieron 396 mg (1,1 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valina en 20 ml de DMF y se mezclaron sucesivamente con 365 mg (1 mmol) de (3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoato de *terc*-butilo (producto intermedio 2), 234 mg (1,2 mmol) de hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida así como 187 mg (1,2 mmol) de 1-hidroxí-1*H*-benzotriazol hidratado. Se agitó la mezcla durante la noche a TA. Después se vertió la mezcla básica en una mezcla de disolución de cloruro de amonio acuosa semisaturada y acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se lavó sucesivamente con disolución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y disolución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se utilizó el residuo directamente, sin purificación adicional, en la siguiente etapa.

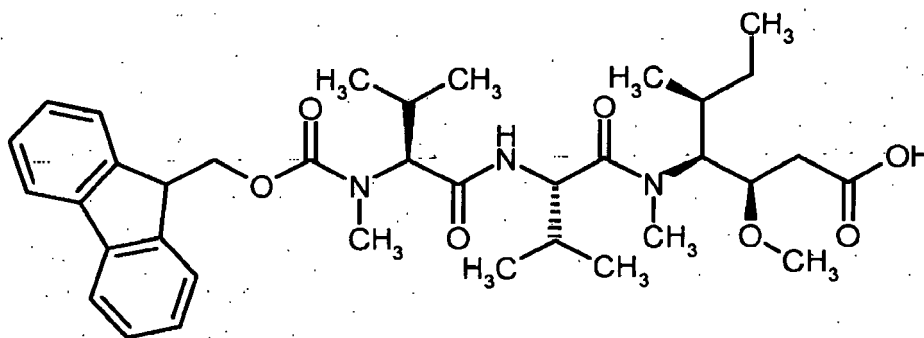
Rendimiento: 660 mg (68% d. T.)

HPLC (método 5):  $R_t = 3,0$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,61$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 694$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 4

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



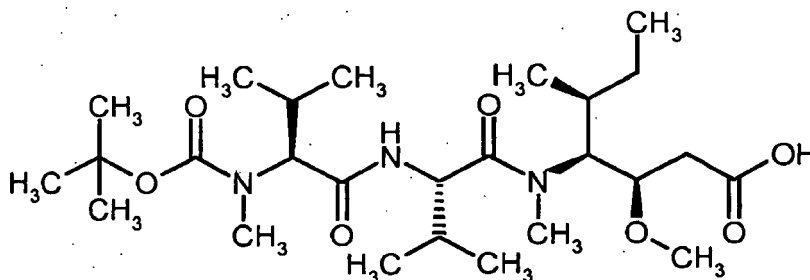
Se llevaron 650 mg (0,94 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*tert*-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 3) a 5 ml de diclorometano, se mezclaron con 5 ml de ácido trifluoroacético y se agitó durante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

HPLC (método 5):  $R_t = 2,4$  min;

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

#### Producto intermedio 5

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



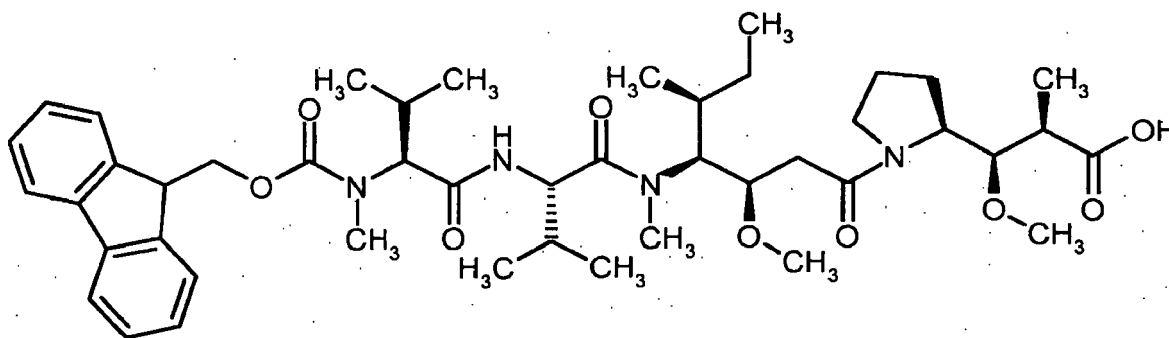
Se disolvieron 51 mg (0,08 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 4) en 10 ml de DMF y se mezclaron con 0,5 ml de piperidina. Tras 10 min agitando a TA se concentró la mezcla básica a vacío y se mezcló el residuo con dietil éter. Se eliminaron mediante filtración los componentes insolubles y se lavaron varias veces con dietil éter. Entonces se llevó el residuo de filtración a 5 ml de dioxano/agua (1:1) y se ajustó la disolución con sosa cáustica 1 N a pH 11. Con tratamiento por ultrasonidos se añadieron en varias porciones en total 349 mg (1,6 mmol) de dicarbonato de di-*tert*-butilo, manteniéndose el valor de pH de la disolución a 11. Tras finalizar la reacción se evaporó el dioxano y se ajustó la disolución acuosa con ácido cítrico a un valor de pH de 2-3. Se extrajo dos veces con en cada caso 50 ml de acetato de etilo. Se purificaron las fases orgánicas, se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. Se llevó el residuo a dietil éter y se precipitó el producto con pentano. Se separó el disolvente mediante decantación. Se digirió el residuo varias veces más con pentano y finalmente se secó a alto vacío. Se obtuvieron así 31 mg (93% d. T.) del compuesto del título.

HPLC (método 6):  $R_t = 2,2$  min;

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

#### Producto intermedio 6

*N*-[(9*H*-Fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(25)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



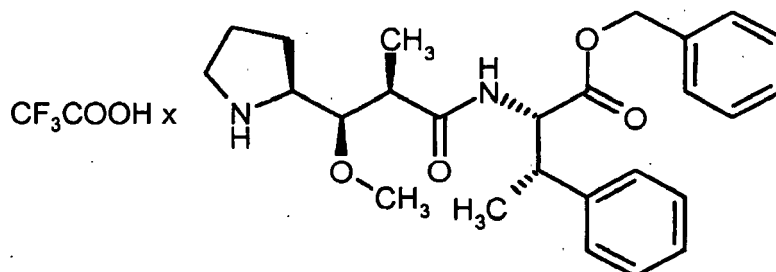
Se disolvieron 315 mg (0,494 mmol) de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 4) en 12 ml de DMF, se mezclaron con 104 mg (0,543 mmol) de hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida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

HPLC (método 5):  $R_t$  = 2,4 min;

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 1,38 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 807 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 7

Sal de ácido trifluoroacético del ( $\beta$ S)-*N*-[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil]- $\beta$ -metil-L-fenilalaninato de bencilo



En primer lugar se liberó ácido (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico a partir de 351 mg (0,75 mmol) de la sal de dicitclohexilamina (compuesto de partida 1) llevándolo a acetato de etilo y agitando con disolución de hidrogenosulfato de potasio acuosa. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se llevó el residuo a 10 ml de DMF y se mezcló sucesivamente con 373 mg (0,75 mmol) de sal de ácido trifluoroacético de ( $\beta$ S)- $\beta$ -metil-L-fenilalaninato de bencilo [producido a partir de ( $\beta$ S)-*N*-(*tert*-butoxicarbonil)- $\beta$ -metil-L-fenilalanina obtenible comercialmente mediante esterificación medida por EDC/DMAP con alcohol bencilico y posterior escisión del grupo protector Boc con ácido trifluoroacético], 428 mg (1,125 mmol) de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU) así como 392  $\mu$ l de *N,N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla 20 h a TA. Entonces se vertió la mezcla básica sobre una mezcla de disolución de cloruro de amonio acuosa semisaturada y acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se lavó sucesivamente con disolución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y disolución de cloruro de sodio y a continuación se concentró. Se purificó el residuo por medio de HPLC preparativa. Se obtuvieron así 230 mg (57% d. T.) del producto intermedio protegido con Boc ( $\beta$ S)-*N*-[(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]- $\beta$ -metil-L-fenilalaninato de bencilo.

HPLC (método 6):  $R_t$  = 2,3 min;

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 1,36 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 539 (M+H)<sup>+</sup>.

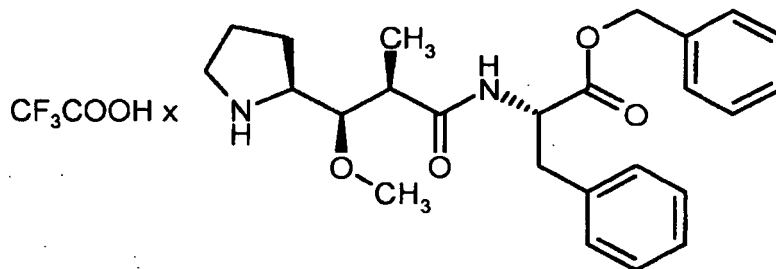
Se llevaron 230 mg (0,42 mmol) de este producto intermedio a 5 ml de diclorometano, se mezclaron con 5 ml de ácido trifluoroacético y se agitó 30 min a TA. A continuación se concentró a vacío. Se secó adicionalmente el residuo restante a vacío y entonces se liofilizó en acetonitrilo/agua. De esta manera se obtuvieron 230 mg (cuant.) del

compuesto del título.

HPLC (método 6):  $R_t = 1,6$  min.

##### 5 Producto intermedio 8

Sal de ácido trifluoroacético del *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil}-*L*-fenilalaninato de bencilo



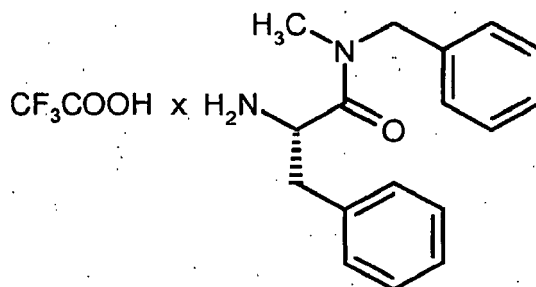
Se produjo el compuesto del título en analogía con la síntesis de producto intermedio 7 a partir del compuesto de partida 1 y *L*-fenilalaninato de bencilo.

HPLC (método 5):  $R_t = 1,6$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,85$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 425$  (M+H)<sup>+</sup>.

##### Producto intermedio 9

Sal de ácido trifluoroacético de *N*-bencil-*N*-metil-*L*-fenilalaninamida



Se disolvieron 1000 mg (3,77 mmol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*L*-fenilalanina en 10 ml de DMF y se mezclaron con 457 mg (3,77 mmol) de *N*-metilbencilamina, 2150 mg (5,65 mmol) de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N,N*-tetrametiluronio y 657  $\mu$ l de *N,N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla básica 30 min a TA y a continuación se concentró a vacío. Se llevó el residuo a diclorometano y se agitó tres veces con agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice con éter de petróleo/acetato de etilo 3:1 como eluyente. Se concentraron las fracciones de producto y se secó el residuo a alto vacío. Se obtuvieron así 1110 mg (75% d. T.) del producto intermedio protegido con Boc *N*-bencil-*N*<sup>º</sup>-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-*L*-fenilalaninamida.

HPLC (método 5):  $R_t = 2,1$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,14$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 369$  (M+H)<sup>+</sup>.

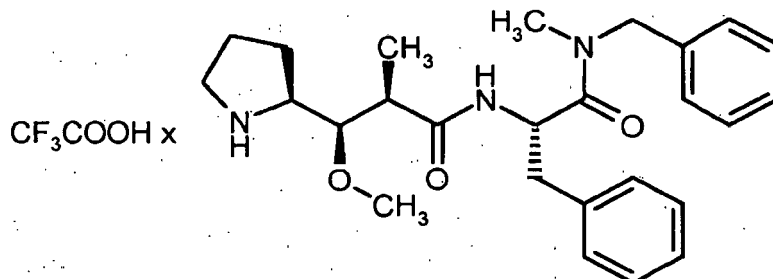
Se llevaron 1108 mg (3,007 mmol) de este producto intermedio a 30 ml de diclorometano, se mezclaron con 10 ml de ácido trifluoroacético y se agitó 30 min a TA. A continuación se concentró a vacío, se mezcló el residuo restante con diclorometano y se eliminó mediante destilación el disolvente. Se agitó el residuo dos veces más con pentano, se eliminó de nuevo el disolvente mediante decantación en cada caso y finalmente se secó el producto a alto vacío. Se obtuvieron así 1075 mg (93% d. T.) del compuesto del título como una resina.

HPLC (método 5):  $R_t = 1,6$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,6$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 269$  (M+H)<sup>+</sup>.

Producto intermedio 10

Sal de ácido trifluoroacético de *N*-bencil-*N*α-[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil]-*N*-metil-*L*-fenilalaninamida



En primer lugar se liberó ácido (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico a partir de 141 mg (0,491 mmol) de la sal de dicitclohexilamina (compuesto de partida 1) llevándolo a acetato de etilo y agitando con ácido sulfúrico acuoso al 5%. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se llevó el residuo a 10 ml de DMF y se mezcló con 187,6 mg (0,49 mmol) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-bencil-*N*-metil-*L*-fenilalaninamida (producto intermedio 9), 190,3 mg (1,47 mmol) de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU) así como 256  $\mu$ l de *N,N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla 1 h a TA. Después se concentró la mezcla básica, se llevó el residuo a acetato de etilo y se agitó la disolución sucesivamente con disolución de cloruro de amonio saturada, disolución de hidrogenocarbonato de sodio y agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice con acetonitrilo/agua 30:1 como eluyente. Se concentraron las fracciones de producto y se secó el residuo a alto vacío. Se obtuvieron así 168 mg (64% d. T.) del producto intermedio protegido con Boc (2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-[bencil-(metil)amino]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 2,2 min;

LC-MS (método 2):  $R_t$  = 1,22 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 538 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Se llevaron 168 mg (0,312 mmol) de este producto intermedio a 15 ml de diclorometano, se mezclaron con 3 ml de ácido trifluoroacético y se agitó 30 min a TA. A continuación se concentró a vacío.

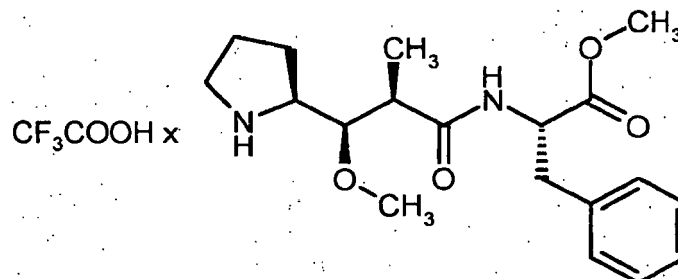
Se mezcló el residuo restante en primer lugar con diclorometano, entonces con dietil éter y se eliminó de nuevo el disolvente mediante destilación en cada caso. Tras secar a alto vacío se obtuvieron 170 mg (99% d. T.) del compuesto del título como una resina.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 1,7 min;

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,73 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 438 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Producto intermedio 11

Sal de ácido trifluoroacético del *N*-[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil]-*L*-fenilalaninato de metilo



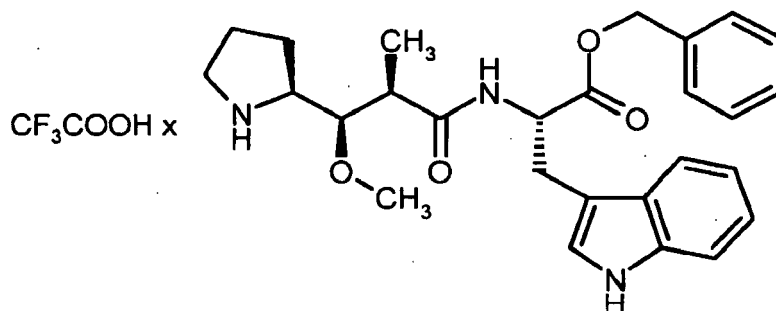
Se produjo el compuesto del título en analogía con la síntesis de producto intermedio 10 partiendo de sal de dicitclohexilamina del ácido (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (compuesto de partida 1) e hidrocloreto de *L*-fenilalaninato de metilo.

HPLC (método 6):  $R_t$  = 0,6 min,

LC-MS (método 3):  $R_t = 1,17$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 349$  (M+H)<sup>+</sup>.

Producto intermedio 12

- 5 Sal de ácido trifluoroacético del *N*-{[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoíl]-L-triptofanato de bencilo



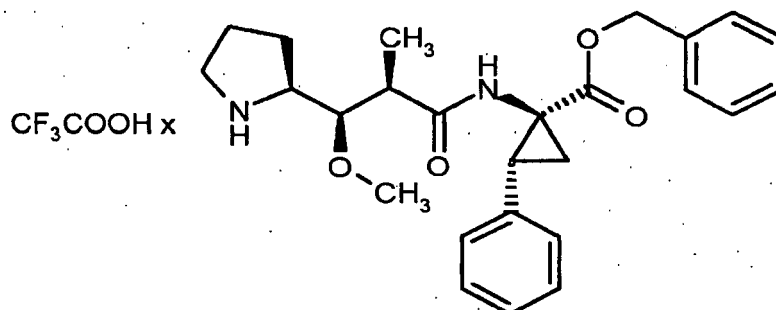
- 10 Se produjo el compuesto del título en analogía con la síntesis de producto intermedio 10 partiendo de sal de dicitohexilamina del ácido (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (compuesto de partida 1) y L-triptofanato de bencilo.

HPLC (método 5):  $R_t = 2,0$  min;

- 15 LC-MS (método 1):  $R_t = 0,8$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 464$  (M+H)<sup>+</sup>.

Producto intermedio 13

- 20 Sal de ácido trifluoroacético del (1*S*,2*R*)-1-((2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoíl)amino)-2-fenilciclopropanocarboxilato de bencilo



- 25 Se produjo el compuesto del título en analogía con la síntesis de producto intermedio 10 partiendo de sal de dicitohexilamina del ácido (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (compuesto de partida 1) y (1*S*,2*R*)-1-amino-2-fenilciclopropanocarboxilato de bencilo. El último compuesto se produjo previamente según métodos convencionales mediante esterificación de ácido (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-2-fenilciclopropanoico obtenible comercialmente con alcohol bencilico y posterior escisión de Boc con ácido trifluoroacético.

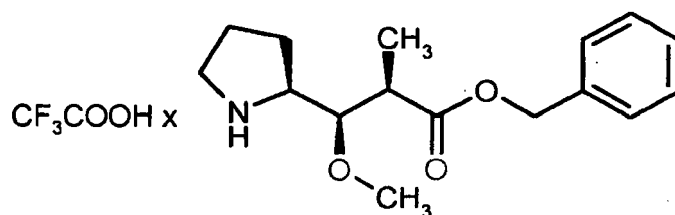
HPLC (método 6):  $R_t = 1,5$  min;

- 35 LC-MS (método 2):  $R_t = 0,93$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 437$  (M+H)<sup>+</sup>.

Producto intermedio 14

Sal de ácido trifluoroacético del (2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoato de bencilo





En primer lugar se liberó ácido (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico a partir de 1,82 g (3,88 mmol) de la sal de dicitohexilamina (compuesto de partida 1) llevándolo a 150 ml de acetato de etilo y agitando con 100 ml de ácido sulfúrico acuoso al 0,5%. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se llevó el residuo a 10 ml de dioxano y 10 ml de agua, se mezcló con 1517 mg (4,66 mmol) de carbonato de cesio y se trató 5 min en un baño de ultrasonidos. A continuación se concentró a vacío y se codestiló el residuo una vez con DMF. Entonces se llevó el residuo a 15 ml de DMF y se mezcló con 1990 mg (11,64 mmol) de bromuro de bencilo. Se trató la mezcla 15 min en un baño de ultrasonidos y a continuación se concentró a vacío. Se repartió el residuo entre acetato de etilo y agua. Se separó la fase orgánica, se lavó con disolución de cloruro de sodio saturada y después se concentró. Finalmente se purificó el residuo mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron de esta manera 1170 mg (80% d. T.) del producto intermedio protegido con Boc (2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-(benciloxi)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo.

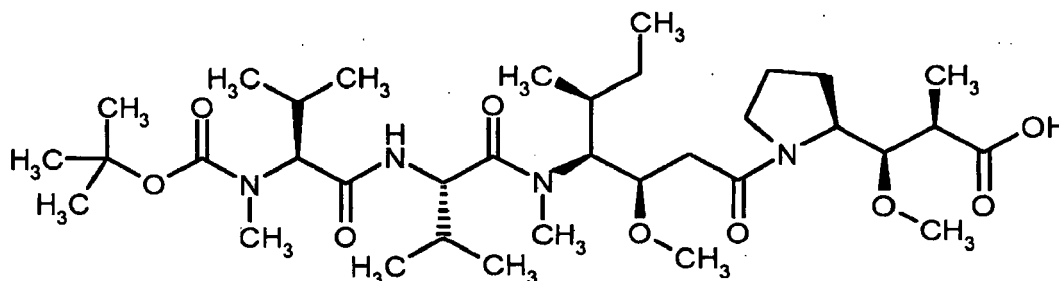
Inmediatamente a continuación se llevaron estos 1170 mg del producto intermedio a 15 ml de diclorometano y se mezclaron con 5 ml de ácido trifluoroacético. Tras 15 min agitando a TA se concentró la mezcla básica a vacío y se liofilizó el residuo en dioxano. Tras secar a alto vacío quedaron 1333 mg (84% d. T.) del compuesto del título como aceite amarillo.

HPLC (método 5):  $R_t = 1,5$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,59$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 278$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 15

*N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



Se combinaron 1200 mg (2,33 mmol) de *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 5) con 910,8 mg (2,33 mmol) de sal de ácido trifluoroacético de (2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoato de bencilo (producto intermedio 14), 1327 mg (3,49 mmol) de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y 2027  $\mu$ l de *N,N*-diisopropiletilamina en 50 ml de DMF y se agitó 5 min a TA. Después se eliminó el disolvente a vacío. Se llevó el residuo restante a acetato de etilo y se agitó sucesivamente con disolución de ácido cítrico acuosa al 5% y disolución de hidrogenocarbonato de sodio saturada. Se separó la fase orgánica y se concentró. Se purificó el residuo por medio de HPLC preparativa. Se purificaron las fracciones de producto, se concentraron y se secó el residuo a alto vacío. Se obtuvieron así 1000 mg (55% d. T.) del producto intermedio de éster bencilico *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-(benciloxi)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como una resina.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,56$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 775$  (M+H)<sup>+</sup>.

Se llevó toda la cantidad obtenida de este producto intermedio a 25 ml de una mezcla de metanol y diclorometano (20:1) y se eliminó el grupo éster bencilico mediante hidrogenación a presión normal con paladio sobre carbón activo al 10% como catalizador. Tras 30 min agitando a TA se eliminó el catalizador mediante filtración y se concentró el filtrado a vacío. Se obtuvieron 803 mg (91% d. T.) del compuesto del título como sólido blanco.

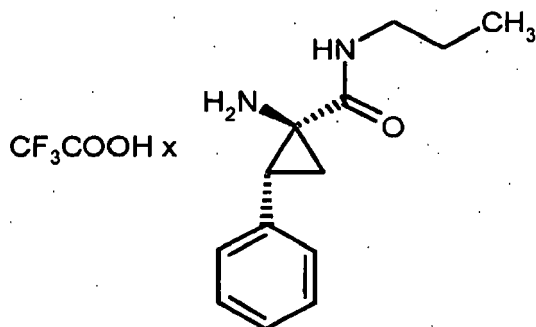
HPLC (método 5):  $R_t = 2,1$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,24$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 685$  (M+H)<sup>+</sup>.

Producto intermedio 16

5

Sal de ácido trifluoroacético de (1*S*,2*R*)-1-amino-2-fenil-*N*-propilciclopropanocarboxamida



- 10 Se produjo el compuesto del título mediante acoplamiento de ácido (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*-butoxi-carbonil)amino]-2-fenilciclopropanocarboxílico obtenible comercialmente con *n*-propilamina en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametiluronio (HATU) y la posterior escisión de Boc con ácido trifluoroacético (rendimiento 85% d. T. a lo largo de ambas etapas).

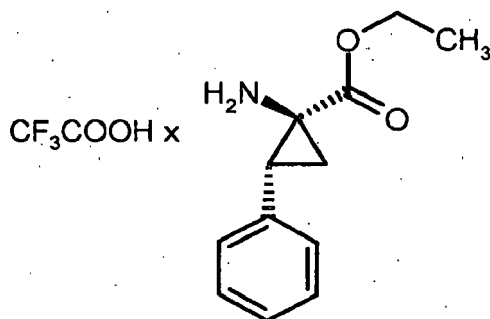
- 15 HPLC (método 5):  $R_t = 1,2$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,52$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 219$  (M+H)<sup>+</sup>.

Producto intermedio 17

20

Sal de ácido trifluoroacético de (1*S*,2*R*)-1-amino-2-fenilciclopropanocarboxilato de etilo



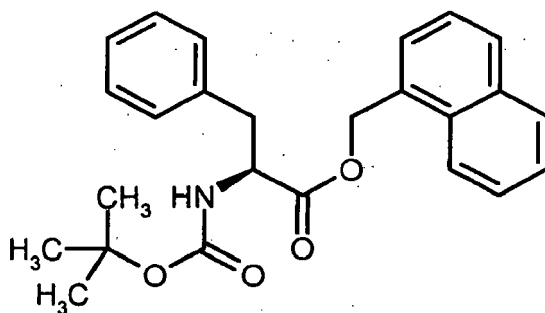
- 25 Se produjo el compuesto del título según métodos convencionales mediante esterificación de ácido (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-2-fenilciclopropanocarboxílico obtenible comercialmente con etanol y posterior escisión de Boc con ácido trifluoroacético.

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,50$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 206$  (M+H)<sup>+</sup>.

30

Producto intermedio 18

*N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-*L*-fenilalaninato de 1-naftilmetilo

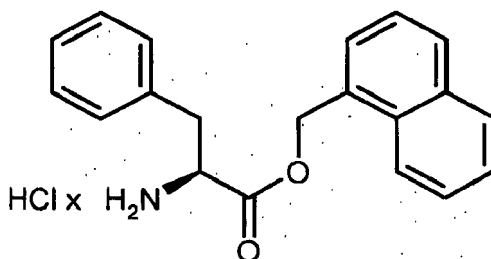


A una disolución de 500 mg (1,89 mmol) de *N*-Boc-L-fenilalanina en 25 ml de diclorometano se le añadieron a TA 1192 mg (6,2 mmol) de EDC, 578  $\mu$ l (4,1 mmol) de trietilamina, 345 mg (2,8 mmol) de DMAP y 328 mg (2,1 mmol) de 1-naftilmetanol. Se agitó la mezcla de reacción durante la noche, entonces se diluyó con 50 ml de diclorometano y se lavó sucesivamente con disolución de ácido cítrico acuosa al 10%, agua y disolución de cloruro de sodio saturada. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, a continuación se concentró y se purificó el residuo mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron 501 mg (66% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,33$  min;  $m/z = 406$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 19

Hidrocloreto de L-fenilalaninato de 1-naftilmetilo

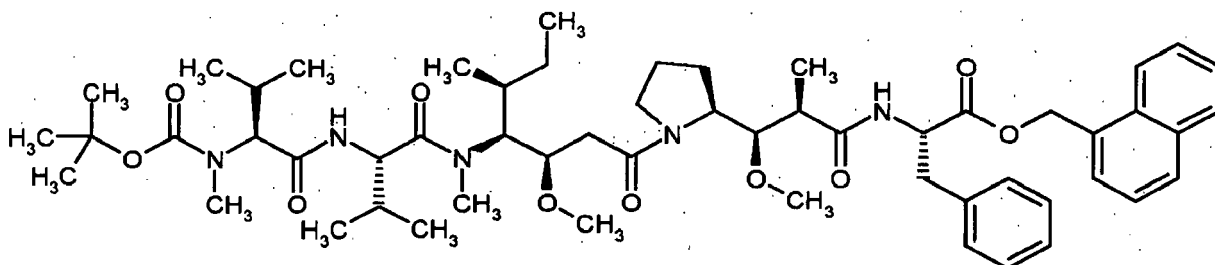


Se disolvieron 500 mg (1,2 mmol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato de 1-naftilmetilo (producto intermedio 18) en 20 ml de una disolución 4 N de cloruro de hidrógeno en dioxano y se agitó 1 h a TA. A continuación se concentró la mezcla de reacción y se secó el residuo a vacío. Se obtuvieron 421,5 mg (cuant.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,80$  min;  $m/z = 306$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 20

*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-1-(1-naftilmetoxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-3-oxo-propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida

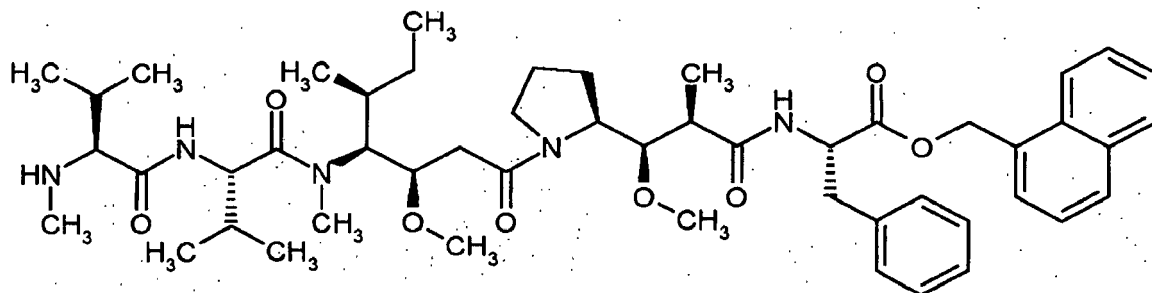


A una disolución de 20 mg (29  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) en 1 ml de DMF se le añadieron a TA 15,3 ml (88  $\mu$ mol) de *N,N*-diisopropiletilamina, 6,7 mg (44  $\mu$ mol) de HOBt y 6,7 mg (35  $\mu$ mol) de EDC y se agitó la mezcla durante 30 min. A continuación se añadieron 11 mg (32  $\mu$ mol) de hidrocloreto de L-fenilalaninato de 1-naftilmetilo (producto intermedio 19). Tras agitar durante la noche se separó la mezcla de reacción directamente a través de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron 26,1 mg (92% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,61$  min;  $m/z = 973$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 21

Sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-1-(1-naftilmetoxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



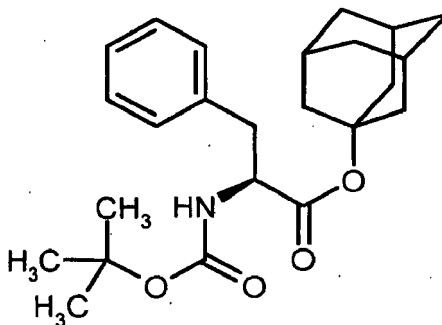
x  $CF_3COOH$

Se disolvieron 26 mg (27  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-1-(1-naftilmetoxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 20) en 1 ml de diclorometano y se mezclaron con 0,2 ml de TFA. Se agitó la mezcla de reacción 30 min a TA y a continuación se concentró. Se obtuvieron 26,3 mg (99,7% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,02$  min;  $m/z = 873$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 22

*N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-L-fenilalaninato de adamantan-1-ilo

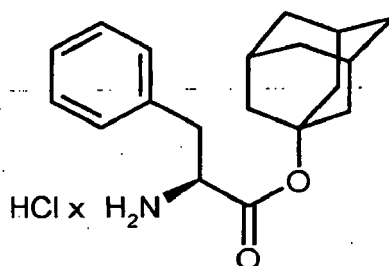


A una disolución de 500 mg (1,89 mmol) de *N*-Boc-L-fenilalanina en 25 ml de diclorometano se le añadieron a TA 1192 mg (6,2 mmol) de EDC, 578  $\mu$ l (4,1 mmol) de trietilamina, 345 mg (2,8 mmol) de DMAP y 316 mg (2,1 mmol) de 1-adamantanol. Se agitó la mezcla de reacción durante la noche, entonces se diluyó con 50 ml de diclorometano y se lavó sucesivamente con disolución de ácido cítrico acuosa al 10%, agua y disolución de cloruro de sodio saturada. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, a continuación se concentró y se purificó el residuo mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron 336 mg (43% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,49$  min;  $m/z = 400$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 23

Hidrocloreto de L-fenilalaninato de adamantan-1-ilo

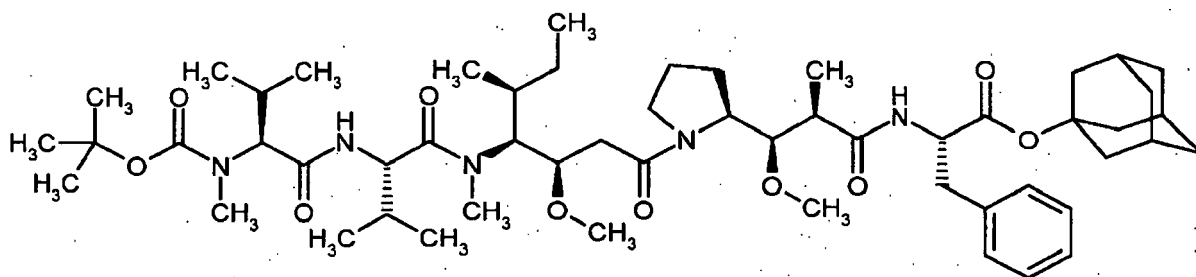


Se disolvieron 336 mg (840  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*L*-fenilalaninato de adamantan-1-ilo (producto intermedio 22) en 12 ml de una disolución 4 N de cloruro de hidrógeno en dioxano y se agitó 1 h a TA. A continuación se concentró la mezcla de reacción y se purificó el residuo a través de HPLC preparativa (gradiente de eluyentes metanol/agua + 0,01% de TFA). Se obtuvieron 228 mg (81% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 2):  $R_t = 1,03$  min;  $m/z = 300$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 24

*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-*L*-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-iloxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida

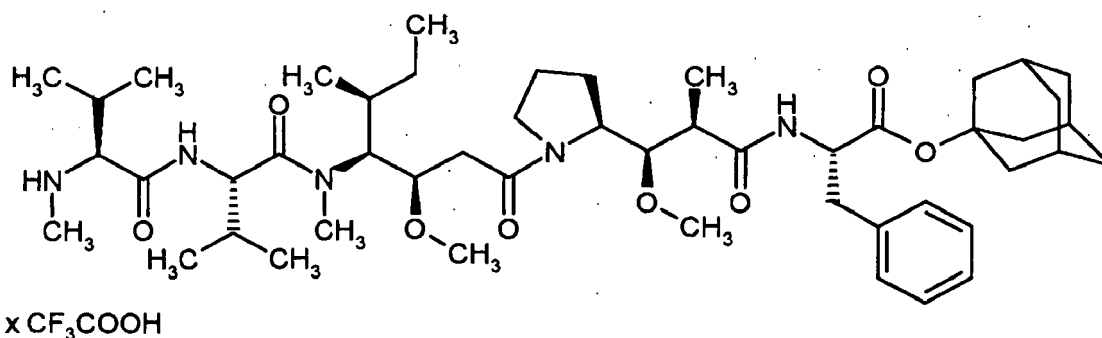


A una disolución de 20 mg (29  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-*L*-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (producto intermedio 15) en 1 ml de DMF se le añadieron a TA 15,3  $\mu$ l (88  $\mu$ mol) de *N,N*-diisopropiletilamina, 6,7 mg (44  $\mu$ mol) de HOBT y 6,7 mg (35  $\mu$ mol) de EDC y se agitó la mezcla durante 30 min. A continuación se añadieron 9,6 mg (32  $\mu$ mol) de hidrocloreuro de *L*-fenilalaninato de adamantan-1-ilo (producto intermedio 23). Tras agitar durante la noche se separó la mezcla de reacción directamente a través de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron 15 mg (90% de pureza, 48% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,67$  min;  $m/z = 967$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 25

Sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-*L*-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-iloxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida



x CF<sub>3</sub>COOH

Se disolvieron 15 mg (16  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-*L*-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-iloxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxo-propil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-

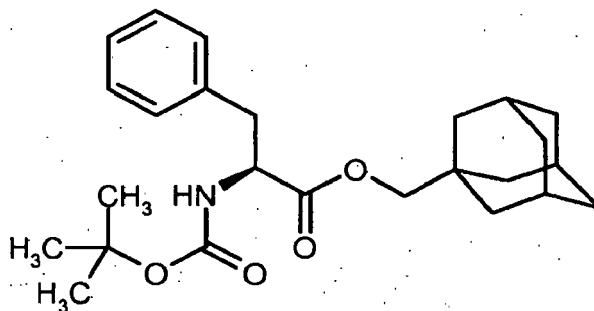
oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 24) en 1 ml de diclorometano y se mezclaron con 0,2 ml de TFA. Se agitó la mezcla de reacción 30 min a TA y a continuación se concentró. Se purificó el producto bruto a través de HPLC preparativa. Se obtuvieron 4,8 mg (32% d. T.) del compuesto del título.

5 LC-MS (método 1):  $R_t = 1,10$  min;  $m/z = 867$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Producto intermedio 26

*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato de adamantan-1-ilmetilo

10



15

A una disolución de 500 mg (1,89 mmol) de *N*-Boc-L-fenilalanina en 25 ml de diclorometano se le añadieron a TA 1192 mg (6,2 mmol) de EDC, 578  $\mu$ l (4,1 mmol) de trietilamina, 345 mg (2,8 mmol) de DMAP y 345 mg (2,1 mmol) de 1-adamantilmetanol. Se agitó la mezcla de reacción durante la noche, entonces se diluyó con 50 ml de diclorometano y se lavó sucesivamente con disolución de ácido cítrico acuosa al 10%, agua y disolución de cloruro de sodio saturada. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, a continuación se concentró y se purificó el residuo mediante HPLC preparativa. Se obtuvieron 769 mg (90% d. T.) del compuesto del título.

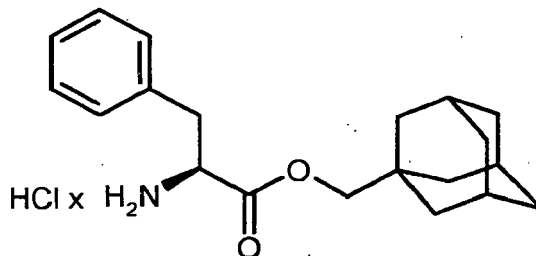
20

LC-MS (método 2):  $R_t = 1,84$  min;  $m/z = 414$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Producto intermedio 27

Hidrocloreto de L-fenilalaninato de adamantan-1-ilmetilo

25



30

Se disolvieron 769 mg (1,86 mmol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato de adamantan-1-ilmetilo (producto intermedio 26) en 25 ml de una disolución 4 N de cloruro de hidrógeno en dioxano y se agitó 1 h a TA. A continuación se concentró la mezcla de reacción y se secó el residuo a vacío. Se obtuvieron 619 mg (95% d. T.) del compuesto del título.

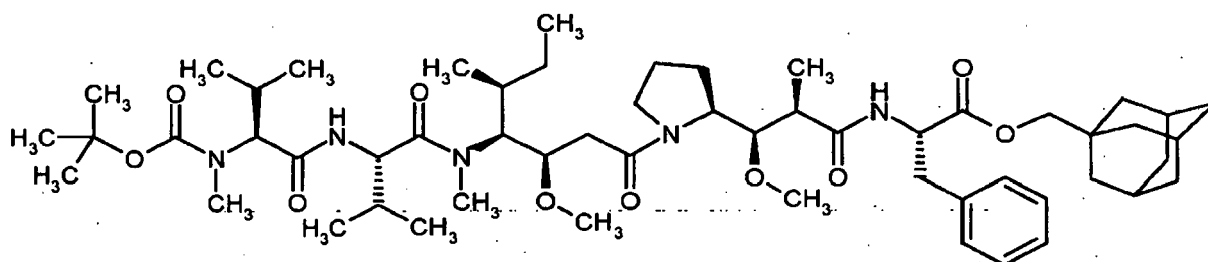
LC-MS (método 1):  $R_t = 0,82$  min;  $m/z = 314$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

35

Producto intermedio 28

*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-L-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-ilmetoxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida

40

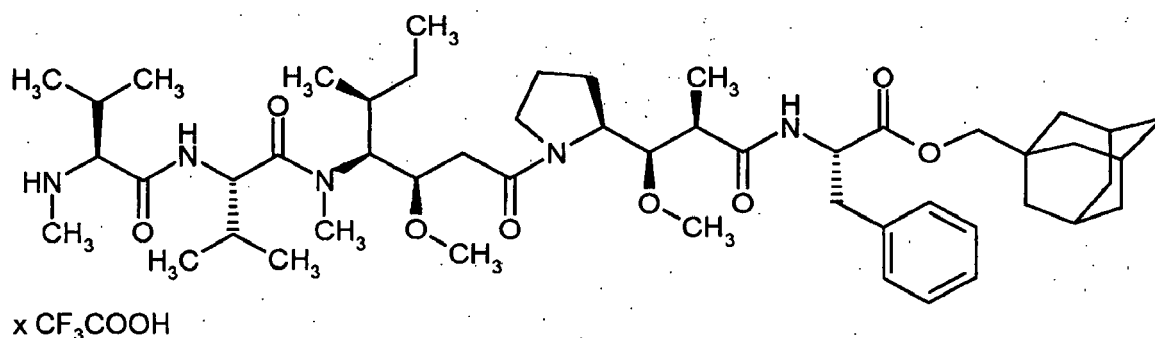


A una disolución de 20 mg (29  $\mu\text{mol}$ ) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) en 1 ml de DMF se le añadieron a TA 15,3  $\mu\text{l}$  (88  $\mu\text{mol}$ ) de *N,N*-diisopropiletilamina, 6,7 mg (44  $\mu\text{mol}$ ) de HOBt y 6,7 mg (35  $\mu\text{mol}$ ) de EDC y se agitó la mezcla durante 30 min. A continuación se añadieron 10,1 mg (32  $\mu\text{mol}$ ) de hidrocloreuro de L-fenilalaninato de adamantan-1-ilo (producto intermedio 27). Tras agitar durante la noche se separó la mezcla de reacción directamente a través de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron 27,5 mg (93% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,70$  min;  $m/z = 980$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 29

Sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-ilmetoxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida

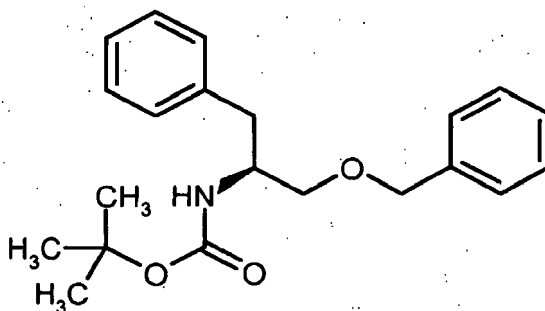


Se disolvieron 27,5 mg (28  $\mu\text{mol}$ ) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-ilmetoxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 28) en 1,8 ml de diclorometano y se mezclaron con 361  $\mu\text{l}$  de TFA. Se agitó la mezcla de reacción 30 min y entonces se concentró. Se llevó el residuo a agua y se liofilizó. Se obtuvieron 22,7 mg (81% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,14$  min;  $m/z = 880$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 30

[(2*S*)-1-(benciloxi)-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *tert*-butilo



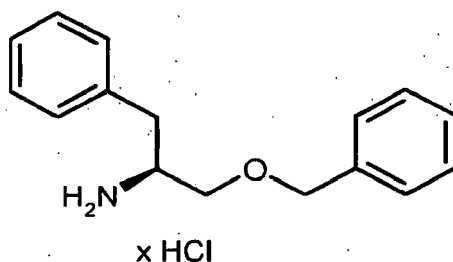
Bajo una atmósfera de argón se disolvieron 500 mg (1,99 mmol) de *N*-Boc-L-fenilalaninol en 5 ml de DMF y se enfrió hasta 0°C. A continuación se añadieron 159 mg (3,98 mmol) de una suspensión al 60% de hidruro de sodio en aceite

de parafina. Se agitó la mezcla de reacción hasta la finalización del desprendimiento de gas y a continuación se mezcló con 260  $\mu$ l (2,19 mmol) de bromuro de bencilo. Se retiró el baño de enfriamiento y se agitó la mezcla de reacción 2 h a TA. Después se concentró la mezcla básica, se llevó el residuo a agua helada y se extrajo la mezcla con diclorometano. Se lavó la fase orgánica con disolución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró. Se purificó el residuo por medio de HPLC preparativa. Se obtuvieron 226 mg (33% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 1,28 min;  $m/z$  = 342 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 31

Hidrocloruro de (2S)-1-(benciloxi)-3-fenilpropan-2-amina

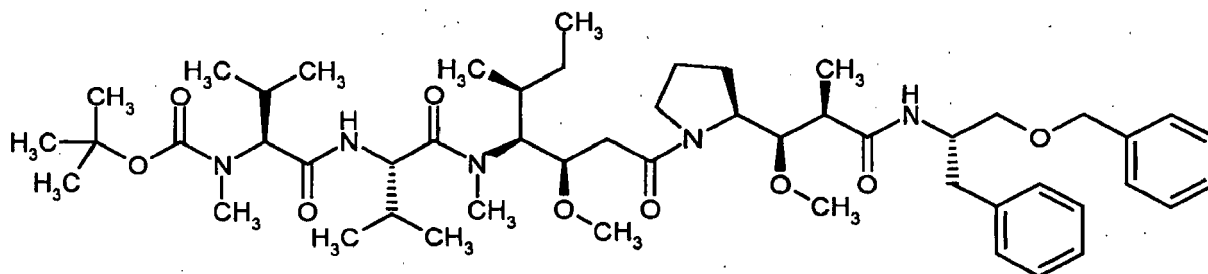


Se disolvieron 220 mg (644  $\mu$ mol) de [(2S)-1-(benciloxi)-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *tert*-butilo (producto intermedio 30) en 11 ml de una disolución 4 N de cloruro de hidrógeno en dioxano y se agitó 1 h a TA. Entonces se concentró la mezcla básica y se secó el residuo a vacío. Se obtuvieron 138 mg (77% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,65 min;  $m/z$  = 242 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 32

*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(bencil-oxi)-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



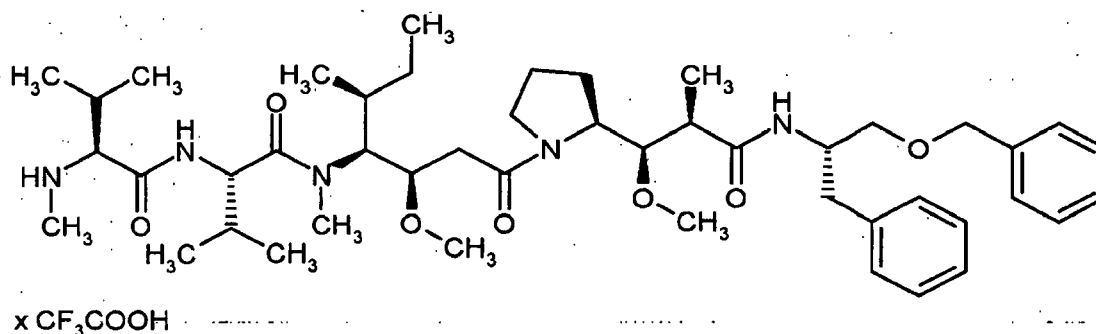
A una disolución de 20 mg (29  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) en 1 ml de DMF se le añadieron a TA 15,3  $\mu$ l (88  $\mu$ mol) de *N,N*-diisopropiletilamina, 6,7 mg (44  $\mu$ mol) de HOBt y 6,7 mg (35  $\mu$ mol) de EDC y se agitó la mezcla durante 30 min. A continuación se añadieron 7,8 mg (32  $\mu$ mol) de hidrocloruro de (2S)-1-(benciloxi)-3-fenilpropan-2-amina (producto intermedio 31). Tras agitar durante la noche se separó la mezcla de reacción directamente a través de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron 26 mg (98% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 1,51 min;  $m/z$  = 909 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 33

Sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benciloxi)-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



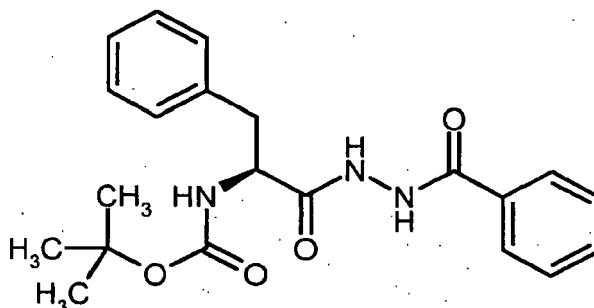


Se disolvieron 26 mg (29  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benciloxi)-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 32) en 1,8 ml de diclorometano y se mezclaron con 370  $\mu$ l de TFA. Se agitó la mezcla de reacción 30 min a TA y a continuación se concentró. Se llevó el residuo a agua y se liofilizó. Se obtuvieron 26,4 mg (cuant.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,97 min;  $m/z$  = 809 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 34

[(2*S*)-1-(2-benzoilhidrazino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *tert*-butilo

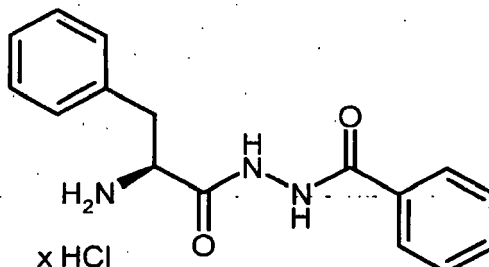


Se disolvieron 200 mg (754  $\mu$ mol) de *N*-Boc-L-fenilalanina en 8 ml de DMF y se mezclaron con 131  $\mu$ l (754  $\mu$ mol) de *N,N*-diisopropiletilamina, 346 mg (2261  $\mu$ mol) de HOBT, 434 mg (2261  $\mu$ mol) de EDC así como 411 mg (3015  $\mu$ mol) de benzoilhidrazina. Se agitó la mezcla de reacción durante la noche a TA, entonces se concentró y se purificó el residuo a través de HPLC preparativa. Se obtuvieron 313 mg (95% de pureza, 100% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,94 min;  $m/z$  = 384 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 35

Hidrocloruro de *N*-[(2*S*)-2-amino-3-fenilpropanoil]benzohidrazida

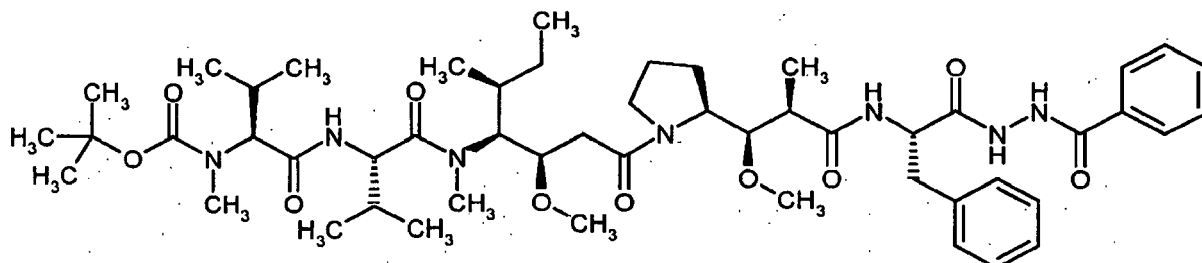


Se disolvieron 313 mg (818  $\mu$ mol) de [(2*S*)-1-(2-benzoilhidrazino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *tert*-butilo (producto intermedio 34) en 13 ml de una disolución 4 N de cloruro de hidrógeno en dioxano y se agitó 1 h a TA. A continuación se concentró la mezcla de reacción y se secó el residuo a vacío. Se obtuvieron 255 mg (92% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,44 min;  $m/z$  = 284 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Producto intermedio 36

5 [(2S)-1-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-(2-benzoilhidrazino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]metilcarbamato de *tert*-butilo



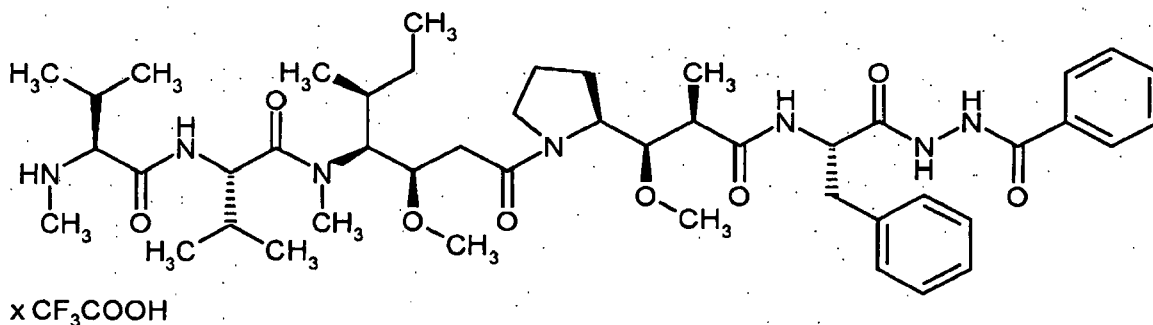
10 A una disolución de 20 mg (29  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) en 1 ml de DMF se le añadieron a TA 15,3  $\mu$ l (88  $\mu$ mol) de *N,N*-diisopropiletilamina, 6,7 mg (44  $\mu$ mol) de HOBt y 6,7 mg (35  $\mu$ mol) de EDC y se agitó la mezcla durante 30 min. A continuación se añadieron 9,1 mg (32  $\mu$ mol) de hidrocloreuro de *N'*-[(2S)-2-amino-3-fenilpropanoil]benzohidrazida (producto intermedio 35). Tras agitar durante la

15 noche se separó la mezcla de reacción directamente a través de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron 6,7 mg (24% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 1,32 min;  $m/z$  = 951 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Producto intermedio 37

20 Sal de ácido trifluoroacético de (2S)-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-(2-benzoilhidrazino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*,3-dimetil-2-[[[(2S)-3-metil-2-(metilamino)butanoil]amino]butanamida

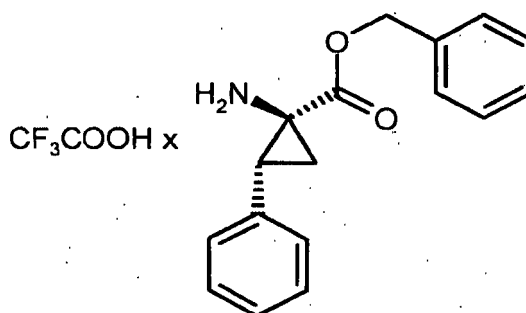


25 Se disolvieron 6,7 mg (7  $\mu$ mol) de [(2S)-1-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-(2-benzoilhidrazino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]metilcarbamato de *tert*-butilo (producto intermedio 36) en 454  $\mu$ l de diclorometano y se mezclaron con 91  $\mu$ l de TFA. Se agitó la mezcla de reacción 30 min a TA y a continuación se concentró. Se llevó el residuo a agua y se liofilizó. Se obtuvieron 6,8 mg (cuant.) del compuesto del título.

35 LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,80 min;  $m/z$  = 851 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Producto intermedio 38

40 Sal de ácido trifluoroacético del (1S,2R)-1-amino-2-fenilciclopropanocarboxilato de bencilo

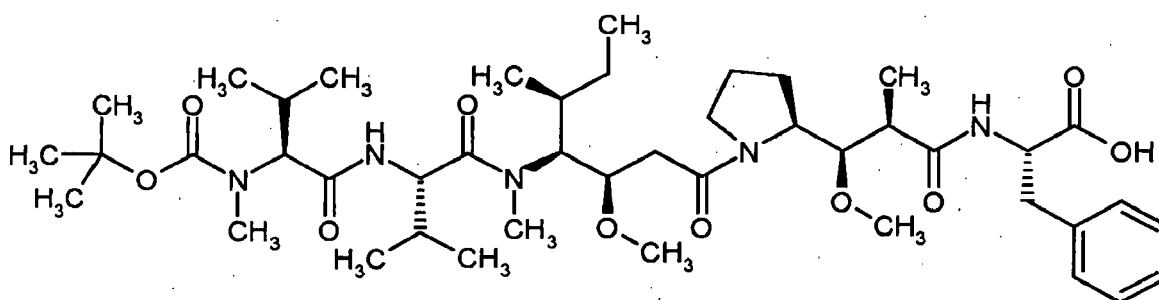


Se produjo el compuesto del título según métodos convencionales mediante esterificación de ácido (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-2-fenilciclopropanocarboxílico obtenible comercialmente con alcohol bencílico y posterior escisión de Boc con ácido trifluoroacético.

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,72$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 268$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 39

*N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



Se combinaron 383 mg (0,743 mmol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 5) con 485 mg (0,743 mmol) de sal de ácido trifluoroacético del *N*-[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil]-L-fenilalaninato de bencilo (producto intermedio 8), 424 mg (1,114 mmol) de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y 388  $\mu$ l de *N,N*-diisopropiletilamina en 15 ml de DMF y se agitó 10 min a TA. A continuación se eliminó el disolvente a vacío. Se llevó el residuo restante a acetato de etilo y se agitó sucesivamente con disolución de ácido cítrico acuosa al 5% y disolución de hidrogenocarbonato de sodio saturada. Se separó la fase orgánica, se concentró y se purificó el residuo por medio de HPLC preparativa. Se purificaron las fracciones de producto, se concentraron y se secó el residuo a alto vacío. Se obtuvieron 335 mg (48% d. T.) del producto intermedio de éster bencílico como espuma.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,49$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 922$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

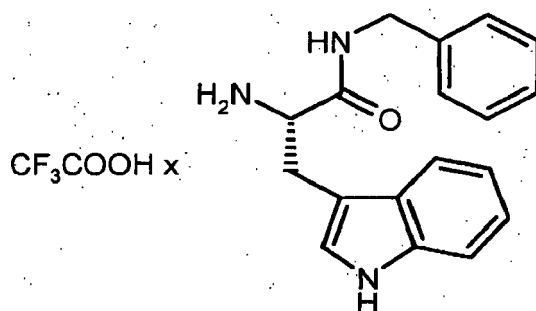
Se llevaron 100 mg (0,11 mmol) de este producto intermedio a 15 ml de metanol y se eliminó el grupo éster bencílico mediante hidrogenación a presión normal con paladio sobre carbón activo al 10% como catalizador. Tras 1 h agitando a TA se eliminó el catalizador mediante filtración y se concentró el filtrado a vacío. Tras la liofilización en dioxano se obtuvieron 85 mg (94% d. T.) del compuesto del título como sólido blanco.

HPLC (método 5):  $R_t = 2,4$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,24$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 832$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 40

Sal de ácido trifluoroacético de *N*-bencil-L-triptofanamida



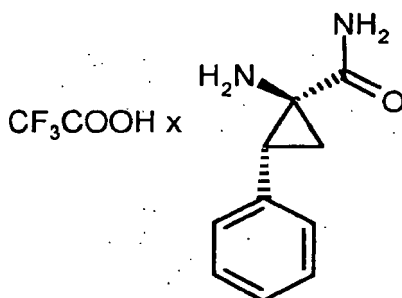
Se disolvieron 202 mg (0,5 mmol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*L*-triptofanato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo y 45 mg (0,42 mmol) de bencilamina en 10 ml de DMF y se mezclaron con 110  $\mu$ l (630  $\mu$ mol) de *N,N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla básica 3 h a TA. A continuación se concentró a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (eluyente: diclorometano/metanol/amoníaco ac. al 17% 20:0,5:0,05). Se purificaron las fracciones correspondientes y se concentraron. Se digirió el residuo resultante con dietil éter y entonces se secó a alto vacío. A continuación se llevó este residuo a 10 ml de diclorometano y se mezcló con 3 ml de ácido trifluoroacético libre de agua. Tras 45 min agitando a TA se concentró y se purificó el residuo mediante HPLC preparativa. Tras secar a alto vacío se obtuvieron 117 mg (57% d. T. a lo largo de ambas etapas) del compuesto del título.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 1,6 min;

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,66 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 294 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 41

Sal de ácido trifluoroacético de (1*S*,2*R*)-1-amino-2-fenilciclopropanocarboxamida



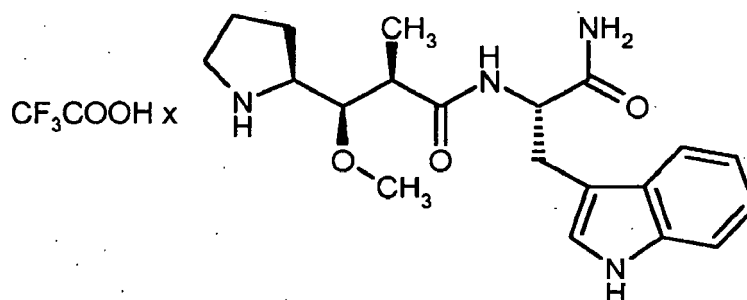
Se disolvieron 50 mg (180  $\mu$ mol) de ácido (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-2-fenilciclopropanocarboxílico obtenible comercialmente en 5 ml de DMF, se mezclaron con 94  $\mu$ l (541  $\mu$ mol) de *N,N*-diisopropiletilamina, 31 mg (270  $\mu$ mol) de *N*-hidroxisuccinimida así como 41,5 mg (216  $\mu$ mol) de EDC y a continuación se agitó durante la noche a TA. Después se concentró la mezcla de reacción, se llevó el residuo a dioxano, se mezcló con 71 mg (901  $\mu$ mol) de hidrogenocarbonato de amonio y entonces se dejó reposar la mezcla básica 3 días a TA. Después se diluyó la mezcla de reacción con una mezcla 1:1 de acetato de etilo y agua. Se separó la fase orgánica, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró. A continuación se llevó el residuo resultante a 3 ml de diclorometano y se mezcló con 3 ml de ácido trifluoroacético libre de agua. Tras 1 h agitando a TA se concentró. Se mezcló el residuo con pentano, se succionó y se liofilizó a partir de dioxano. De esta manera se obtuvieron 32 mg (62% d. T. a lo largo de ambas etapas) del compuesto del título.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 0,38 min;

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,20 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 177 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 42

Sal de ácido trifluoroacético de *N*<sup>ε</sup>-{[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil]-*L*-triptofanamida



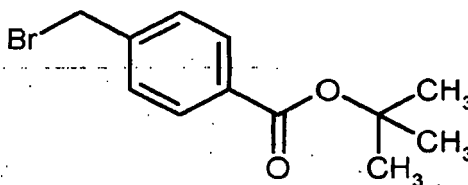
Se produjo el compuesto del título en analogía con la síntesis del producto intermedio 7 a partir del compuesto de partida 1 e hidrocloreto de L-triptofanamida.

HPLC (método 5):  $R_t = 1,4$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,92$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 473$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 43

4-(bromometil)benzoato de *tert*-butilo

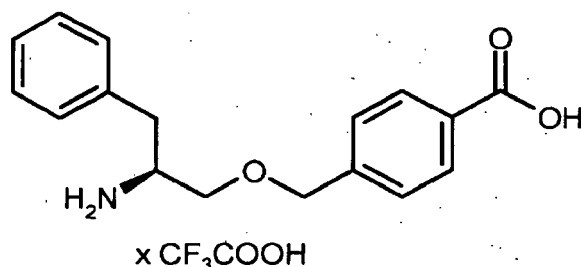


Se dispusieron 1000 mg (4,65 mmol) de ácido 4-(bromometil)benzoico en 6 ml de diclorometano, entonces se añadieron en primer lugar 18  $\mu$ l (0,23 mmol) de DMF y a continuación se añadieron gota a gota 811  $\mu$ l (9,3 mmol) de dicloruro de ácido oxálico. Se agitó la mezcla básica 15 min hasta la finalización del desprendimiento de gas y después se concentró. Se llevó el residuo a 10 ml de tolueno y se concentró de nuevo. A continuación se suspendió el cloruro de ácido benzoico así obtenido en 30 ml de dietil éter y se mezcló por partes con una suspensión de 522 mg (4,65 mmol) de *tert*-butilato de potasio en 40 ml de dietil éter. Se agitó la mezcla de reacción 1 h a TA y entonces se filtró. Se lavó el filtrado en cada caso tres veces con agua, disolución de cloruro de amonio saturada y disolución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de magnesio y tras la filtración se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto obtenido mediante cromatografía ultrarrápida a través de gel de sílice (eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 10:1). Se obtuvieron así 770 mg (51% d. T.) del compuesto del título.

MS (DCI):  $m/z = 217$  (M-54)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 44

Sal de ácido trifluoroacético del ácido 4-(((2*S*)-2-amino-3-fenilpropil)oxi)metil)benzoico



Se dispusieron 168,5 mg (0,67 mmol) de [(2*S*)-1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il]carbamato de *tert*-butilo bajo argón en 4,9 ml de DMF y se mezclaron a 0°C con 53,6 mg (1,3 mmol) de hidruro de sodio (como dispersión al 60% en aceite de parafina). Tras 30 min a 0°C se añadieron 200 mg (0,74 mmol) de 4-(bromometil)benzoato de *tert*-butilo. Tras finalizar la adición se agitó la mezcla básica 2 h a TA. Después se concentró la mezcla básica en un evaporador rotatorio, se llevó el residuo a agua helada y se extrajo la mezcla tres veces con en cada caso 50 ml de diclorometano. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con disolución de cloruro de sodio saturada, se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. Se purificó el producto bruto así obtenido por medio de HPLC preparativa. Se obtuvieron 50,2 mg (17% d. T.) del producto intermedio 4-(((2*S*)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-

fenilpropil}oxi)metil]benzoato de *tert*-butilo.

HPLC (método 10):  $R_t = 4,06$  min;

5 LC-MS (método 1):  $R_t = 1,45$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 442$  (M+H)<sup>+</sup>.

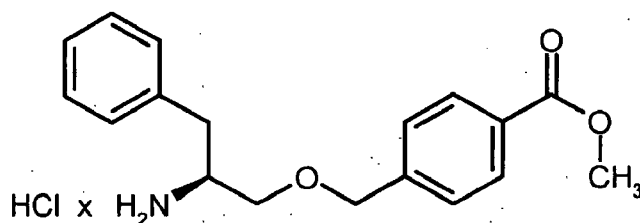
Se disolvieron 50 mg (0,11 mmol) de este producto intermedio a TA en 1,3 ml de ácido trifluoroacético y 6,4 ml de diclorometano y se agitó 15 min. Después se concentró la mezcla básica en un evaporador rotatorio y se secó el residuo a vacío. Se obtuvieron así 51,2 mg (99% d. T.) del compuesto del título.

10 HPLC (método 10):  $R_t = 2,40$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,53$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 286$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### 15 Producto intermedio 45

Hidrocloruro de 4-(((2*S*)-2-amino-3-fenilpropil}oxi)metil)benzoato de metilo



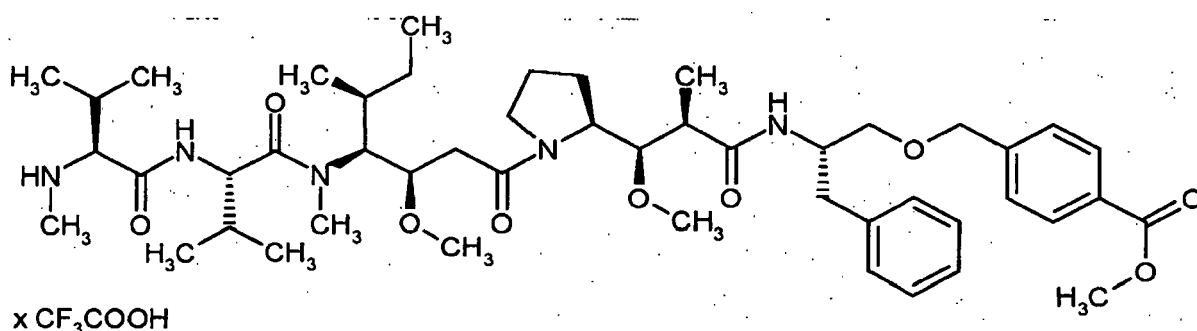
20 Se dispusieron 51,2 mg (128  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético del ácido 4-(((2*S*)-2-amino-3-fenilpropil}oxi)metil)benzoico en 5 ml de metanol y se mezclaron con 2,4 mg (13  $\mu$ mol) de ácido 4-toluenosulfónico monohidratado. Se agitó la mezcla básica durante la noche a reflujo. A continuación se añadieron 18,7  $\mu$ l (256  $\mu$ mol) de cloruro de tionilo y se calentó la mezcla de nuevo 6 h a reflujo. Después se concentró la mezcla de reacción en el evaporador rotatorio y se secó el residuo a vacío. Se obtuvieron así 42,3 mg (80% de pureza, 88% d. T.) del compuesto del título, que se utilizó sin purificación adicional en la reacción siguiente.

HPLC (método 10):  $R_t = 2,48$  min;

30 LC-MS (método 1):  $R_t = 0,68$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 300$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Producto intermedio 46

35 Sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*-1-[4-(metoxycarbonil)encil]oxi)-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



$\times \text{CF}_3\text{COOH}$

40 Se dispusieron 20 mg (29  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) en 0,59 ml de DMF y se mezclaron con 13,3 mg (35  $\mu$ mol) de HATU así como 20  $\mu$ l (117 mmol) de *N,N*-diisopropiletilamina. Tras 30 min se añadieron 9,6 mg (32  $\mu$ mol) de hidrocloreuro de 4-(((2*S*)-2-amino-3-fenilpropil}oxi)metil)benzoato de metilo (producto intermedio 45). Se agitó la mezcla de reacción durante la noche a TA y a continuación se separó directamente, sin procesamiento adicional, mediante HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron 15,2 mg (54% d. T.) del producto intermedio protegido con Boc *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-[4-(metoxycarbonil)encil]oxi)-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,49$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 967$  (M+H)<sup>+</sup>.

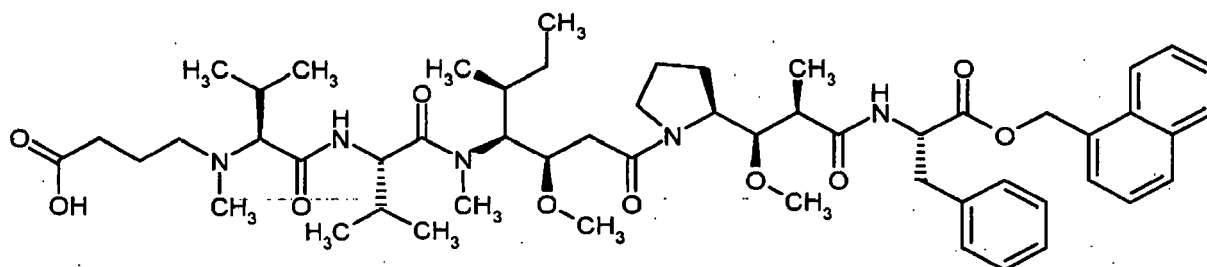
Mediante la posterior escisión del grupo protector Boc con ácido trifluoroacético se obtuvieron entonces 15,8 mg (99% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 11):  $R_t = 0,90$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 867$  (M+H)<sup>+</sup>.

### Ejemplos de realización:

#### Ejemplo 1

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



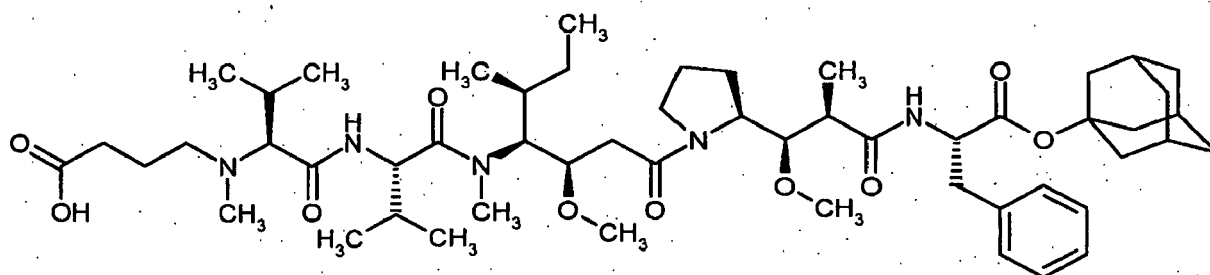
Se disolvieron 24 mg (24  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-1-(1-naftilmetoxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 21) y 31,5  $\mu$ l de una disolución de un ácido de aldehído succínico acuosa al 15% (49  $\mu$ mol) en 900  $\mu$ l de una mezcla 1:1 de dioxano/agua y se calentó durante 1 h hasta 100°C. Tras enfriar brevemente se añadieron 1,7 mg (27  $\mu$ mol) de cianoborohidruro de sodio. Se ajustó la mezcla de reacción mediante la adición de ácido clorhídrico 0,1 N a pH 3 y se calentó durante 2 h más hasta 100°C. Tras añadir de nuevo las mismas cantidades de disolución de ácido de aldehído succínico, cianoborohidruro de sodio y ácido clorhídrico se calentó de nuevo durante 2 h hasta 100°C. Después se separó la mezcla de reacción directamente por medio de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron así 20,1 mg (86% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,06$  min;  $m/z = 959$  (M+H)<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 0,73-0,81 (m, 3H), 0,82-1,05 (m, 15H), 1,19-1,48 (m, 3H), 1,53-2,10 (m, 4H), 2,12-2,41 (m, 5H), 2,79 (d, 2H), 2,85-3,06 (m, 3H), 3,06-3,13 (m, 3H), 3,13-3,28 (m, 6H), 3,35-3,43 (m, 1H), 3,89-4,14 (m, 1H), 4,45-4,81 (m, 3H), 5,48-5,73 (m, 2H), 7,13-7,33 (m, 5H), 7,45-7,53 (m, 1H), 7,53-7,64 (m, 3H), 7,91-8,05 (m, 3H), 8,21-8,60 (m, 1H), 8,69-9,01 (m, 1H), 9,27-9,60 (m, 1H) [señales adicionales ocultas bajo picos de disolvente].

#### Ejemplo 2

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-iloxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



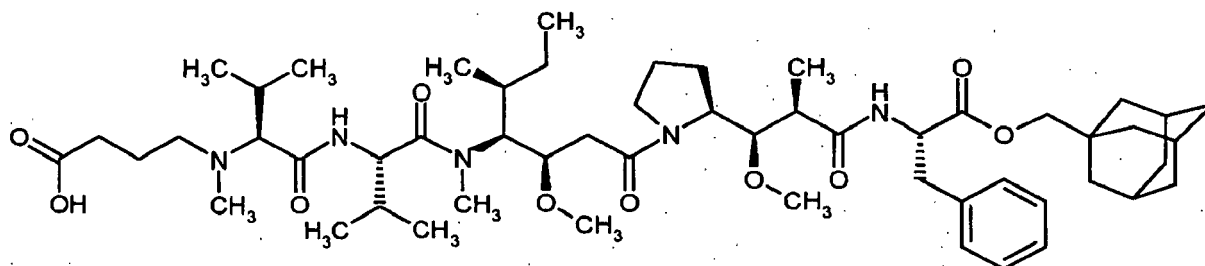
Se disolvieron 4,8 mg (5  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-il-oxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 25) y 6,3  $\mu$ l de una disolución de ácido de aldehído succínico acuosa al 15% (10  $\mu$ mol) en 180  $\mu$ l de una mezcla 1:1 de dioxano/agua y se calentó durante 1 h hasta

100°C. Tras enfriar brevemente se añadieron 0,34 mg (5  $\mu$ mol) de cianoborohidruro de sodio. Se ajustó la mezcla de reacción mediante la adición de ácido clorhídrico 0,1 N a pH 3 y se calentó durante 2 h más hasta 100°C. Tras añadir de nuevo las mismas cantidades de disolución de ácido de aldehído succínico, cianoborohidruro de sodio y ácido clorhídrico, se calentó de nuevo durante 2 h hasta 100°C. Después se separó la mezcla de reacción directamente por medio de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron así 3,2 mg (69% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,14$  min;  $m/z = 952$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

### Ejemplo 3

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-ilmetoksi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-1-metoksi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoksi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida

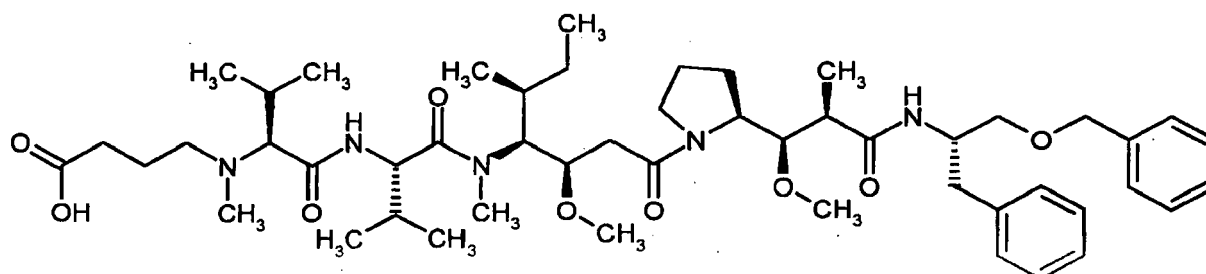


Se disolvieron 26 mg (26  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[ $\{3R,4S,5S\}$ -1- $\{2S\}$ -2-[[ $1R,2R\}$ -3-[[ $2S\}$ -1-(adamantan-1-il-metoxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 29) y 33,9  $\mu$ l de una disolución de ácido de aldehído succínico acuosa al 15% (53  $\mu$ mol) en 957  $\mu$ l de una mezcla 1:1 de dioxano/agua y se calentó durante 1 h hasta 100°C. Tras enfriar brevemente se añadieron 1,81 mg (29  $\mu$ mol) de cianoborohidruro de sodio. Se ajustó la mezcla de reacción mediante la adición de ácido clorhídrico 0,1 N a pH 3 y se calentó durante 2 h más hasta 100°C. Tras añadir de nuevo las mismas cantidades de disolución de ácido de aldehído succínico, cianoborohidruro de sodio y ácido clorhídrico, se calentó de nuevo durante 2 h hasta 100°C. Después se separó la mezcla de reacción directamente por medio de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron así 18,5 mg (73% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,17$  min;  $m/z = 967$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

### Ejemplo 4

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benciloxi)-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoksi-2-metil-3-oxopropil]pirolidin-1-il]-3-metoksi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



Se disolvieron 24 mg (26  $\mu\text{mol}$ ) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-1-(benciloxi)-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 33) y 33,7  $\mu\text{l}$  de una disolución de ácido de aldehído succínico acuosa al 15% (52  $\mu\text{mol}$ ) en 953  $\mu\text{l}$  de una mezcla 1:1 de dioxano/agua y se calentó durante 1 h hasta 100°C. Tras enfriar brevemente se añadieron 1,80 mg (29  $\mu\text{mol}$ ) de cianoborohidruro de sodio. Se ajustó la mezcla de reacción mediante la adición de ácido clorhídrico 0,1 N a pH 3 y se calentó durante 2 h más hasta 100°C. Tras añadir de nuevo las mismas cantidades de disolución de ácido de aldehído succínico, cianoborohidruro de sodio y ácido clorhídrico, se calentó de nuevo durante 2 h hasta 100°C. Después se separó la mezcla de reacción directamente por medio de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron así 15,2 mg (65% d. T.) del compuesto del título.

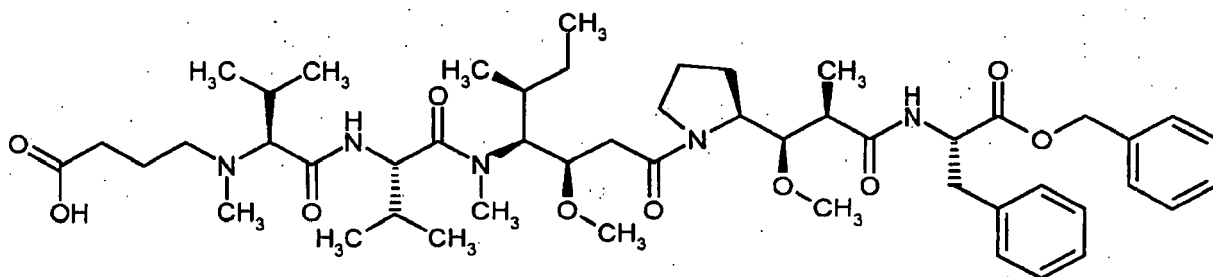


LC-MS (método 1):  $R_t = 1,01$  min;  $m/z = 895$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 0,72-0,81 (m, 3H), 0,81-1,00 (m, 15H), 1,03 (dd, 3H), 1,12-1,56 (m, 3H), 1,62-2,45 (m, 10H), 2,61-2,73 (m, 1H), 2,78 (s.a., 2H), 2,84-3,07 (m, 3H), 3,11 (s.a., 2H), 3,17 (s, 1H), 3,21 (d, 3H), 3,26 (s, 3H), 3,30-3,35 (m, 2H), 3,51-3,94 (m, 4H), 4,00 (s.a., 1H), 4,08-4,35 (m, 1H), 4,50 (s, 1H), 4,53 (s, 1H), 4,55-4,78 (m, 2H), 7,12-7,16 (m, 1H), 7,16-7,25 (m, 4H), 7,30 (d, 1H), 7,33-7,42 (m, 4H), 7,76 y 8,01 (2d, 1H), 8,73-8,98 (m, 1H) [señales adicionales ocultas bajo picos de disolvente].

#### Ejemplo 5

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



Se llevaron 53 mg (84  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 4) y 45 mg (84  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético del *N*-[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil]-*L*-fenilalaninato de bencilo (producto intermedio 8) a 2 ml de DMF, se mezclaron con 19  $\mu$ l de *N,N*-diisopropiletilamina, 14 mg (92  $\mu$ mol) de HOBT así como 17,6 mg (92  $\mu$ mol) de EDC y entonces se agitó durante la noche a TA. A continuación se concentró la mezcla de reacción y se purificó el residuo por medio de HPLC preparativa. Se obtuvieron así 59 mg (68% d. T.) del producto intermedio protegido con Fmoc *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benciloxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,55$  min;  $m/z = 1044$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Se trataron 57 mg (0,055 mmol) de este producto intermedio para la separación del grupo protector Fmoc con 1,2 ml de piperidina en 5 ml de DMF. Tras la concentración y purificación por medio de HPLC preparativa se obtuvieron 39 mg (76% d. T.) del producto intermedio de amina libre *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benciloxi)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético.

HPLC (método 5):  $R_t = 1,9$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,01$  min;  $m/z = 822$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

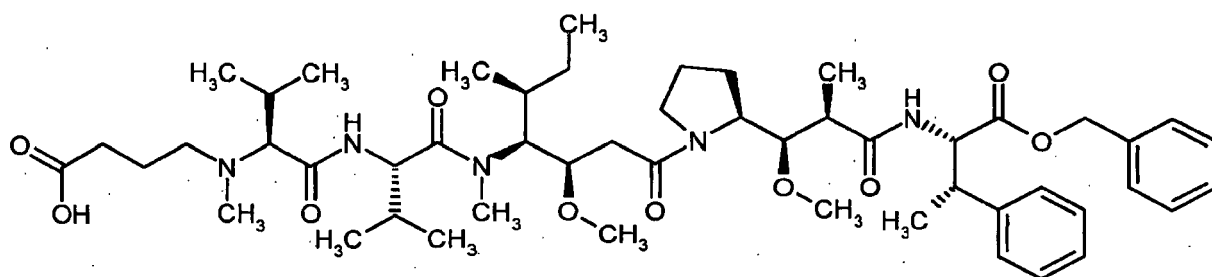
Se disolvieron 37 mg (0,045 mmol) de este producto intermedio en 5 ml de dioxano/agua (1:1) y se convirtieron de manera análoga a la producción del compuesto en el ejemplo 6 con una disolución acuosa al 15% de ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio. Se obtuvieron 16 mg (39% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (método 5):  $R_t = 2,1$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,01$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 908$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 6

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*S*)-1-(bencil-oxi)-1-oxo-3-fenilbutan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



En primer lugar se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*S*)-1-(benciloxi)-1-oxo-3-fenilbutan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 5 partiendo de los productos intermedios 4 y 7.

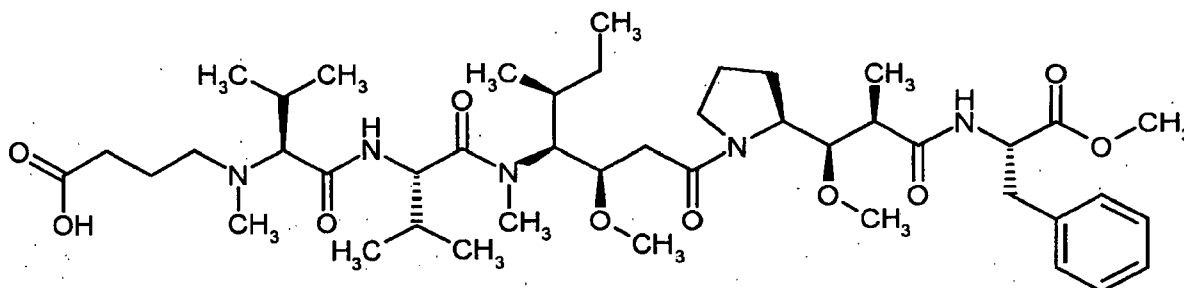
Se disolvieron 30 mg (0,032 mmol) de este compuesto en 6 ml de dioxano/agua (1:1) y se mezclaron con 41  $\mu$ l (0,063 mmol) de una disolución acuosa al 15% de ácido 4-oxobutanoico. A continuación se agitó la mezcla básica 1 h a 100°C. Tras un enfriamiento a TA se añadieron 2,2 mg (0,035 mmol) de cianoborohidruro de sodio y se ajustó la mezcla mediante la adición de aproximadamente 300  $\mu$ l de ácido clorhídrico 0,1 N a un valor de pH de 3. A continuación se agitó la mezcla básica 2 h más a 100°C. Tras un enfriamiento se añadieron de nuevo 41  $\mu$ l (0,063 mmol) de la disolución de ácido 4-oxobutanoico al 15% y a su vez se agitó la mezcla básica 1 h a 100°C. Entonces se añadieron 2,2 mg (0,035 mmol) más de cianoborohidruro de sodio y a continuación con aproximadamente 300  $\mu$ l de ácido clorhídrico 0,1 N se ajustó de nuevo el valor de pH a 3. A continuación se agitó de nuevo la mezcla básica 2 h a 100°C. Con una reacción todavía no completa se repitió este procedimiento una tercera vez. Finalmente se concentró la mezcla básica y se purificó el producto bruto por medio de HPLC preparativa. Se obtuvieron así 24 mg (82% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 1,9 min;

LC-MS (método 9):  $R_t$  = 5,15 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 922 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 7

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



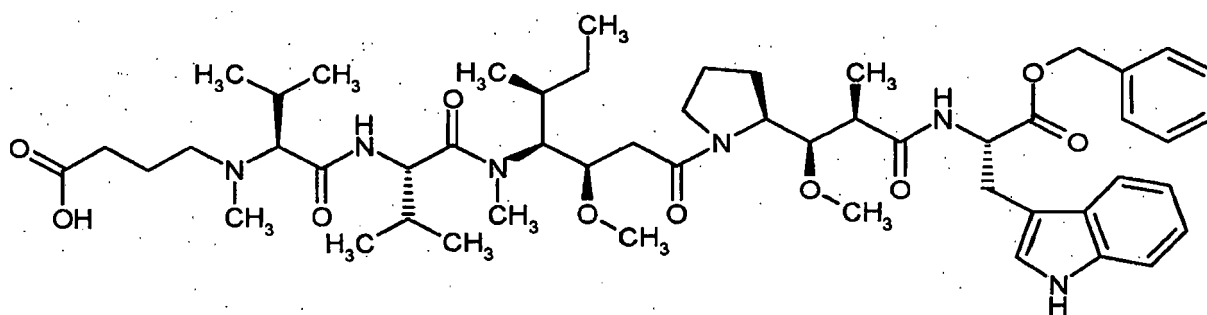
En primer lugar se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxo-propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 5 partiendo de los productos intermedios 4 y 11. A partir de 7 mg (0,009 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 2 mg (22% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 1,9 min;

LC-MS (método 2):  $R_t$  = 1,06 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 832 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 8

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benciloxi)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



Se llevaron 212 mg (411  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 5) y 237 mg (411  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético del *N*-[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil]-L-triptofanato de bencilo (producto intermedio 12) en 30 ml de DMF y se mezclaron con 188 mg (493  $\mu$ mol) de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio así como 215  $\mu$ l de *N,N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla básica 20 h a TA, a continuación se concentró a vacío y se purificó el residuo por medio de HPLC preparativa. Se purificaron las fracciones de producto, se concentraron y se secó el residuo a alto vacío. Se obtuvieron así 315 mg (80% d. T.) del producto intermedio protegido con Boc *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benciloxi)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como espuma incolora.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 1,45 min;  $m/z$  = 961 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Se trataron 50 mg (52  $\mu$ mol) de este producto intermedio para la separación del grupo protector Boc con 1 ml de ácido trifluoroacético en 9 ml de diclorometano. Tras la concentración y purificación por medio de HPLC preparativa se obtuvieron 29 mg (57% d. T.) del producto intermedio de amina libre *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benciloxi)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,99 min;  $m/z$  = 861 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

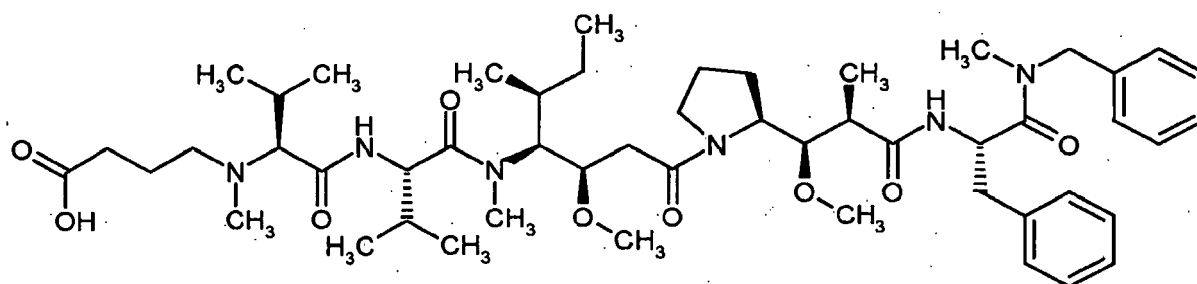
Se disolvieron 29 mg (0,03 mmol) de este producto intermedio en 6 ml de dioxano/agua (1:1) y se mezclaron con 39  $\mu$ l (0,059 mmol) de una disolución acuosa al 15% de ácido 4-oxobutanoico. A continuación se agitó la mezcla básica 1 h a 100°C. Tras un enfriamiento a TA se añadieron 2 mg (0,033 mmol) de cianoborohidruro de sodio y se ajustó la mezcla mediante la adición de aproximadamente 300  $\mu$ l de ácido clorhídrico 0,1 N a un valor de pH de 3. A continuación se agitó la mezcla básica 2 h más a 100°C. Tras un enfriamiento se añadieron de nuevo 39  $\mu$ l (0,059 mmol) de la disolución de ácido 4-oxobutanoico al 15% y a su vez se agitó la mezcla básica 1 h a 100°C. Entonces se añadieron 2 mg (0,033 mmol) más de cianoborohidruro de sodio y a continuación con aproximadamente 300  $\mu$ l de ácido clorhídrico 0,1 N se ajustó de nuevo el valor de pH a 3. Se agitó la mezcla de nuevo 2 h a 100°C. Entonces se vertió la mezcla básica en una mezcla 1:1 de disolución de cloruro de amonio acuosa semisaturada y acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se lavó con disolución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. Se liofilizó el residuo a partir de agua/acetonitrilo. Se obtuvieron así 27 mg (94% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 2,2 min;

LC-MS (método 9):  $R_t$  = 5,04 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 947 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 9

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



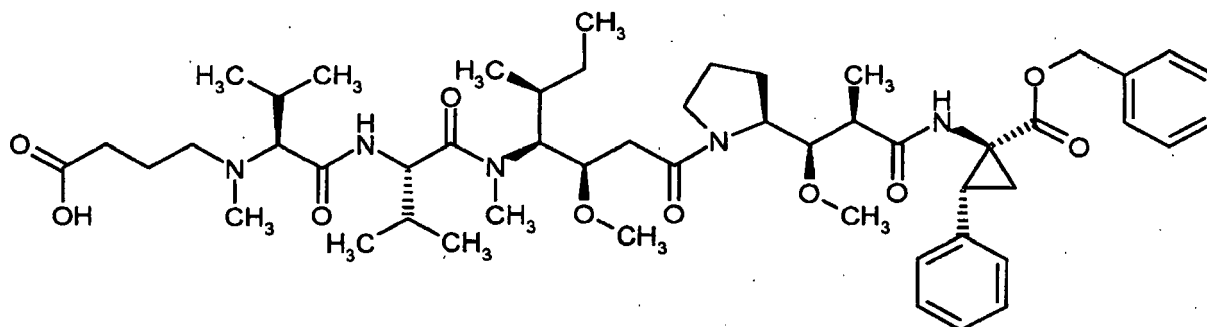
En primer lugar se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-bencil(metil)amino]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxo-propil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 5 partiendo de los productos intermedios 4 y 10. A partir de 25 mg (0,026 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 13 mg (54% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (método 5):  $R_t = 2,2$  min;

LC-MS (método 9):  $R_t = 5,01$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 921$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 10

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-[(bencil-oxi)carbonil]-2-fenilciclopropil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



Se llevaron 50 mg (73  $\mu$ mol) de *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) y 28 mg (73  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético del (1*S*,2*R*)-1-amino-2-fenilciclopropanocarboxilato de bencilo (producto intermedio 38) en 5 ml de DMF y se mezclaron con 42 mg (110  $\mu$ mol) de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N'*-tetrametiluronio y 38  $\mu$ l de *N,N*-diisopropiletilamina. Se agitó la mezcla básica 5 h a TA, a continuación se concentró a vacío y se purificó el residuo por medio de HPLC preparativa. Se purificaron las fracciones de producto y se concentraron. Tras la liofilización a partir de dioxano/agua se obtuvieron 35 mg (51% d. T.) del producto intermedio protegido con Boc *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-[(benciloxi)carbonil]-2-fenilciclopropil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como espuma incolora.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,52$  min;  $m/z = 934$  (M+H)<sup>+</sup>.

Se trataron 35 mg de este producto intermedio para la separación del grupo protector Boc con 1 ml de ácido trifluoroacético en 5 ml de diclorometano. Tras la concentración y liofilización a partir de dioxano/agua se obtuvieron 34 mg (97% d. T.) del producto intermedio de amina libre *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-[(benciloxi)carbonil]-2-fenilciclopropil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético.

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,91$  min;  $m/z = 834$  (M+H)<sup>+</sup>.

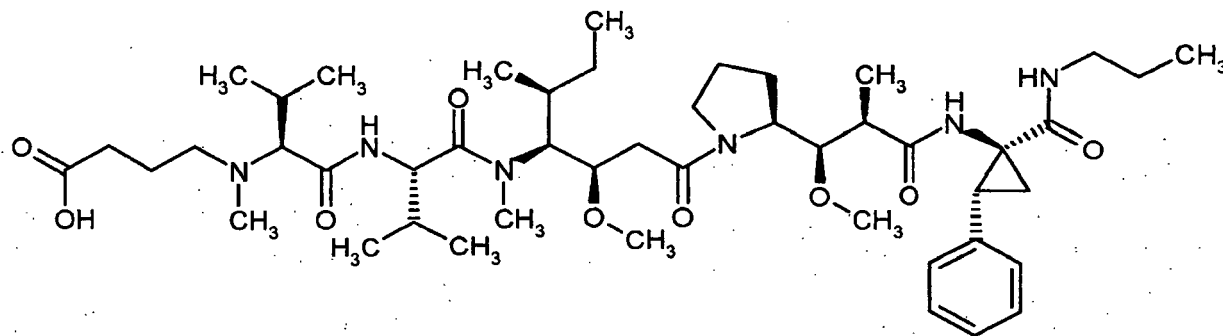
A partir de 1,1 mg (0,011 mmol) de este producto intermedio se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 2,5 mg (24% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (método 5):  $R_t = 2,2$  min;

LC-MS (método 9):  $R_t = 5,1$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 920$  (M+H)<sup>+</sup>.

## 5 Ejemplo 11

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*,2*R*)-2-fenil-1-(propilcarbamoil)ciclopropil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



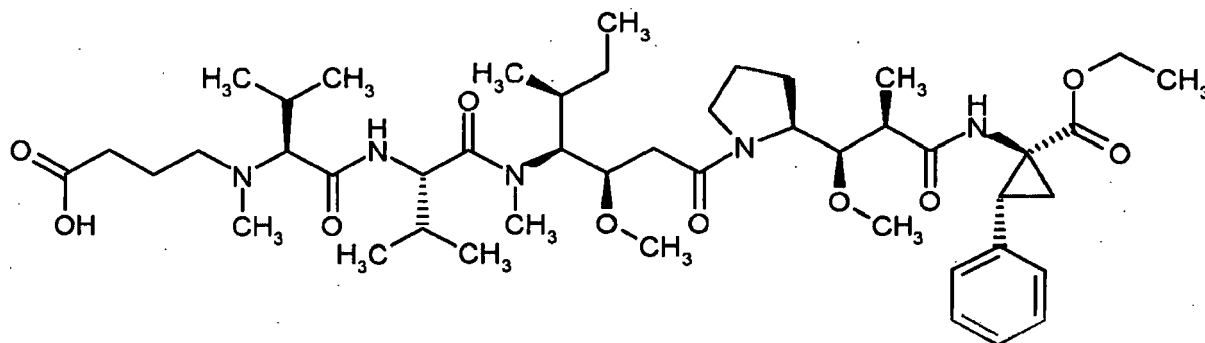
En primer lugar, en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 10 mediante acoplamiento de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) y sal de ácido trifluoroacético de (1*S*,2*R*)-1-amino-2-fenil-*N*-propilciclopropanocarboxamida (producto intermedio 16) en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y la posterior separación del grupo protector Boc por medio de ácido trifluoroacético, se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*,2*R*)-2-fenil-1-(propilcarbamoil)ciclopropil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 14 mg (0,016 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 11,3 mg (83% d. T.) del compuesto del título.

HPLC (método 5):  $R_t = 1,9$  min;

LC-MS (método 2):  $R_t = 1,27$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 871$  (M+H)<sup>+</sup>.

## Ejemplo 12

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-(etoxicarbonil)-2-fenilciclopropil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



En primer lugar, en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 10 mediante acoplamiento de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) y sal de ácido trifluoroacético de (1*S*,2*R*)-1-amino-2-fenilciclopropanocarboxilato de etilo (producto intermedio 17) en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y la posterior separación del grupo protector Boc por medio de ácido trifluoroacético, se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-(etoxicarbonil)-2-fenilciclopropil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 70 mg (0,079 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en

presencia de cianoborohidruro de sodio 46 mg (68% d. T.) del compuesto del título.

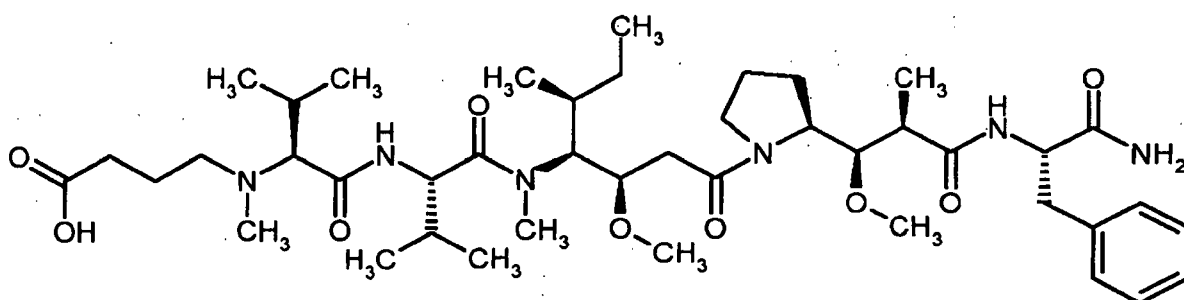
HPLC (método 5):  $R_t = 1,9$  min;

5 LC-MS (método 2):  $R_t = 1,28$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 858$  (M+H)<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 8,95$  y  $8,8$  (2m, 1H),  $8,85$  y  $8,7$  (2s, 1H),  $7,4-7,1$  (m, 5H),  $4,8$  y  $4,65$  (2m, 1H),  $4,55$  (m, 1H),  $4,12-3,95$  (m, 2H),  $3,9-3,8$  (m, 1H),  $3,8-3,4$  (m, 5H),  $3,35$ ,  $3,30$ ,  $3,20$ ,  $3,15$ ,  $3,10$ ,  $3,00$ ,  $2,81$  y  $2,79$  (8s, 12H),  $2,85-2,7$  (m, 2H),  $2,7-2,6$  (m, 1H),  $2,4-2,2$  (m, 3H),  $2,1-1,6$  (m, 9H),  $1,5-1,2$  (m, 3H),  $1,2-0,7$  (m, 24H) [señales adicionales ocultas bajo picos de disolvente].

### Ejemplo 13

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



En primer lugar, en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 10 mediante acoplamiento de *N*-(terc-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) e hidrocloreto de L-fenilalaninamida en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y la posterior separación del grupo protector Boc por medio de ácido trifluoroacético, se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 47 mg (0,049 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 39 mg (96% d. T.) del compuesto del título.

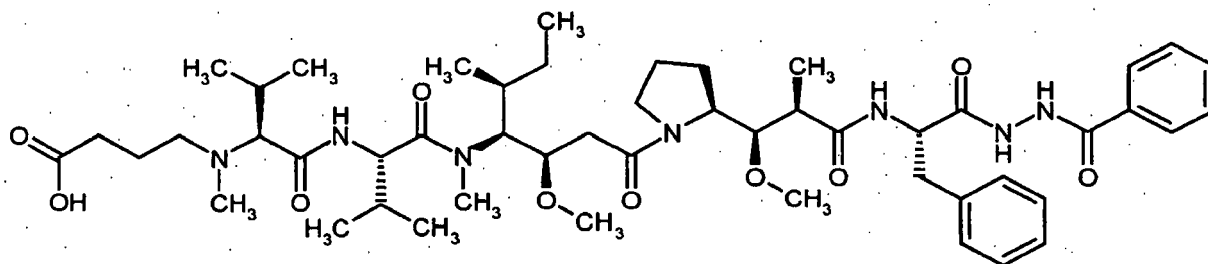
30 HPLC (método 5):  $R_t = 1,7$  min;

LC-MS (método 9):  $R_t = 4,44$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 817$  (M+H)<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 8,95$  y  $8,8$  (2m, 1H),  $8,25$  y  $8,0$  (2d, 1H),  $7,45$ ,  $7,35$  y  $7,0$  (3s, ancho, 2H),  $7,3-7,1$  (m, 5H),  $4,8-4,4$  (2m, 3H),  $3,95$  (m, 1H),  $3,82$  (m, 1H),  $3,72$  (d, 1H),  $3,22$ ,  $3,18$ ,  $3,15$ ,  $3,05$  y  $3,00$  (5s, 9H),  $2,85-2,7$  (m, 4H),  $2,45-1,6$  (m, 12H),  $1,5-1,2$  (m, 3H),  $1,1-0,7$  (m, 21H) [señales adicionales ocultas bajo picos de disolvente].

### Ejemplo 14

40 Ácido (3*R*,4*S*,7*S*,10*S*)-3-(2-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(2-benzoilhidrazino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-oxoetil)-4-[(2*S*)-butan-2-il]-7,10-diisopropil-5,11-dimetil-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oico



Se disolvieron 6,2 mg (6  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético de (2*S*)-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(2-benzoilhidrazino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-

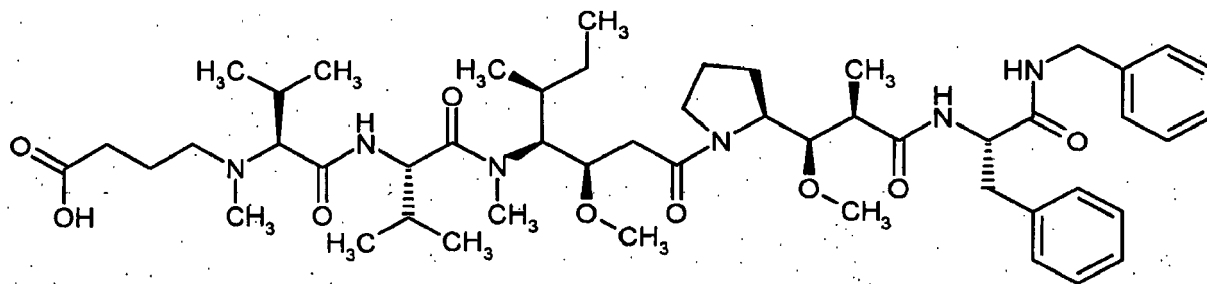
oxoheptan-4-il]-*N*,3-dimetil-2-[[*(2S)*-3-metil-2-(metilamino)butanoil]amino}butanamida (producto intermedio 37) y 8,3 µl de una disolución de ácido de aldehído succínico acuosa al 15% (13 µmol) en 235 µl de una mezcla 1:1 de dioxano/agua y se calentaron durante 1 h hasta 100°C. Tras enfriar brevemente se añadieron 0,5 mg (7 µmol) de cianoborohidruro de sodio. Se ajustó la mezcla de reacción mediante la adición de ácido clorhídrico 0,1 N a pH 3 y se calentó durante 2 h más hasta 100°C. Tras añadir de nuevo las mismas cantidades de disolución de ácido de aldehído succínico, cianoborohidruro de sodio y ácido clorhídrico se calentaron de nuevo durante 2 h hasta 100°C. Después se separó la mezcla de reacción directamente por medio de HPLC preparativa en sus componentes. Se obtuvieron así 4,1 mg (68% d. T.) del compuesto del título.

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,86$  min;  $m/z = 936$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 0,71-0,81 (m, 3H), 0,82-1,02 (m, 15H), 1,05 (d, 2H), 1,19-1,51 (m, 3H), 1,56-1,89 (m, 3H), 1,89-2,12 (m, 2H), 2,18-2,44 (m, 5H), 2,71-2,90 (m, 3H), 2,94-3,28 (m, 10H), 3,36-3,67 (m, 3H), 3,71-4,02 (m, 1H), 4,53-4,91 (m, 3H), 7,14-7,20 (m, 1H), 7,24 (dd, 2H), 7,31 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,52 (dd, 2H), 7,60 (dd, 1H), 7,92 (d, 2H), 8,24 y 8,46 (2d, 1H), 10,2-10,3 (m, 1H), 10,44-10,52 (m, 1H) [señales adicionales ocultas bajo picos de disolvente].

#### Ejemplo 15

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



Se llevaron 36 mg (43 µmol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 39) y 4,6 mg (43 µmol) de bencilamina a 5 ml de DMF, se mezclaron con 7,5 µl (88 µmol) de *N,N*-diisopropiletilamina, 10 mg (65 µmol) de HOBt así como 10 mg (52 µmol) de EDC y entonces se agitó durante la noche a TA. A continuación se concentró la mezcla de reacción y se purificó el residuo por medio de HPLC preparativa. Se obtuvieron 29 mg (73% d. T.) del producto intermedio protegido con Boc *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(bencilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida.

LC-MS (método 1):  $R_t = 1,43$  min;  $m/z = 921$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

Se trataron 29 mg de este producto intermedio para la separación del grupo protector Boc con 1 ml de ácido trifluoroacético en 6 ml de diclorometano. Tras la concentración y liofilización a partir de dioxano/agua, se obtuvieron 30 mg (cuant.) del producto intermedio de amina libre *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(bencilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético.

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,95$  min;  $m/z = 821$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

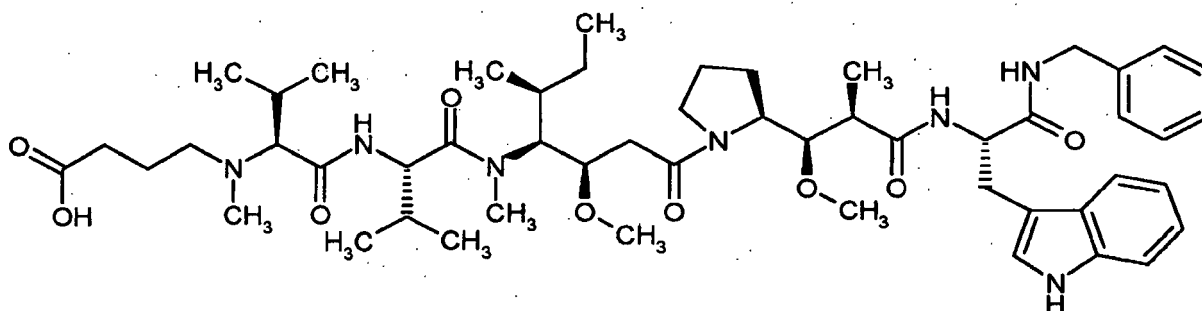
A partir de 17 mg (0,018 mmol) de este producto intermedio se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 13 mg (80% d. T.) del compuesto del título en forma de una espuma incolora.

HPLC (método 6):  $R_t = 1,7$  min;

LC-MS (método 9):  $R_t = 4,97$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 907$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 16

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(bencil-amino)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropion-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



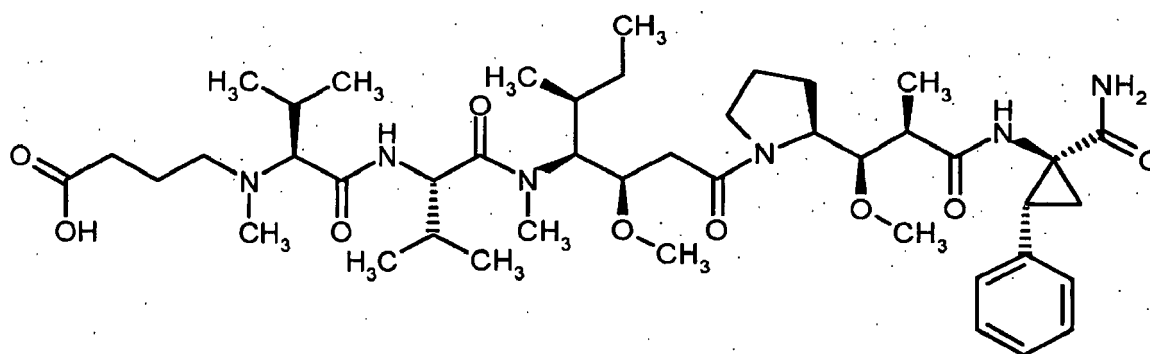
En primer lugar, en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 10 mediante acoplamiento de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) y sal de ácido trifluoroacético de *N*-bencil-L-triptofanamida (producto intermedio 40) en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y la posterior separación del grupo protector Boc por medio de ácido trifluoroacético, se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(bencilamino)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 10 mg (0,01 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 2,5 mg (26% d. T.) del compuesto del título.

HPLC (método 6):  $R_t = 1,7$  min;

LC-MS (método 2):  $R_t = 1,13$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 946$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 17

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-carbamoil-2-fenilciclopropil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



En primer lugar, en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 10 mediante acoplamiento de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) y sal del ácido trifluoroacético de (1*S*,2*R*)-1-amino-2-fenilciclopropanocarboxamida (producto intermedio 41) en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y la posterior separación del grupo protector Boc por medio de ácido trifluoroacético, se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*R*,2*R*)-1-carbamoil-2-fenilciclopropil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 15 mg (0,0175 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 11 mg (76% d. T.) del compuesto del título.

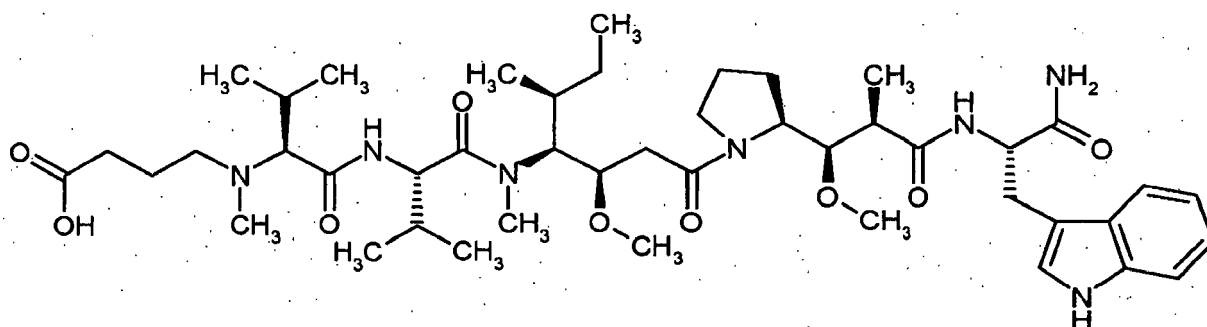
HPLC (método 5):  $R_t = 1,7$  min;

LC-MS (método 9):  $R_t = 4,66$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 829$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 18



*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



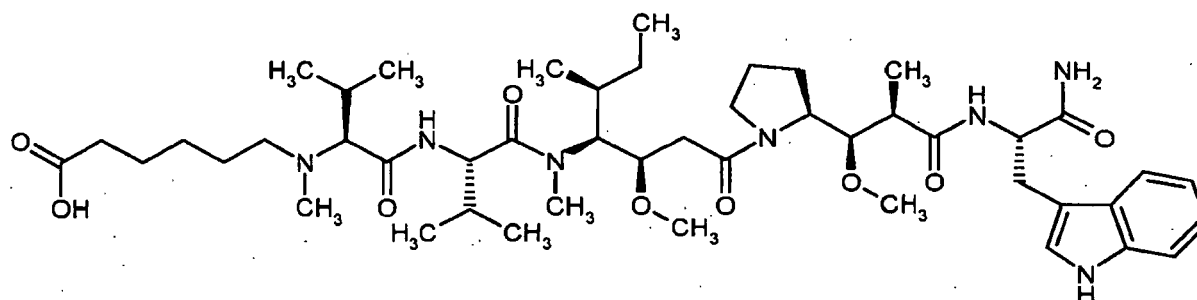
En primer lugar, en analogía con las síntesis descritas en los ejemplos 5 y 10 mediante acoplamiento de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 4) y sal de ácido trifluoroacético de *N*<sup>o</sup>-[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanoil]-L-triptofanamida (producto intermedio 42) en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y la posterior separación del grupo protector Fmoc por medio de piperidina, se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 78 mg (0,088 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 6 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 68 mg (90% d. T.) del compuesto del título.

HPLC (método 6):  $R_t = 1,8$  min;

LC-MS (método 9):  $R_t = 4,49$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 856$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 19

*N*-(5-Carboxipentil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



Se produjo el compuesto del título en analogía con la síntesis del ejemplo 18 mediante la reacción de 20 mg (26  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida con ácido 6-oxohexanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio.

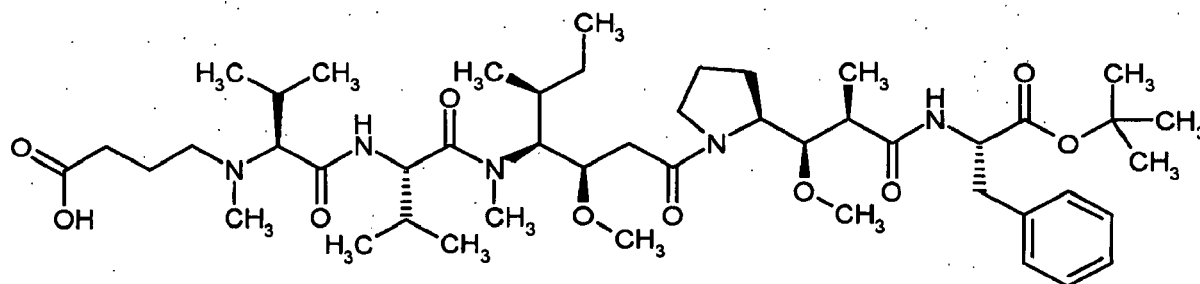
Rendimiento: 5 mg (25% d. T.)

HPLC (método 6):  $R_t = 1,6$  min;

LC-MS (método 11):  $R_t = 0,72$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 884$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 20

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*terc*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



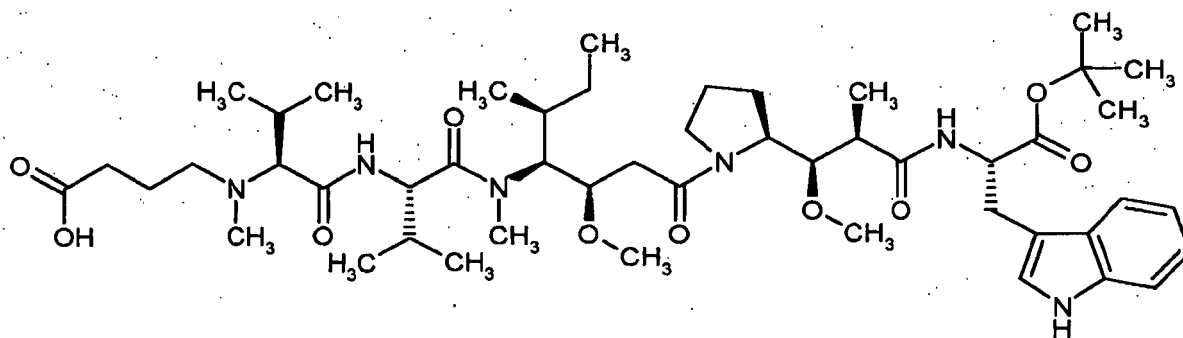
En primer lugar, en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 16 mediante acoplamiento de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxi-propil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) e hidrocloreto de *tert*-butil-L-fenilalaninato en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y la posterior separación cuidadosa del grupo protector Boc por medio de ácido trifluoroacético con preservación del grupo éster-*tert* butílico (40 min agitando a TA con ácido trifluoroacético al 10% en diclorometano), se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*tert*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 22 mg (0,02 mmol, 80% de pureza) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 1 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 16 mg (94% d. T.) del compuesto del título.

HPLC (método 5):  $R_t = 2,0$  min;

LC-MS (método 9):  $R_t = 5,05$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 874$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 21

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*tert*-butoxi-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



La producción del compuesto del título se produjo en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 20 a lo largo de tres etapas partiendo de 230 mg (336  $\mu$ mol) de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) e hidrocloreto de *tert*-butil-L-triptofanato.

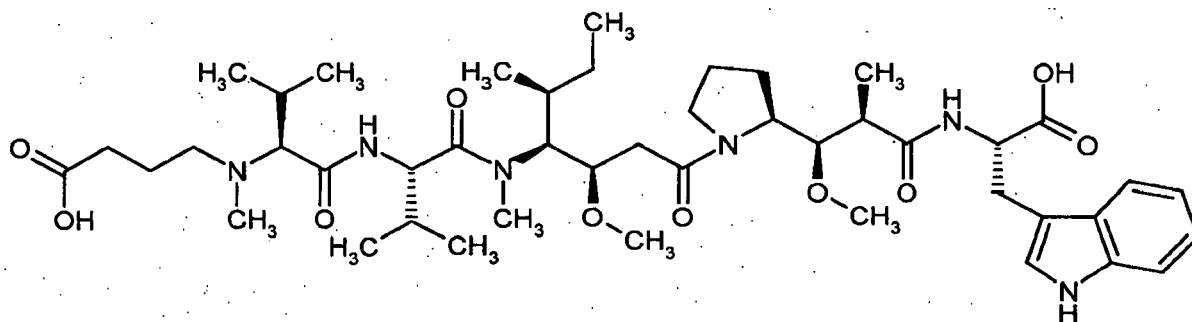
Rendimiento: 95 mg (31% d. T. a lo largo de tres etapas)

HPLC (método 5):  $R_t = 2,0$  min;

LC-MS (método 9):  $R_t = 5,05$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 913$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 22

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-1-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-(1*H*-indol-3-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



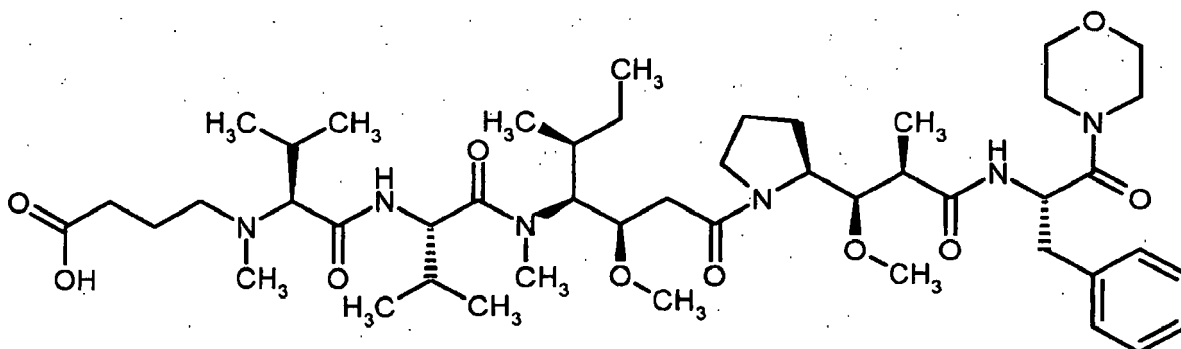
Se agitaron 8 mg (9  $\mu$ mol) del compuesto del ejemplo 21 con 1 ml de ácido trifluoroacético en 3 ml de diclorometano 4 h a TA. Tras concentrar la mezcla básica a vacío se purificó el producto bruto por medio de HPLC preparativa.

Rendimiento: 3 mg (37% d. T.)

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,77 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 857 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 23

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(25)-1-(morfolin-4-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



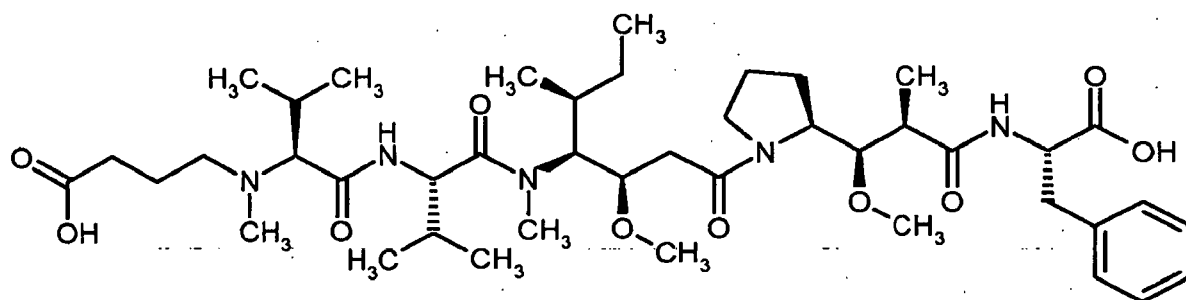
En primer lugar, en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 15 mediante acoplamiento de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletíl]aminol-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxo-heptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 39) y morfolina en presencia de EDC y HOBt así como la posterior separación del grupo protector Boc por medio de ácido trifluoroacético, se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-1-(morfolin-4-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 30 mg (0,033 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 1 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 22 mg (76% d. T.) del compuesto del título.

HPLC (método 6):  $R_t$  = 1,6 min;

LC-MS-(método 9):  $R_t$  = 4,58 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 887 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 24

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxo-heptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



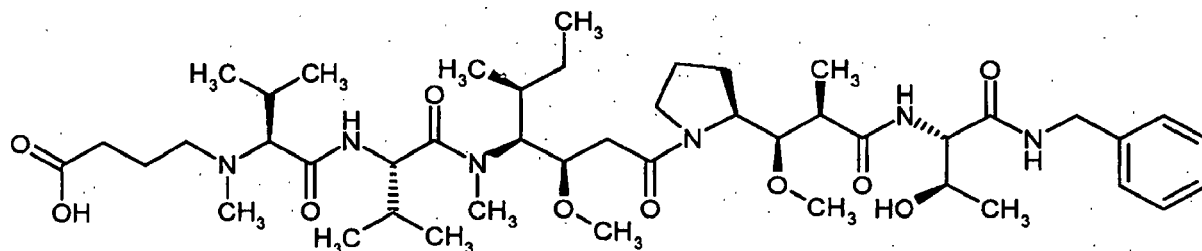
Se llevaron 0,4 mg (0,5  $\mu$ mol) del compuesto del ejemplo 20 a 1 ml de diclorometano y se mezclaron con 1 ml de ácido trifluoroacético. Tras 1 h de agitación a TA se concentró la mezcla y se liofilizó el residuo a partir de dioxano/agua. Se obtuvieron 0,37 mg (99% d. T.) del compuesto del título como espuma incolora.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 1,6 min;

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,8 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 818 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 25

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*R*)-1-(bencil-amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



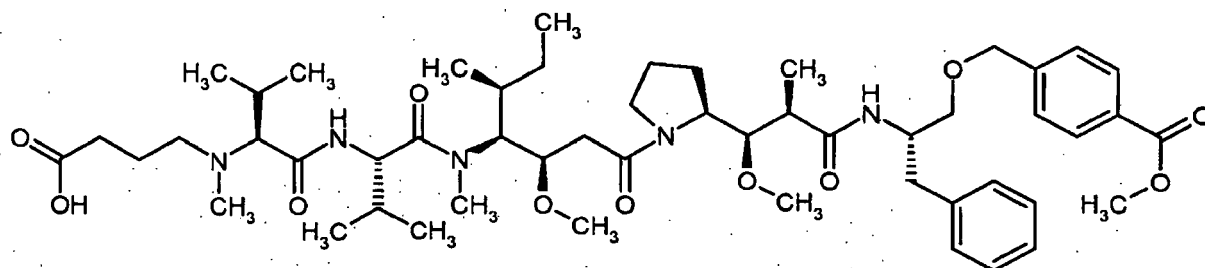
En primer lugar, en analogía con la síntesis descrita en el ejemplo 16 mediante acoplamiento de *N*-(terc-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 15) y sal de ácido trifluoroacético de *N*-bencil-L-treoninamida en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio y la posterior separación del grupo protector Boc por medio de ácido trifluoroacético, se produjo el compuesto de amina *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*R*)-1-(bencilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida como sal del ácido trifluoroacético. A partir de 21 mg (0,024 mmol) de este compuesto se obtuvieron entonces en analogía con la producción del ejemplo 1 mediante la reacción con ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio 20 mg (97% d. T.) del compuesto del título.

HPLC (método 5):  $R_t$  = 1,5 min;

LC-MS (método 9):  $R_t$  = 4,49 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 861 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 26

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-[4-(metoxicarbonil)bencil]oxi]-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida

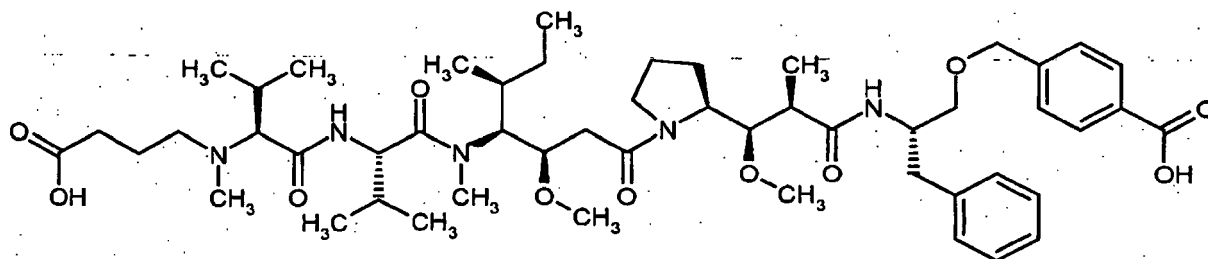


Se disolvieron 11,5 mg (12  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[[4-(metoxycarbonil)bencil]oxi]-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]-pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (producto intermedio 46) en 0,7 ml de dioxano/agua (1:1) y se convirtieron de manera análoga a la producción del ejemplo 1 con una disolución acuosa al 15% de ácido 4-oxobutanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio. Tras la liofilización a partir de dioxano se obtuvieron 8,3 mg (74% d. T.) del compuesto del título en forma de sólido blanco.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,95 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 953 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 27

*N*-(3-Carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-[(4-carboxi-bencil]oxi)-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida

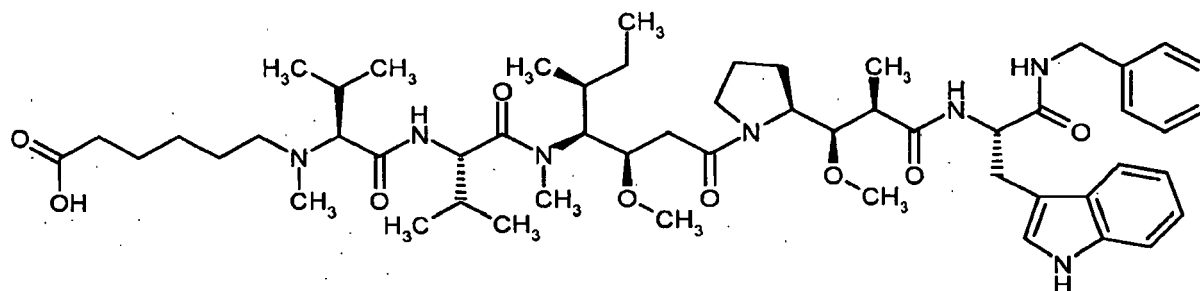


Se disolvieron 7,5 mg (8  $\mu$ mol) de *N*-(3-carboxipropil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[[4-(metoxycarbonil)bencil]oxi]-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (ejemplo 26) en 0,25 ml de THF/agua (1:1). Se añadieron 0,8 mg (32  $\mu$ mol) de hidróxido de litio y se agitó la mezcla básica 3 h a TA. A continuación se acidificó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1 N y se extrajo tres veces con en cada caso 5 ml de acetato de etilo. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. Tras la liofilización a partir de dioxano se obtuvieron 2,3 mg (71% de pureza, 22% d. T.) del compuesto del título en forma de sólido blanco.

LC-MS (método 1):  $R_t$  = 0,91 min; MS (ESIpos):  $m/z$  = 939 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 28

*N*-(5-Carboxipentil)-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(bencil-amino)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida



Se produjo el compuesto del título en analogía con la síntesis del ejemplo 16 mediante la reacción de 100 mg (103  $\mu$ mol) de sal de ácido trifluoroacético de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(bencilamino)-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-

oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida con ácido 6-oxohexanoico en presencia de cianoborohidruro de sodio.

Rendimiento: 40 mg (40% d. T.)

5 HPLC (método 5):  $R_t = 1,9$  min;

LC-MS (método 1):  $R_t = 0,92$  min; MS (ESIpos):  $m/z = 974$  (M+H)<sup>+</sup>.

#### B. Evaluación de la actividad biológica

10 La actividad biológica de los compuestos según la invención puede demostrarse mediante análisis *in vitro* e *in vivo*, tal como conoce el experto en la técnica. Por ejemplo, las propiedades farmacológicas y farmacocinéticas de los compuestos según la invención pueden determinarse con ayuda de los ensayos descritos a continuación:

##### 15 B-1. Determinación del efecto antiproliferativo en la línea celular 786-O RCC:

Se sembró un número de células definido de la línea celular 786-O de carcinoma renal humano en una placa de microtitulación de 96 pocillos en medio completo (2.500 ó 7.000 células/pocillo) y se incubaron durante la noche a 37°C / 5% de CO<sub>2</sub>. Después de 18 h se sustituyó el medio de siembra por medio libre de suero o medio con un 2% de FCS. El tratamiento se inició con la adición de la respectiva sustancia de prueba, con una concentración variable (de 10<sup>-5</sup> M a 10<sup>-14</sup> M). Se eligieron tiempos de incubación de 48 h a 96 h. La proliferación se determinó con ayuda del ensayo de MTT (ATCC, Manassas, Virginia, EE.UU., n.º de catálogo 30-1010K). Después de transcurrir el tiempo de incubación, se incubó el reactivo MTT con las células durante 4 h, antes de que mediante la adición del detergente tuviera lugar durante la noche la lisis de las células. La detección del colorante formado tuvo lugar a 570 nm. La proliferación de células no tratadas con la sustancia de prueba, pero por lo demás de manera idéntica se definió como el valor del 100%. Los datos obtenidos a partir de esta prueba representan determinaciones por triplicado y se llevaron a cabo al menos dos experimentos independientes.

En la siguiente tabla 1 se exponen los valores de CI<sub>50</sub> de ejemplos de realización representativos de este ensayo:

30 Tabla 1

| Ejemplo de realización | CI <sub>50</sub> [nM] |
|------------------------|-----------------------|
| 1                      | 1,1                   |
| 2                      | 2,2                   |
| 3                      | 0,7                   |
| 4                      | 0,8                   |
| 5                      | 0,2                   |
| 6                      | 1,1                   |
| 8                      | 5,2                   |
| 9                      | 53                    |
| 10                     | 81                    |
| 11                     | 6,7                   |
| 12                     | 13                    |
| 13                     | 12,5                  |
| 14                     | 59                    |
| 15                     | 0,9                   |
| 16                     | 12                    |
| 18                     | 173                   |
| 20                     | 0,3                   |
| 25                     | 164                   |
| 26                     | 10                    |

En comparación con esto, la monometilauristatina F (MMAF) muestra en esta prueba un valor de CI<sub>50</sub> de 260 nM.

##### 35 B-2. Determinación del efecto antiproliferativo en la línea celular HT29wt:

Se sembró un número de células definido de la línea celular HT29wt del carcinoma de colon humano (tipo natural) en una placa de microtitulación de 96 pocillos en medio completo (10% de FCS-RPMI) (2.500 células/pocillo) y se incubaron durante la noche a 37°C / 5% de CO<sub>2</sub>. Después de 18 h se sustituyó el medio de siembra por medio nuevo con un 10% de FCS. El tratamiento se inició con la adición de la respectiva sustancia de prueba. De las sustancias que iban a analizarse se determinaron curvas de dosis-efecto en un intervalo de concentraciones de 10<sup>-5</sup> a 10<sup>-14</sup> (serie de diluciones 1:10). Se eligieron tiempos de incubación de 48 h a 96 h. La detección de la proliferación se produjo con ayuda del ensayo de MTT (ATCC, Manassas, Virginia, EE.UU., n.º de catálogo 30-1010K). Después de transcurrir el tiempo de incubación elegido, se incubó el reactivo MTT con las células durante 4 h, antes de que

mediante la adición del detergente tuviera lugar durante la noche la lisis de las células. La detección del colorante formado tuvo lugar a 570 nm. La proliferación de células no tratadas con la sustancia de prueba, pero por lo demás de manera idéntica se definió como el valor del 100%. Los datos obtenidos a partir de esta prueba representan determinaciones por triplicado y se llevaron a cabo al menos dos experimentos independientes.

5 En la siguiente tabla 2 se exponen los valores de  $CI_{50}$  de ejemplos de realización representativos de este ensayo:

Tabla 2

| Ejemplo de realización | $CI_{50}$ [nM] |
|------------------------|----------------|
| 1                      | 0,1            |
| 4                      | 0,1            |
| 6                      | 0,4            |
| 8                      | 0,5            |
| 9                      | 4,4            |
| 11                     | 0,8            |
| 13                     | 1,0            |
| 16                     | 0,1            |
| 18                     | 16             |
| 25                     | 1,5            |
| 26                     | 1,5            |
| 28                     | 1,3            |

10 En comparación con esto, la monometilauristatina F (MMAF) muestra en esta prueba un valor de  $CI_{50}$  de 10 nM.

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

15 Las células cancerosas son células desnaturalizadas, que a menudo también por una división celular aumentada conducen a la formación de un tumor. Los microtúbulos forman las fibras del huso del huso acromático y son un componente esencial del ciclo celular. La construcción y degradación regulada de microtúbulos posibilita la división exacta de los cromosomas en las células hijas y representa un proceso dinámico continuo. Una perturbación de esta dinámica conduce a una división celular defectuosa y finalmente a la muerte de la célula. Sin embargo, la división celular aumentada de las células cancerosas las hace también especialmente sensibles frente a los agentes tóxicos de las fibras del huso, que representan un componente sólido de la quimioterapia. Los agentes tóxicos de las fibras del huso tales como paclitaxel o epotilona conducen a una velocidad de polimerización muy aumentada de los microtúbulos, mientras que los alcaloides de la vinca o también la monometilauristatina E (MMAE) conducen a una velocidad de polimerización muy reducida de los microtúbulos. En los dos casos, la dinámica necesaria del ciclo celular está sensiblemente perturbada. Los compuestos analizados en el marco de la presente invención conducen a una velocidad de polimerización reducida de los microtúbulos.

30 Para el análisis de la polimerización de tubulinas se utilizó el "Fluorescence-based Microtubule Polymerisation Assay Kit" de la empresa Cytoskeleton (Denver, Colorado, EE.UU.; número de pedido: BK011). En este ensayo se añade tubulina GTP no polimerizada, con lo que la polimerización puede tener lugar espontáneamente. El ensayo se basa en la unión del fluoróforo 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) a la tubulina. El DAPI libre y unido puede diferenciarse debido a los diferentes espectros de emisión. Puesto que el DAPI presenta una afinidad claramente superior frente a tubulina polimerizada en comparación con tubulina no polimerizada, puede observarse la polimerización de tubulina por medio del aumento de la fluorescencia de los fluoróforos DAPI unidos.

35 Para llevar a cabo este ensayo se diluyeron las sustancias de prueba disueltas en DMSO, desde su concentración de partida de 10 mM hasta 1  $\mu$ M en agua. Junto al control de tampón, como control del ensayo se utilizó también paclitaxel que aumenta la polimerización y, por otro lado, vinblastina que inhibe la polimerización. Para la medición se utilizaron placas perforadas de 96 pocillos con la mitad de superficie de fondo. Se observó la cinética de la polimerización de la tubulina durante 1 h a 37°C en un fluorímetro. La longitud de onda de excitación ascendió a 355 nm, la emisión se observó a 460 nm. Para la zona de la subida lineal en los primeros 10 minutos se calculó la variación de fluorescencia por minuto ( $\Delta F/\text{min}$ ), que representa la velocidad de polimerización de los microtúbulos. Se cuantificó la potencia de las sustancias de prueba con ayuda de la respectiva reducción de la velocidad de polimerización.

#### 45 B-4. Determinación de la estabilidad en plasma *in vitro*:

##### Método A:

50 Se disolvió 1 mg de la respectiva sustancia de prueba en 0,5 ml de acetonitrilo/DMSO (9:1). De esta disolución se retiraron 20  $\mu$ l y se añadieron a 1 ml de plasma de rata o plasma humano, calentado a 37° (plasma de ratas macho Wistar con Li-heparina, empresa Harlan & Winkelmann, o plasma humano reciente empobrecido en leucocitos

extraído de sangre completa). A partir de esta disolución de plasma fuertemente agitada, inmediatamente después de la adición de la muestra (valor inicial como magnitud de referencia) y entonces después de 5, 10, 30, 60, 120, 180 y 240 minutos, así como dado el caso después de 24 horas, se tomaron en cada caso alícuotas de 100 µl y se añadieron a 300 µl de acetonitrilo. Las proteínas plasmáticas precipitadas se centrifugaron durante 10 minutos a 5000 rpm y se analizaron 30 µl del sobrenadante por HPLC para detectar su contenido en la sustancia de prueba no modificada. La cuantificación se produjo a través de los porcentajes de superficie de los picos correspondientes.

#### Método de HPLC en plasma de rata:

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

#### Método de HPLC en plasma humano:

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

#### Método B:

Se incubó la respectiva sustancia de prueba en plasma de rata o humano a 37°C 45 durante un periodo de tiempo de 5 h bajo ligera agitación. En distintos momentos (0, 2, 5, 10, 20, 30, 60, 120, 180 y 300 minutos) se tomaron en cada caso alícuotas de 100 µl. Tras la adición de un patrón interno (10 µl) las proteínas precipitaron por la adición de 200 µl de acetonitrilo, y la mezcla se centrifugó en una centrífuga Eppendorf durante 5 minutos. Tras la adición de 150 µl de tampón acetato de amonio pH 3 a 150 µl del sobrenadante, se analizó mediante LC/MSMS el contenido en sustancia de prueba no modificada.

#### B-5. Determinación de la permeabilidad celular:

Puede analizarse la permeabilidad celular de una sustancia mediante pruebas *in vitro* en un ensayo de flujo utilizando células Caco-2 [M.D. Troutman y D.R. Thakker, Pharm. Res. 20 (8), 1210-1224 (2003)]. Para ello, se cultivaron las células en placas de filtro con 24 pocillos durante 15-16 días. Para la determinación de la permeación se añadió la respectiva sustancia de prueba en un tampón HEPES o bien de manera apical (A) o bien de manera basal (B) a las células y se incubó durante 2 horas. Después de 0 h y después de 2 h se extrajeron muestras de los compartimentos cis y trans. Las muestras se separaron mediante HPLC (Agilent 1200, Böblingen, Alemania) utilizando columnas de fase inversa. El sistema de HPLC estaba acoplado a través de una interfaz de pulverización iónica Turboa un espectrómetro de masas API 4000 de cuadrupolo triple (Applied Biosystems Applera, Darmstadt, Alemania). Se evaluó la permeabilidad con ayuda de un valor de  $P_{app}$ , que se calculó mediante la fórmula publicada por Schwab *et al.* [D. Schwab *et al.*, J. Med. Chem. 46, 1716-1725 (2003)]. Se clasificó una sustancia como transportada activamente, si la relación de  $P_{app}$  (B-A) con respecto a  $P_{app}$  (A-B) era  $> 2$  o  $< 0,5$ .

De significado decisivo para los toxóforos que se liberan intracelularmente es la permeabilidad de B con respecto a A [ $P_{app}$  (B-A)]: cuanto más baja sea esta permeabilidad, mayor es la permanencia de la sustancia en la célula después de la liberación intracelular y, con ello, también el tiempo en que está disponible una interacción con la diana bioquímica (en este caso: tubulina).

En la siguiente tabla 3 se exponen datos de permeabilidad de ejemplos de realización representativos de este ensayo:

Tabla 3

| Ejemplo de realización | $P_{app}$ (B-A) [nm/s] |
|------------------------|------------------------|
| 7                      | 18                     |
| 8                      | 22                     |
| 11                     | 11                     |
| 12                     | 15                     |
| 13                     | 10                     |
| 14                     | 3                      |
| 17                     | 2                      |
| 18                     | 2                      |
| 19                     | 2                      |



|    |   |
|----|---|
| 23 | 2 |
|----|---|

En comparación con ello, en esta prueba, la monometilauristatina E (MMAE) y la monometilauristatina F (MMAF) presentan en este ensayo un valor de  $P_{app}$  (B-A) de 89 nm/s, respectivamente 73 nm/s.

#### 5 B-6. Determinación de las propiedades de sustrato para la glucoproteína P (P-gp):

Muchas células tumorales expresan proteínas de transporte para principios activos, lo que a menudo va asociado a un desarrollo de resistencia frente a sustancias citostáticas. Las sustancias que no son sustratos de tales proteínas de transporte como, por ejemplo, la glucoproteína P (P-gp) o BCRP, podrían presentar por lo tanto un perfil de actividad mejorado.

Se determinaron las propiedades de sustrato de una sustancia para P-gp (ABCB1) mediante un ensayo de flujo utilizando células LLC-PK1, que sobreexpresan P-gp (células L-MDR1) [A.H. Schinkel *et al.*, J. Clin. Invest. 96, 1698-1705 (1995)]. Para ello, se cultivaron las células LLC-PK1 ó L-MDR1 en placas de filtro de 96 pocillos durante 3-4 días. Para la determinación de la permeación, se añadió la respectiva sustancia de prueba, sola o en presencia de un inhibidor (como, por ejemplo, ivermectina o verapamilo), en un tampón HEPES, o bien de manera apical (A) o bien de manera basal (B) a las células y se incubó durante 2 h. Después de 0 h y después de 2 h se extrajeron muestras de los compartimentos cis y trans. Las muestras se separaron mediante HPLC utilizando columnas de fase inversa. El sistema de HPLC estaba acoplado a través de una interfaz de pulverización iónica Turbo a un espectrómetro de masas API 3000 de cuadrupolo triple (Applied Biosystems Applera, Darmstadt, Alemania). Se evaluó la permeabilidad con ayuda de un valor de  $P_{app}$ , que se calculó mediante la fórmula publicada por Schwab *et al.* [D. Schwab *et al.*, J. Med. Chem. 46, 1716-1725 (2003)]. Se clasificó una sustancia como sustrato de P-gp cuando la relación de flujo de salida de  $P_{app}$  (B-A) con respecto a  $P_{app}$  (A-B) era  $> 2$ .

Como criterios adicionales para la evaluación de las propiedades de sustrato de P-gp pueden compararse entre sí las relaciones de flujo de salida en células L-MDR1 y LLC-PK1 o la relación de flujo de salida en presencia o ausencia de un inhibidor. Cuando estos valores se diferencian en más de un factor 2, entonces la sustancia en cuestión se trata de un sustrato P-gp.

#### 30 C. Ejemplos de realización de composiciones farmacéuticas

Los compuestos según la invención pueden transformarse en preparaciones farmacéuticas de la siguiente manera:

##### 35 Comprimido:

##### Composición:

100 mg del compuesto según la invención, 50 mg de lactosa (monohidratada), 50 mg de almidón de maíz (nativo), 10 mg de polivinilpirrolidona (PVP 25) (empresa BASF, Ludwigshafen, Alemania) y 2 mg de estearato de magnesio.

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

##### Preparación:

Se granula la mezcla del compuesto según la invención, lactosa y almidón con una disolución al 5% (m/m) de PVP en agua. Después del secado, se mezcla el granulado con el estearato de magnesio durante 5 minutos. Se comprime esta mezcla con una prensa para comprimidos habitual (véase arriba el formato del comprimido). Como valor de referencia para la compresión se utiliza una fuerza de presión de 15 kN.

##### 50 Suspensión de administración oral:

##### Composición:

1000 mg del compuesto según la invención, 1000 mg de etanol (96%), 400 mg de Rhodigel® (goma xantana de la empresa FMC Pennsylvania, EE.UU.) y 99 g de agua.

Una dosis individual de 100 mg del compuesto según la invención corresponde a 10 ml de suspensión oral.

##### Preparación:

Se suspende Rhodigel en etanol, se añade el compuesto según la invención a la suspensión. La adición del agua tiene lugar bajo agitación. Hasta la finalización del hinchamiento del Rhodigel se agita aproximadamente 6 h.

##### Disolución de administración oral:

Composición:

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

5

Preparación:

El compuesto según la invención se suspende bajo agitación en la mezcla de polietilenglicol y polisorbato. La operación de agitación continúa hasta la disolución total del compuesto según la invención.

10

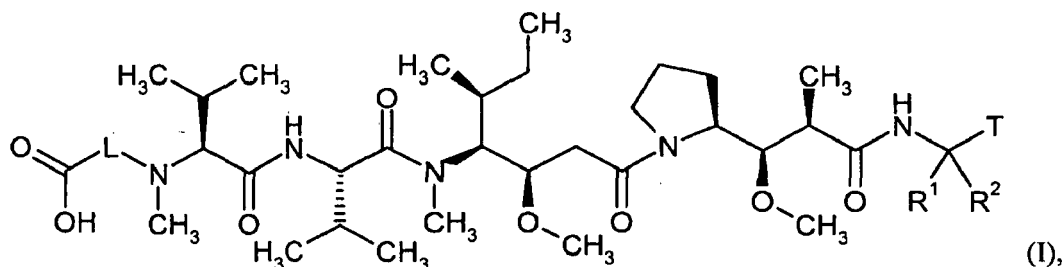
Disolución i.v.:

El compuesto según la invención se disuelve en una concentración inferior a la solubilidad de saturación en un disolvente fisiológicamente tolerable (por ejemplo, disolución isotónica de cloruro de sodio, disolución de glucosa al 5% y/o disolución de PEG 400 al 30%). La disolución se esteriliza por filtración y se envasa en recipientes para inyección estériles y libres de pirógenos.

15

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



en la que

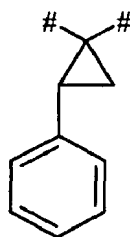
L representa alcanodiilo ( $C_1-C_{12}$ ) de cadena lineal, que puede estar sustituido hasta cuatro veces con metilo y en el que (a) dos átomos de carbono pueden estar unidos en puente en una relación 1,2, 1,3 ó 1,4 entre sí incluyendo los átomos de carbono que se encuentran dado el caso entre los mismos formando un anillo de cicloalquilo ( $C_3-C_6$ ) o un anillo de fenilo o (b) hasta tres grupos  $CH_2$  no adyacentes entre sí pueden estar intercambiados por  $-O-$ ,

$R^1$  representa hidrógeno o metilo,

$R^2$  representa isopropilo, isobutilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, 1-hidroxietilo, fenilo, bencilo, 4-hidroxibencilo, 1-feniletilo, difenilmetilo, 1*H*-imidazol-4-ilmetilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

$R^1$  y  $R^2$  junto con el átomo de carbono, al que están ambos unidos, forman un grupo 2-fenilciclopropano-1,1-diilo de fórmula



, en la que

# indica los puntos de unión con las partes restantes de la molécula,

y

T representa un grupo de fórmula  $-C(=O)-OR^3$ ,  $-C(=O)-NR^4R^5$ ,  $-C(=O)-NH-NH-R^6$  o  $-CH_2-O-R^7$ , en las que

$R^3$  significa hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_6$ ) o cicloalquilo ( $C_3-C_{10}$ ),

pudiendo el alquilo ( $C_1-C_6$ ) estar sustituido con fenilo, naftilo o cicloalquilo ( $C_3-C_{10}$ ),

$R^4$  significa hidrógeno o alquilo ( $C_1-C_6$ ),

$R^5$  significa hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_6$ ) o cicloalquilo ( $C_3-C_{10}$ ),

pudiendo el alquilo ( $C_1-C_6$ ) estar sustituido con fenilo,

o

$R^4$  y  $R^5$  están unidos entre sí y junto con el átomo de nitrógeno, al que están unidos, forman un aza-heterociclo saturado, de 5 a 7 miembros, que puede contener un heteroátomo de anillo adicional de la serie  $>N-H$ ,  $>N-CH_3$  o  $-O-$ , que se encuentra en una posición 1,3 o

dado el caso 1,4 en relación con el átomo de nitrógeno mencionado en primer lugar,

$R^6$  significa alquilo ( $C_1-C_6$ ), alquilcarbonilo ( $C_1-C_6$ ), fenilo o benzoílo,

y

$R^7$  significa alquilo ( $C_1-C_6$ ), que puede estar sustituido con fenilo,

pudiendo el fenilo estar a su vez sustituido con alcóxicarbonilo ( $C_1-C_6$ ) o carboxilo,

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

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

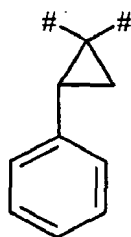
L representa alcanodiilo ( $C_1-C_8$ ) de cadena lineal, en el que (a) dos átomos de carbono pueden estar unidos en puente en una relación 1,3 ó 1,4 entre sí incluyendo el o los dos átomos de carbono que se encuentran entre los mismos formando un anillo de fenilo o (b) hasta dos grupos  $CH_2$  no adyacentes entre sí pueden estar intercambiados por -O-,

$R^1$  representa hidrógeno,

$R^2$  representa bencilo, 4-hidroxibencilo, 1-feniletilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

$R^1$  y  $R^2$  junto con el átomo de carbono, al que están ambos unidos, forman un grupo 2-fenilciclopropano-1,1-diilo de fórmula



, en la que

# indica los puntos de unión con las partes restantes de la molécula,

y

T representa un grupo de fórmula  $-C(=O)-OR^3$ ,  $-C(=O)-NR^4R^5$ ,  $-C(=O)-NH-NH-R^6$  o  $-CH_2-O-R^7$ , en las que

$R^3$  significa hidrógeno o alquilo ( $C_1-C_4$ ), que puede estar sustituido con fenilo, naftilo o cicloalquilo ( $C_3-C_{10}$ ),

$R^4$  significa hidrógeno o metilo,

$R^5$  significa hidrógeno o alquilo ( $C_1-C_4$ ), que puede estar sustituido con fenilo,

o

$R^4$  y  $R^5$  están unidos entre sí y junto con el átomo de nitrógeno, al que están unidos, forman un anillo de piperidina o de morfolino,

$R^6$  significa alquilcarbonilo ( $C_1-C_4$ ) o benzoílo,

y

$R^7$  significa alquilo ( $C_1-C_4$ ) o bencilo, que puede estar sustituido en el grupo fenilo con alcoxi ( $C_1-C_4$ )-carbonilo o carboxilo,

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

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

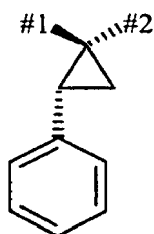
L representa alcanodiilo ( $C_1-C_6$ ) de cadena lineal,

$R^1$  representa hidrógeno,

$R^2$  representa bencilo, 1-feniletilo o 1*H*-indol-3-ilmetilo,

o

$R^1$  y  $R^2$  junto con el átomo de carbono, al que están ambos unidos, forman un grupo (1*S*,2*R*)-2-fenilciclopropano-1,1-diilo de fórmula



, en la que

#1 indica el punto de unión con el átomo de nitrógeno adyacente

y

#2 indica el punto de unión con el grupo T,

y

T representa un grupo de fórmula  $-C(=O)-OR^3$ ,  $-C(=O)-NR^4R^5$ ,  $-C(=O)-NH-NH-R^6$  o  $-CH_2-O-R^7$ , en las que

$R^3$  significa hidrógeno, metilo, etilo, *n*-propilo, bencilo o adamantilmetilo,

$R^4$  significa hidrógeno o metilo,

$R^5$  significa hidrógeno, metilo, etilo, *n*-propilo o bencilo,

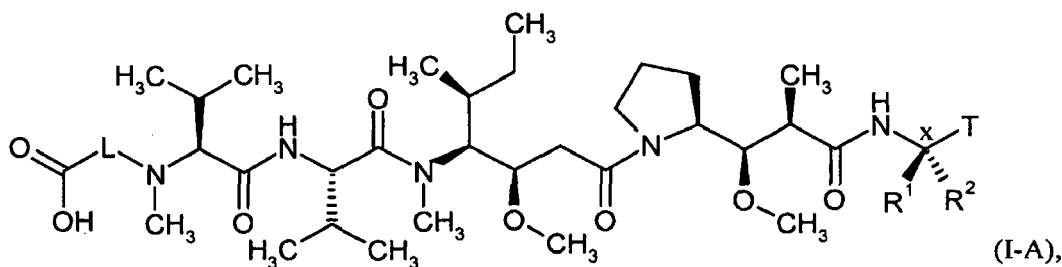
$R^6$  significa benzoilo,

y

$R^7$  significa bencilo, que puede estar sustituido en el grupo fenilo con metoxycarbonilo o carboxilo,

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

4. Compuesto según reivindicación 1, 2 ó 3 de fórmula (I-A)

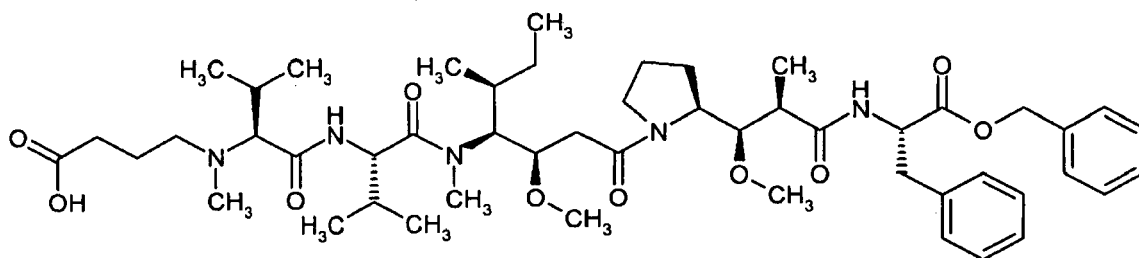
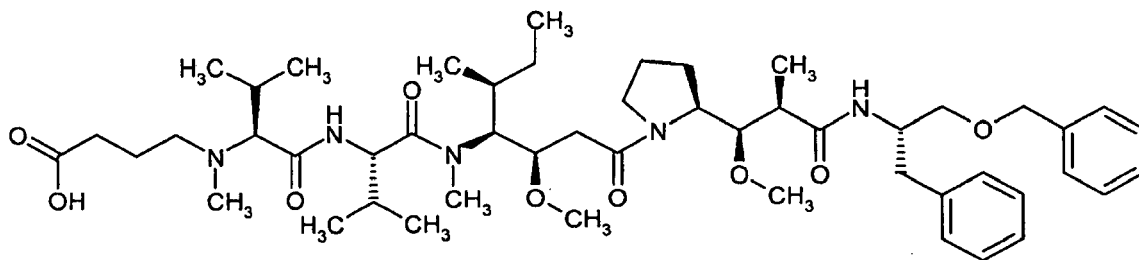
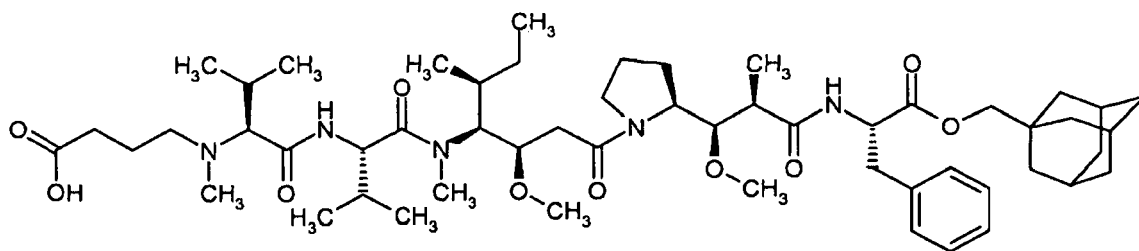
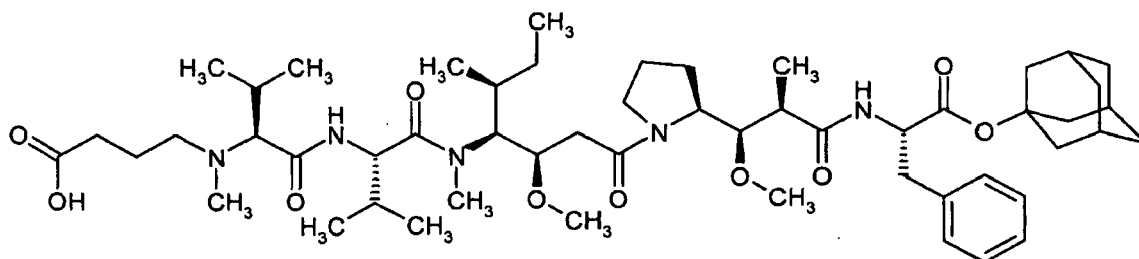
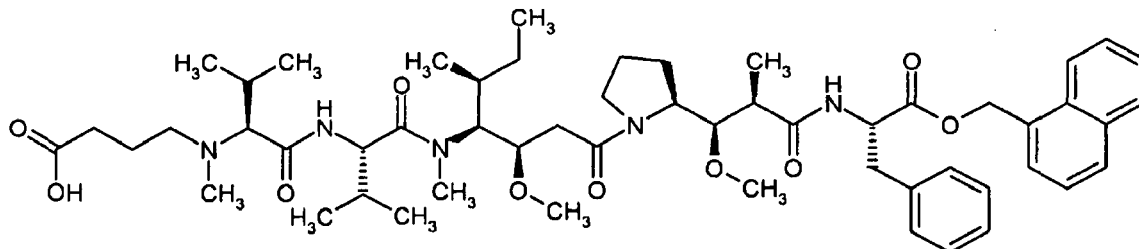


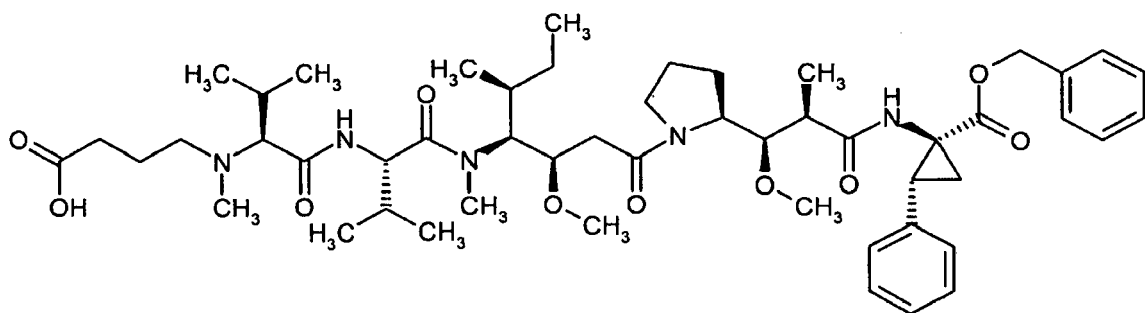
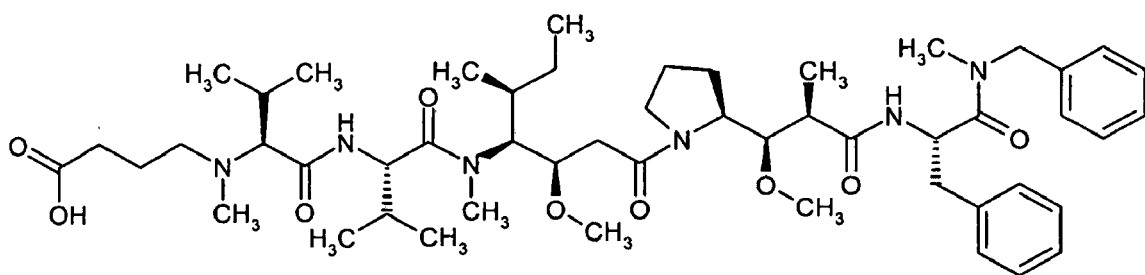
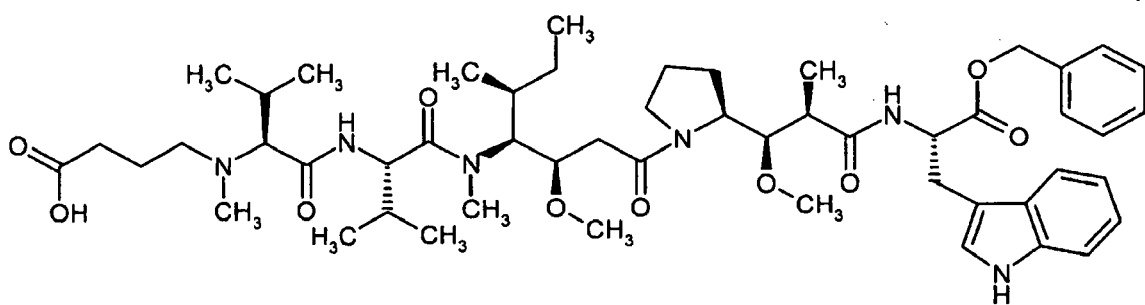
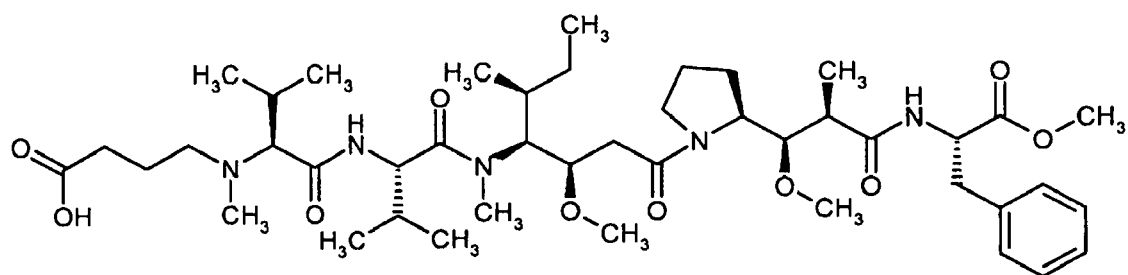
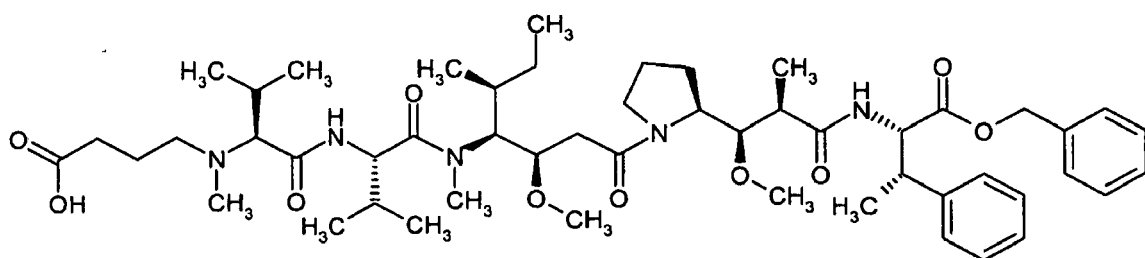
(I-A),

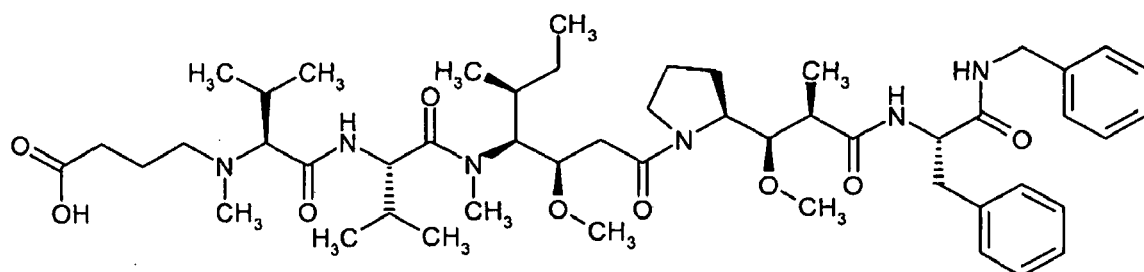
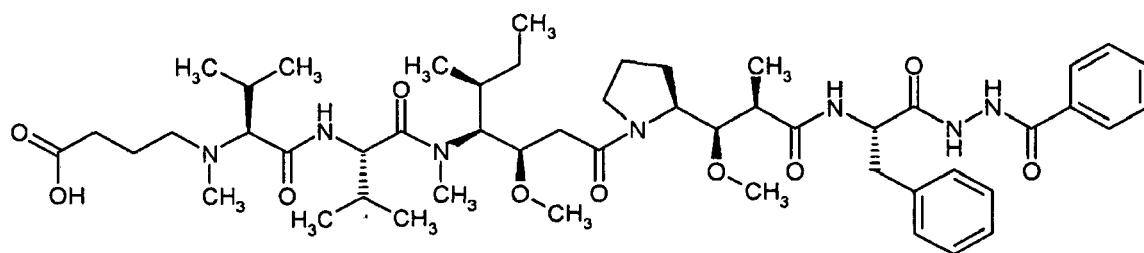
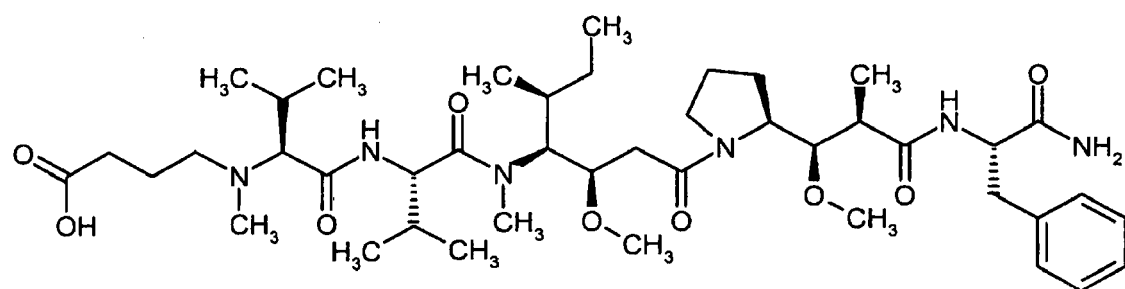
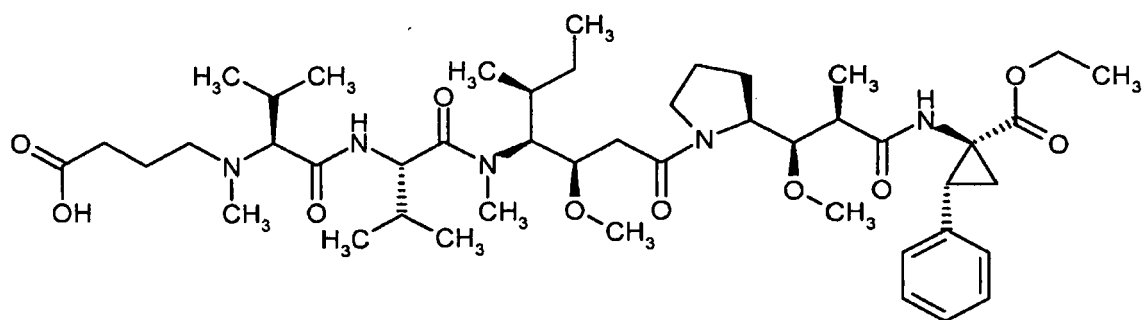
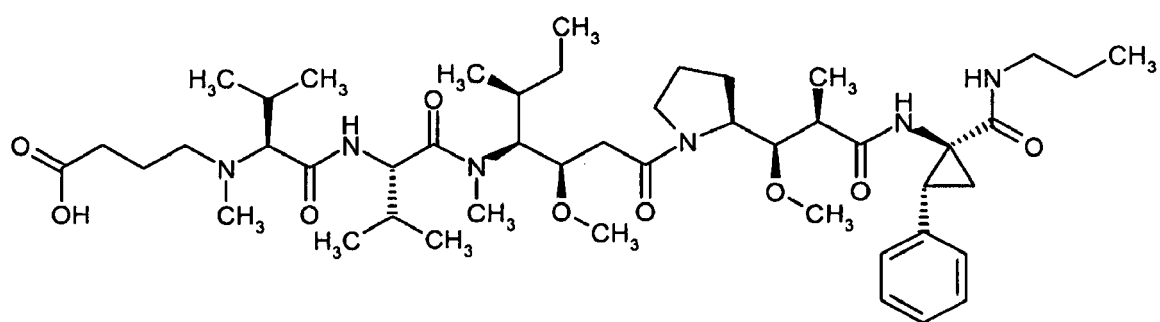
en la que L,  $R^1$ ,  $R^2$  y T tienen los significados definidos en la reivindicación 1, 2 ó 3 y el átomo de carbono de  $C^X$  que porta los restos  $R^1$  y  $R^2$  presenta la configuración absoluta ilustrada,

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

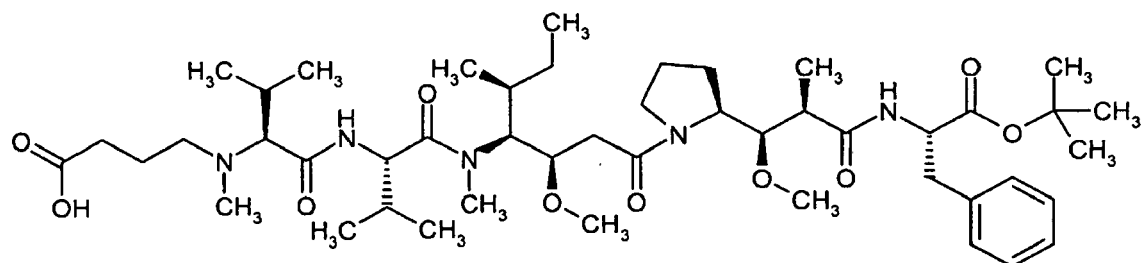
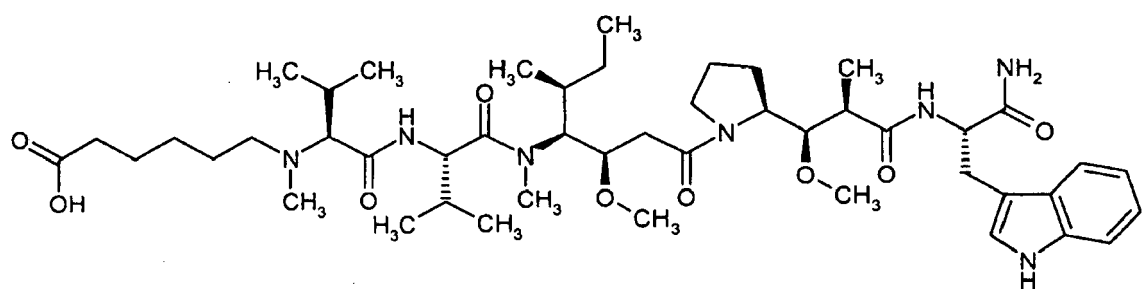
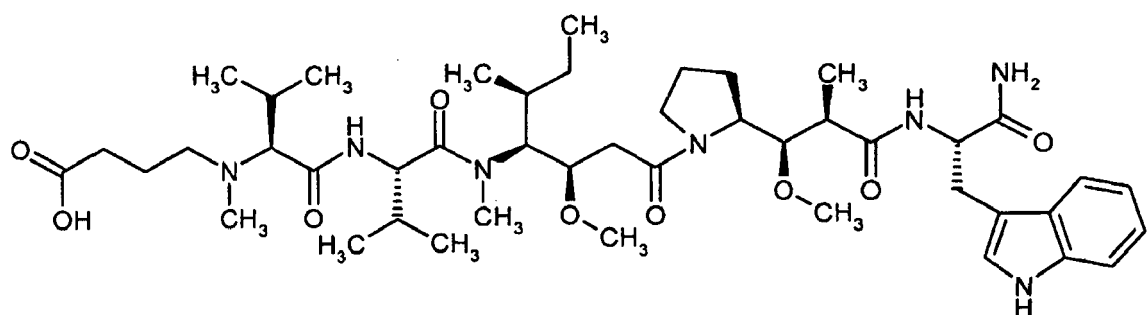
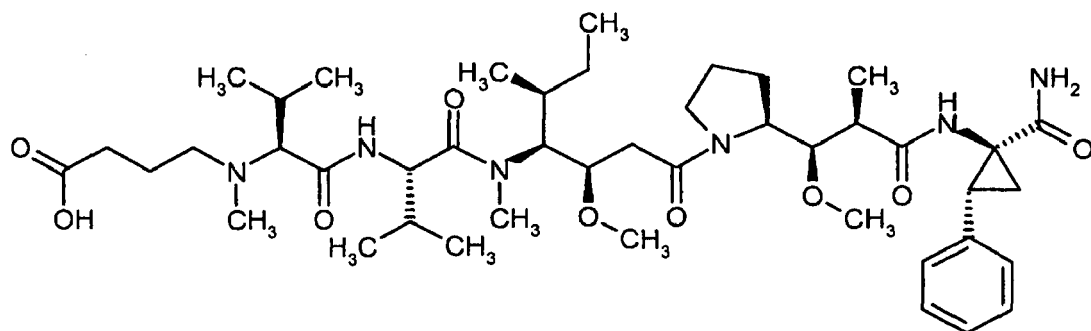
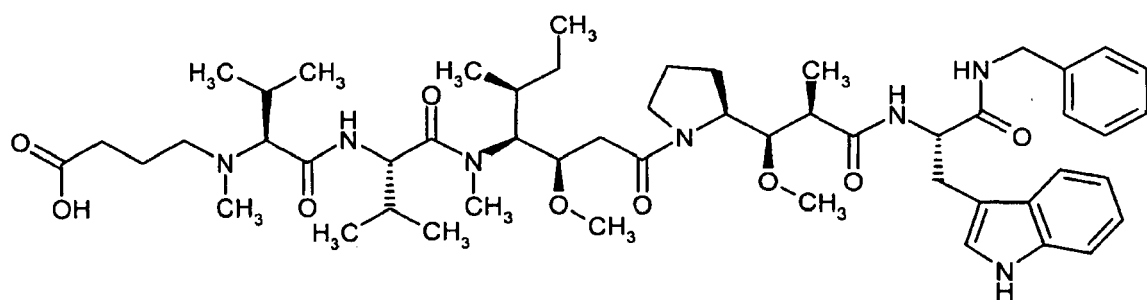
5. Compuesto según la reivindicación 1, en el que este compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

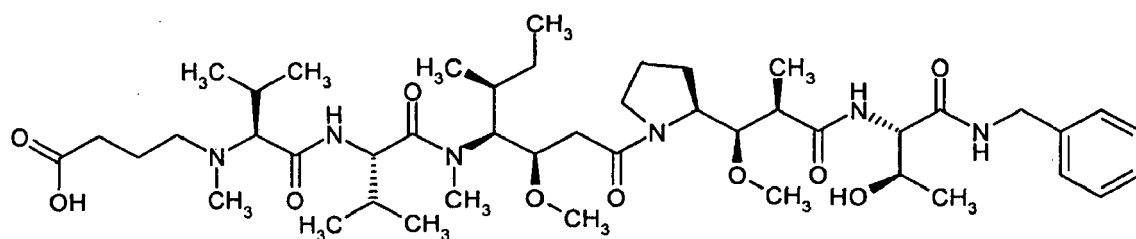
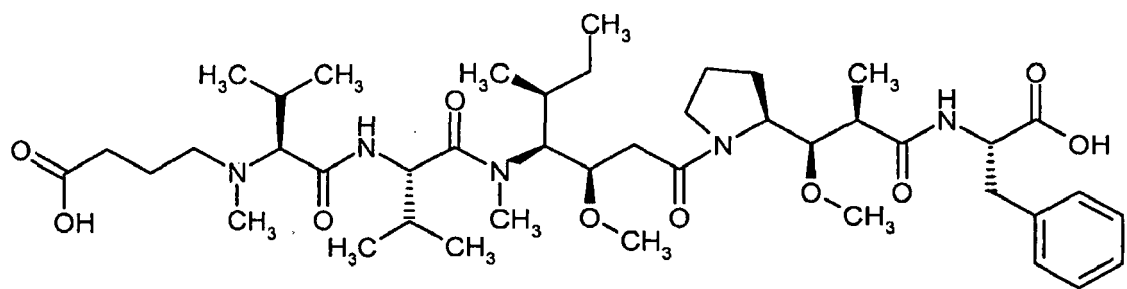
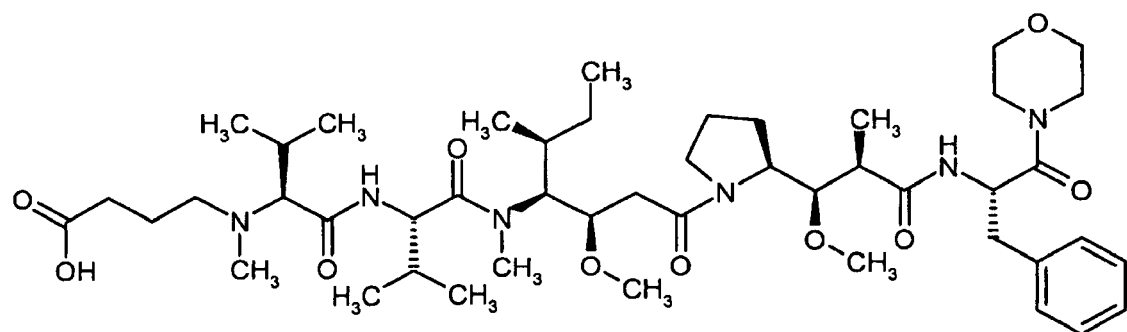
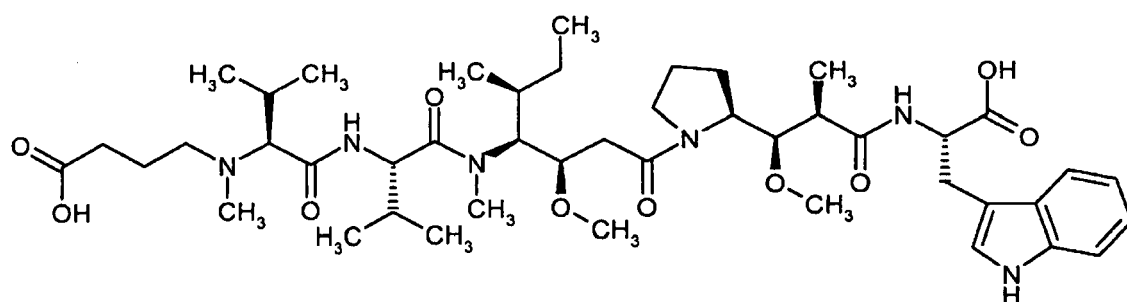
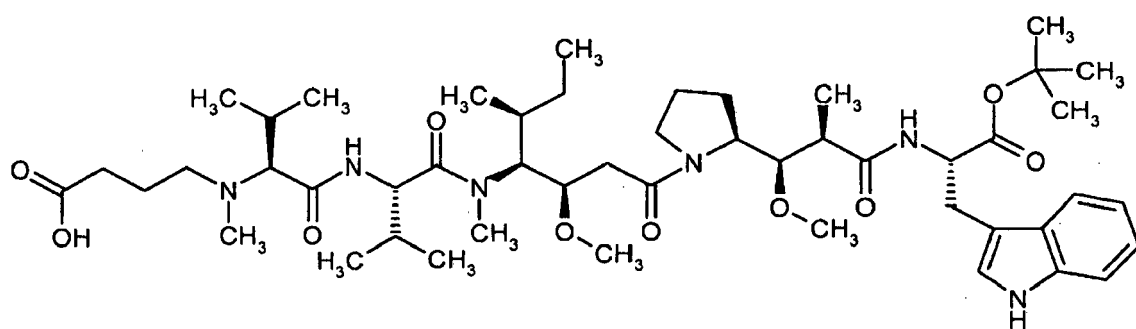


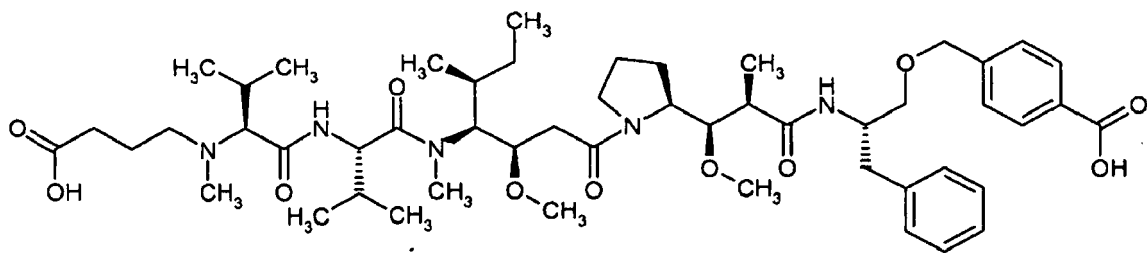
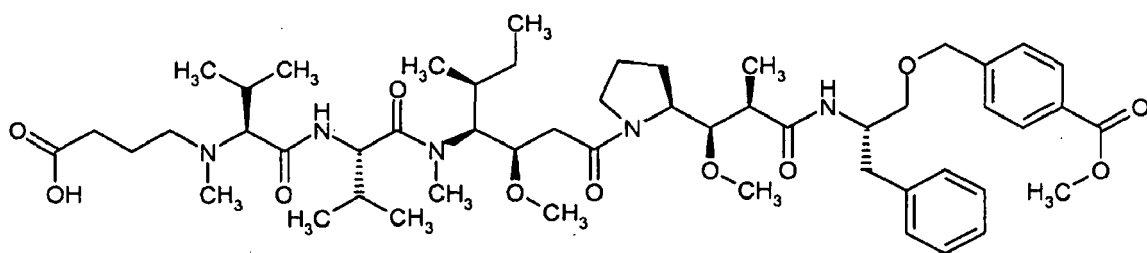




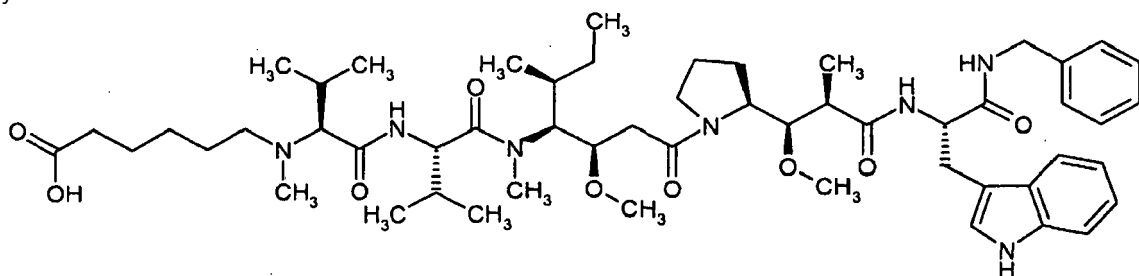








y

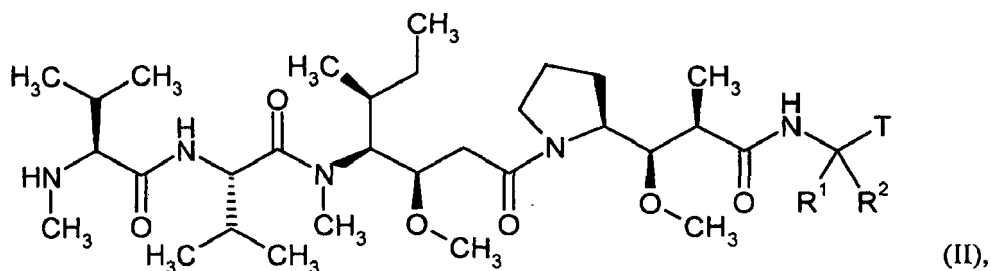


5

y sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

6. Procedimiento para la producción de un compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque se hace reaccionar un compuesto de fórmula (II)

10

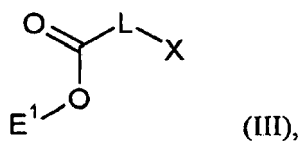


en la que  $R^1$ ,  $R^2$  y T tienen los significados indicados en las reivindicaciones 1 a 4,

15

en un disolvente inerte o bien

[A] mediante alquilación inducida por bases con un compuesto de fórmula (III)



20

en la que L tiene el significado indicado en las reivindicaciones 1 a 4,

$E^1$  representa hidrógeno, alquilo ( $C_1$ - $C_4$ ) o bencilo,

X representa un grupo saliente como por ejemplo cloruro, bromuro, yoduro, mesilato, triflato o tosilato.

[illegible]

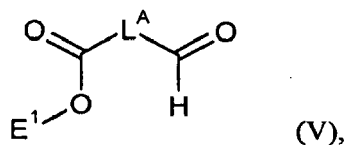
y a continuación, en el caso de que E<sup>1</sup> represente alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o bencilo, se escinde este resto éster según métodos habituales, de modo que, al igual que en el caso de que E<sup>1</sup> en (III) represente hidrógeno, se obtiene el ácido carboxílico según la invención de fórmula (I)

C[C@H](C)[C@@H](NC(=O)N(C)[C@H](C)[C@@H](OC)CC(=O)N1CCCC1[C@H](OC)[C@H](C)C(=O)NC(C)(R1)R2)C(=O)N(C)[C@H](C)[C@@H](C)C(=O)O

(I).

O

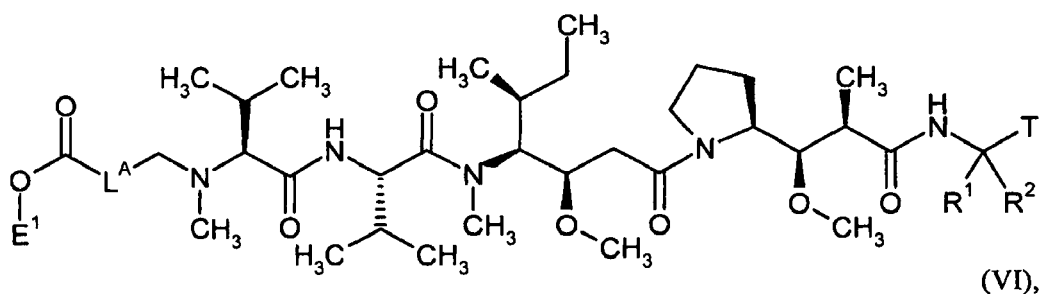
[B] mediante la reacción con un compuesto de fórmula (V)



E<sup>1</sup> representa hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o bencilo,

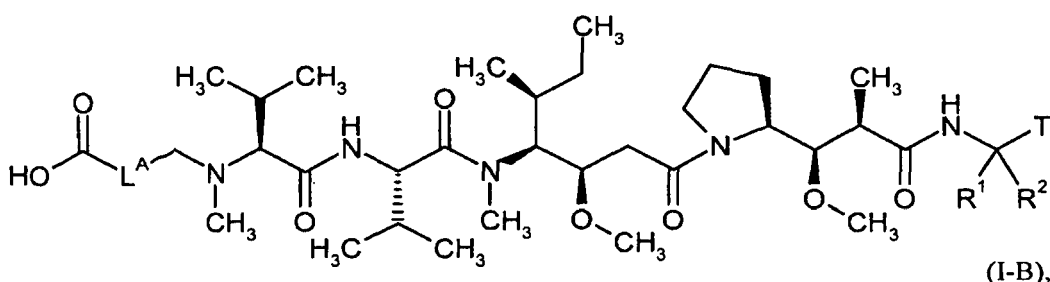
L<sup>A</sup> tiene el significado de L definido en las reivindicaciones 1 a 4, pero está acortado una unidad CH<sub>2</sub> en la longitud de cadena de alquilo,

se convierte en presencia de un agente reductor adecuado en un compuesto de fórmula (VI)



en la que  $E^1$ ,  $L^A$ ,  $R^1$ ,  $R^2$  y  $T$  tienen los significados indicados anteriormente,

- 5 y a continuación, en el caso de que  $E^1$  represente alquilo ( $C_1$ - $C_4$ ) o bencilo, se escinde este resto éster según métodos habituales, de modo que, al igual que en el caso de que  $E^1$  en (V) represente hidrógeno, se obtiene el ácido carboxílico según la invención de fórmula (I-B)



10 en la que  $L^A$ ,  $R^1$ ,  $R^2$  y  $T$  tienen los significados indicados anteriormente,

y los compuestos resultantes de fórmula (I) o (I-B) se separan dado el caso en sus enantiómeros y/o diastereómeros y/o se hacen reaccionar con los (i) disolventes y/o (ii) bases o ácidos correspondientes para dar sus solvatos, sales y/o solvatos de las sales.

- 15
7. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades.
- 20 8. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cancerosas y tumorales.
9. Uso de un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 5, para la producción de un fármaco para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cancerosas y tumorales.
- 25 10. Fármaco que contiene un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 5, en combinación con uno o varios adyuvantes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados.
- 30 11. Fármaco que contiene un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 5, en combinación con uno o varios principios activos adicionales.
12. Fármaco según la reivindicación 10 u 11 para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cancerosas y tumorales.
- 35 13. Conjugado de acción antiproliferativa, en el que el compuesto según una o varias de las reivindicaciones 1-5 está unido a una proteína.
14. Conjugado de acción antiproliferativa según la reivindicación 13, en el que la proteína es un anticuerpo.
- 40 15. Conjugado de acción antiproliferativa según la reivindicación 14, en el que el compuesto según una o varias de las reivindicaciones 1-5 está unido al anticuerpo a través del grupo carboxialquilo N-terminal.