

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 364**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12	(2006.01)	A61K 31/427	(2006.01)
A61K 38/07	(2006.01)	A61K 31/4439	(2006.01)
A61K 38/40	(2006.01)		
C07D 417/12	(2006.01)		
C07D 417/14	(2006.01)		
C07D 207/08	(2006.01)		
C07K 5/02	(2006.01)		
A61P 35/00	(2006.01)		
A61K 31/401	(2006.01)		
A61K 31/4025	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.04.2014 PCT/EP2014/058427**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2014 WO14174064**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2014 E 14720946 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017 EP 2989088**

54 Título: **Derivados de dolastatina 10 y auristatinas**

30 Prioridad:

25.04.2013 FR 1353793

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

13.02.2018

73 Titular/es:

**PIERRE FABRE MÉDICAMENT (100.0%)
45, Place Abel Gance
92100 Boulogne-Billancourt, FR**

72 Inventor/es:

**PEREZ, MICHEL;
RILATT, IAN y
LAMOTHE, MARIE**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 654 364 T3

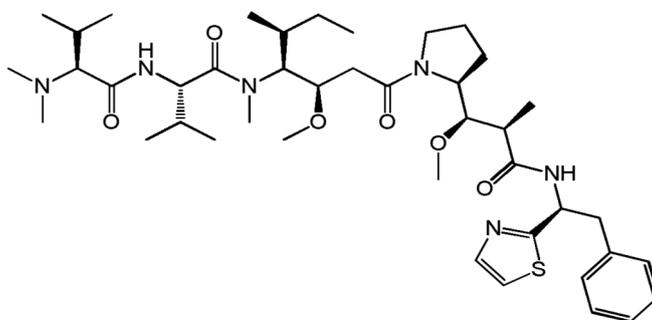
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar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

DESCRIPCIÓN

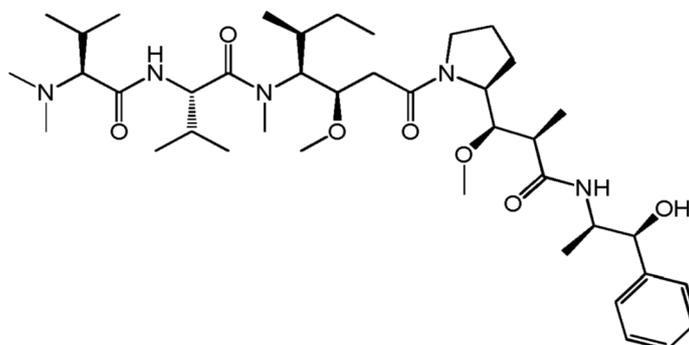
Derivados de dolastatina 10 y auristatinas.

- 5 El objeto de la presente invención se refiere a nuevos derivados de dolastatina 10 y auristatinas, a sus métodos de producción, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a la utilización de los mismos como especialidad farmacéutica, en particular en el tratamiento del cáncer.

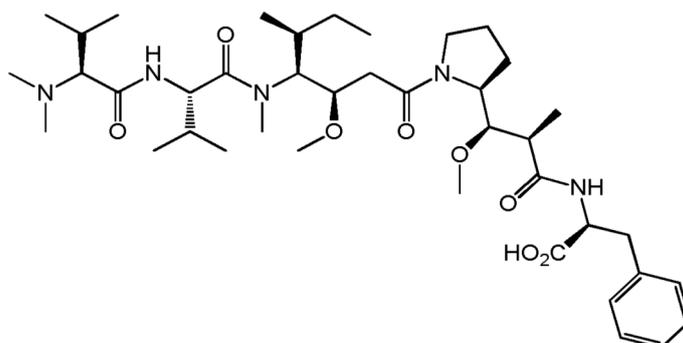
10 La dolastatina 10 (D10) es un derivado peptídico citotóxico aislado de un molusco marino (*Dolabella auricularia*) cuya configuración absoluta se determinó y se confirmó posteriormente después de la síntesis total del producto (Pettit G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 6883; Pettit G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 7581; Pettit, G. R. *Heterocycles* 1989, 28, 553; Pettit, G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 5015; Pettit, G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 6692). La D10 está formada por 5 unidades llamadas dolavalina (Dov), valina (Val), dolaisoleucina (Dil), Dolaproína (Dap) y dolafenina (Doe). Un cierto número de análogos de este compuesto han sido sintetizados mediante la modificación de la naturaleza de sus aminoácidos componentes (Pettit G. R. *J. Med. Chem.* 1990, 33, 3133; Miyazaki K. *Peptide Chemistry* 1993, 31, 85; Miyazaki K. *Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43, 1706). Las modificaciones de la parte C-terminal (extremo derecho) también se han realizado y han dado lugar a numerosos derivados, que incluyen auristatina E o F (Pettit G. R. *Anticancer Drug Design*, 1998, 13, 243; Pettit G. R. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1998, 2961).



Dolastatina 10



Auristatina E



Auristatina F

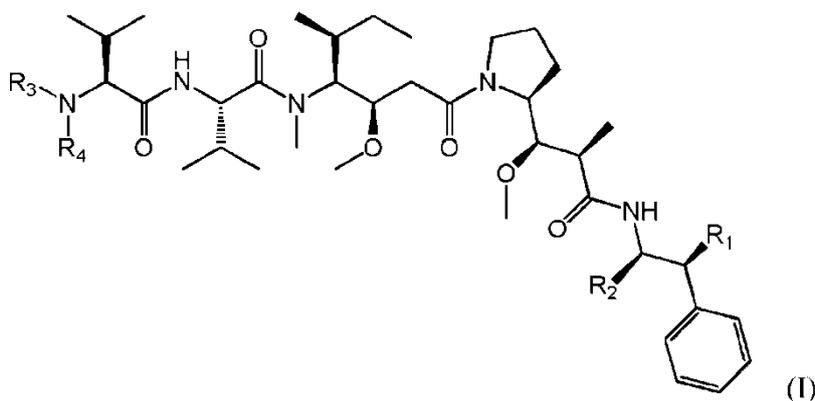
- 30 La presente invención se ha centrado en la modificación de la parte N-terminal (extremo izquierdo) de los derivados de dolastatina 10 y auristatinas E y F. Los pocos ejemplos publicados en la literatura sobre las

modificaciones realizadas en esta posición han dado lugar a pérdidas de la actividad (Miyazaki K. *Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43, 1706) o son menos activas que los compuestos de la presente invención (ver los documentos WO 2012/041805 y WO 2012/123423 que divulgan unos derivados con un sustituyente carboxilo en lugar de un sustituyente hidroxilo o amino como en la presente invención). Los compuestos descritos en la presente

5 invención difieren de la técnica anterior a través de sus estructuras químicas originales y también a través de su propiedad biológica notable que es totalmente inesperada, considerando los elementos publicados en la literatura. Estas actividades notables resultan en la elaboración de estos compuestos adecuados para la utilización en el tratamiento del cáncer.

10 Además, estos compuestos tienen la ventaja de ser tanto activos como agentes citotóxicos y más solubles que los compuestos parentales.

Por lo tanto, el objeto de la presente invención es un compuesto de la siguiente fórmula (I):



en la que:

- 20 - R₁ = OH y R₂ = metilo, o
 - R₁ = H y R₂ = COOH, COOMe o tiazol-2-ilo,
 - 25 - R₃ es un grupo alquilo (C₁-C₆), y
 - R₄ es un grupo aril-alquilo (C₁-C₂) sustituido por un grupo (preferentemente en la parte arilo) seleccionado de entre grupos OH y NR₉R₁₀ con R₉ y R₁₀ cada uno independientemente entre sí representando H o un grupo alquilo (C₁-C₆) (tal como metilo), en el que el grupo aril-alquilo (C₁-C₂) es un grupo fenil-alquilo (C₁-C₂) unido al resto de la molécula mediante su fracción alquilo (C₁-C₂), o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.
- 30

Los radicales R₂ a R₄, y en particular R₄, pueden ser grupos quirales y pueden estar en la forma de sus diferentes estereoisómeros y, opcionalmente, en la forma de una mezcla de estereoisómeros.

35 Por «estereoisómero», en el contexto de la presente invención, se hace referencia a un isómero geométrico o un isómero óptico.

Los isómeros geométricos son resultado de la diferente posición de los sustituyentes en un enlace doble que, por lo tanto, puede presentar una configuración Z o E.

40 Los isómeros ópticos son resultado, en particular, de la diferente posición en el espacio de los sustituyentes en un átomo de carbono que comprende 4 sustituyentes diferentes. Este átomo de carbono forma entonces un centro quiral o asimétrico. Los isómeros ópticos comprenden diastereoisómeros y enantiómeros. Los isómeros ópticos que son imágenes en espejo, pero que no se pueden superponer son llamados «enantiómeros». Los isómeros ópticos que no son imágenes en espejo que se pueden superponer son llamados «diastereoisómeros».

Una mezcla que contiene cantidades iguales de dos formas enantioméricas individuales de quiralidad opuesta se denomina una «mezcla racémica».

50 En la presente invención por «farmacéuticamente aceptable» se hace referencia al que se puede utilizar en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente, segura, no tóxica y ni biológicamente ni de otro modo indeseable, y que es aceptable para uso veterinario así como para la utilización farmacéutica en

humanos.

5 Mediante «sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable» de un compuesto se hace referencia a una sal, hidrato o solvato que es farmacéuticamente aceptable, como se define en la presente memoria y que tiene la actividad farmacológica deseada del compuesto parental.

Las sales farmacéuticamente aceptables comprenden en particular:

10 (1) las sales de adición de un ácido farmacéuticamente aceptable formado por ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico y ácidos similares; o formadas con ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácido acético, trifluoroacético, propiónico, succínico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, maleico, glutámico, benzoico, salicílico, toluensulfónico, metansulfónico, esteárico, láctico y ácidos similares; y

15 (2) las sales de adición de una base farmacéuticamente aceptable formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto parenteral, se reemplaza ya sea por un ion metálico, por ejemplo, un ion de metal alcalino, un ion de metal alcalino-térreo o un ion de aluminio; o coordinado con una base orgánica farmacéuticamente aceptable tal como lisina, arginina y similares; o con una base inorgánica farmacéuticamente aceptable tal como hidróxido de sodio, potasa, hidróxido de calcio y similares.

20 Estas sales se pueden preparar a partir de los compuestos de la invención que contienen una función base o ácido, y los ácidos o bases correspondientes usando métodos químicos convencionales.

25 Los compuestos de fórmula (I) de la invención están preferentemente en forma de sal, y en particular, una sal de adición ácida farmacéuticamente aceptable.

30 Preferentemente, los compuestos de fórmula (I) según la presente invención están en la forma de una sal de adición ácida farmacéuticamente aceptable, posiblemente, siendo el ácido trifluoroacético, ácido acético o ácido clorhídrico por ejemplo, y en particular el ácido trifluoroacético.

Los solvatos comprenden los solvatos convencionales obtenidos en la última etapa de preparación de los compuestos de la invención debido a la presencia de disolvente, el disolvente posiblemente siendo etanol por ejemplo.

35 Mediante «alquilo» en la presente invención se hace referencia a una cadena de hidrocarburo, lineal o ramificada, saturada. Por ejemplo, se pueden mencionar los grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo o hexilo.

40 Mediante «alquilo (C_x-C_y)» en el contexto de la presente invención, se hace referencia a una cadena de alquilo tal como se ha definido anteriormente, que comprende de x a y átomos de carbono. Por lo tanto, un grupo alquilo de (C₁-C₆) es una cadena de alquilo que presenta de 1 a 6 átomos de carbono.

45 Mediante «arilo» en el contexto de la presente invención se hace referencia a un grupo hidrocarburo aromático que presenta preferentemente de 6 a 10 átomos de carbono y puede comprender uno o dos anillos fusionados. Por ejemplo, se puede mencionar un fenilo o un naftilo. Ventajosamente es un fenilo.

50 Mediante «aril-alquilo (C₁-C₂)» en el contexto de la presente invención se hace referencia a un grupo arilo tal como se ha definido anteriormente unido al resto de la molécula mediante un grupo alquilo tal como se ha definido anteriormente y que comprende 1 o 2 átomos de carbono. La fracción arilo es una fracción fenilo. El grupo alquilo (C₁-C₂) es ventajosamente un grupo bencilo o fenetilo.

Entre los compuestos de la invención, una clase particularmente apreciada de compuestos corresponde a los compuestos de fórmula (I) en la que R₁ es OH y R₂ representa un grupo metilo.

55 Otra clase particularmente apreciada de los compuestos corresponde a los compuestos de fórmula (I) en la que R₁ es hidrógeno y R₂ es un grupo tiazol-2-ilo.

Otra clase de compuestos particularmente apreciados corresponde a los compuestos de fórmula (I) en la que R₁ es hidrógeno y R₂ es COOMe.

60 Otra clase de compuestos particularmente apreciados corresponde a los compuestos de fórmula (I) en la que R₁ es hidrógeno y R₂ es un grupo COOH.

Por lo tanto los compuestos de la invención son ventajosamente compuestos de fórmula (I) en los que:

65 - R₁ = OH y R₂ = Me (metilo) o

- $R_1 = H$ y $R_2 = COOH, COOMe$ o tiazol-2-ilo.

Preferentemente, R_1 es H y R_2 es COOH o COOMe.

5 Según una primera forma de realización preferida, R_1 es H y R_2 es COOH.

Según una segunda forma de realización preferida, R_1 es H y R_2 es COOMe.

R_3 particularmente representa un grupo metilo.

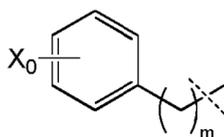
10 R_4 representa un grupo aril-alquilo (C_1-C_2) sustituido por un grupo seleccionado de entre OH y NR_9R_{10} , y siendo particularmente NR_9R_{10} .

15 R_4 representa ventajosamente un grupo aril-alquilo (C_1-C_2) sustituido por un grupo en la fracción arilo seleccionado de entre OH y NR_9R_{10} , y siendo particularmente NR_9R_{10} .

El grupo arilo es un grupo fenilo.

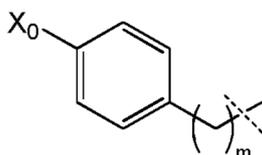
20 Por lo tanto R_4 representa un fenil-alquilo (C_1-C_2) sustituido por un grupo (preferentemente en la fracción fenilo) seleccionado de entre OH y NR_9R_{10} , y siendo particularmente NR_9R_{10} .

R_4 puede presentar entonces la siguiente fórmula:



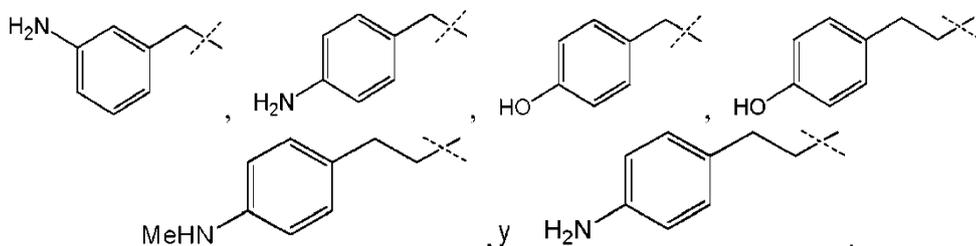
25 en la que X_0 representa OH o NR_9R_{10} , en particular, NR_9R_{10} , y m representa un número entero comprendido entre 1 o 2.

30 Según una forma de realización preferida, R_4 presenta la fórmula siguiente:



con X_0 y m como se ha definido previamente, y en particular con $X_0 = NR_9R_{10}$ y $m = 1$ o 2 .

35 R_4 puede ser en particular seleccionado de entre:



40 Ventajosamente, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de entre los compuestos 11-15, 19-20, 23-24, 27-29, 49-51 Y 61-64 descritos en los ejemplos a continuación.

45 Un objeto adicional de la presente invención es un compuesto formal (I) tal como se ha definido anteriormente para su utilización como especialidad farmacéutica, en particular para el tratamiento o la prevención del cáncer o trastornos proliferativos benignos.

La presente invención también se refiere a la utilización de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente para la producción de una especialidad farmacéutica, particularmente destinada al tratamiento o a

la prevención del cáncer o trastornos proliferativos benignos.

El cáncer que se debe tratar o prevenir es más particularmente el cáncer de pulmón, páncreas, piel, cabeza, cuello, útero, ovarios, ano, estómago, colon, mama, esófago, intestino delgado, glándula tiroideas, sistema linfático, próstata, riñón, o vejiga, o una leucemia aguda o crónica, o una combinación de dos o más de estos tipos de cáncer.

Por trastornos proliferativos benignos se entienden trastornos proliferativos que no pueden dar lugar a metástasis o que aún no han progresado hacia un cáncer (tumores precancerosos).

Un objeto adicional de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

El principio activo se puede administrar en formas de administración unitarias, en una mezcla con vehículos farmacéuticos convencionales, a los animales o a los seres humanos. Las formas de administración unitarias adecuadas comprenden las formas por vía oral, las formas para administración sublingual o bucal, las formas para administración por vía parenteral (subcutánea, intradérmica, intramuscular o intravenosa), las formas para administración tópica (sobre la piel y mucosa, incluyendo la administración intranasal e intraocular) y las formas de administración rectal.

Dichas composiciones pueden estar en la forma de un sólido, líquido, emulsión, loción o crema.

Como las composiciones sólidas, para administración oral, se pueden utilizar comprimidos, píldoras, polvos (cápsulas de gelatina dura o blanda) o gránulos. En estas composiciones, el principio activo de la invención se mezcla con uno o más diluyentes inertes, tales como almidón, celulosa, sacarosa, lactosa o sílice, en una corriente de argón. Estas composiciones también pueden comprender sustancias distintas de los diluyentes, por ejemplo uno o más lubricantes tales como estearato de magnesio o talco, un agente colorante, un revestimiento (grageas) o un barniz.

Como las composiciones líquidas para administración oral, se pueden utilizar soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes y elixires que son farmacéuticamente aceptables y contienen diluyentes inertes tales como agua, etanol, glicerol, aceites vegetales o aceite de parafina. Estas composiciones pueden comprender sustancias distintas a los diluyentes; por ejemplo productos humectantes, edulcorantes, espesantes, aromatizantes o estabilizantes.

Las composiciones estériles para administración parenteral pueden ser preferentemente soluciones acuosas o no acuosas, suspensiones o emulsiones. Como disolvente o vehículo, se puede utilizar agua, propilenglicol, un polietilenglicol, aceites vegetales, en particular aceite de oliva, ésteres orgánicos inyectables, por ejemplo, oleato de etilo u otros disolventes orgánicos adecuados. Estas composiciones también pueden contener adyuvantes, en particular agentes humectantes, isotónicos, emulsionantes, dispersantes y agentes estabilizantes. La esterilización se puede realizar de varias maneras, por ejemplo mediante la filtración para esterilizar, mediante la incorporación de agentes esterilizantes dentro de la composición, mediante la radiación o calentamiento. También se pueden preparar en la forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en el momento de la utilización en agua estéril o en cualquier otro medio estéril inyectable.

Las composiciones para administración rectal son los supositorios o las cápsulas rectales que, además del principio activo, contienen excipientes tales como manteca de cacao, glicéridos semisintéticos o polietilenglicoles.

Las composiciones para administración tópica pueden ser, por ejemplo, cremas, lociones, colirios, colutorios, gotas nasales o aerosoles.

Las dosis dependen del efecto deseado, de la duración del tratamiento y de la vía de administración utilizada. En general, el médico determinará la dosis adecuada en relación con la edad, el peso y todos los demás factores propios del sujeto que debe ser tratado.

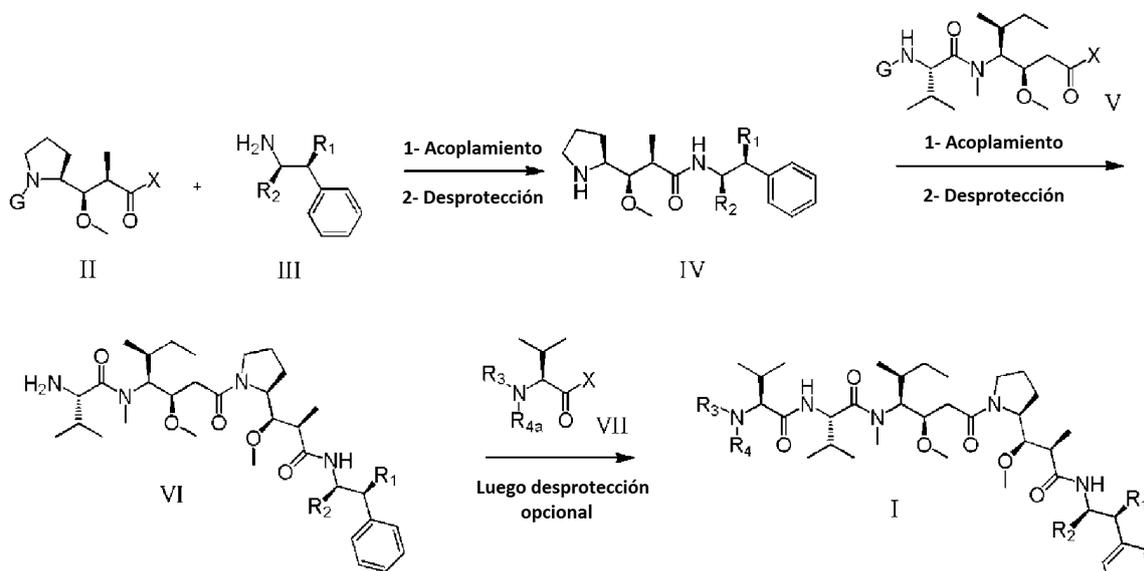
Otro principio activo puede estar contenido en las composiciones farmacéuticas según la presente invención. En particular, puede ser un agente anticanceroso, y en particular un agente anticanceroso citotóxico tal como navelbina, vinflunina, taxol, taxotere, 5-fluorouracilo, metotrexato, doxorubicina, camptotecina, gemcitabina, etopósido, cis-platino o carmustina (también llamada BCNU); o un agente anticanceroso hormonal tal como tamoxifeno o medroxiprogesterona.

El tratamiento con radiación (rayos X o rayos gamma) también se puede asociar con la administración de un compuesto de la presente invención. Dicha radiación se puede administrar utilizando una fuente externa o mediante la implantación de fuentes radiactivas internas por minuto.

La presente invención también se refiere a la preparación de los compuestos de fórmula (I) según la invención

utilizando los métodos generales descritos en los siguientes esquemas de síntesis, opcionalmente suplementados por cualquier operación estándar cuando sea necesario como se describe en la bibliografía o como es bien conocido por los expertos en la materia, o como se describe en los ejemplos en la parte experimental de la presente memoria.

5



Esquema 1

El esquema 1 ilustra el primer método general que se puede utilizar para preparar los compuestos de fórmula (I). En las fórmulas generales anteriores, R_1 , R_2 , y R_3 son tal como se ha definido anteriormente, R_{4a} representa un grupo R_4 tal como se ha definido anteriormente, opcionalmente en forma protegida y G es un grupo protector.

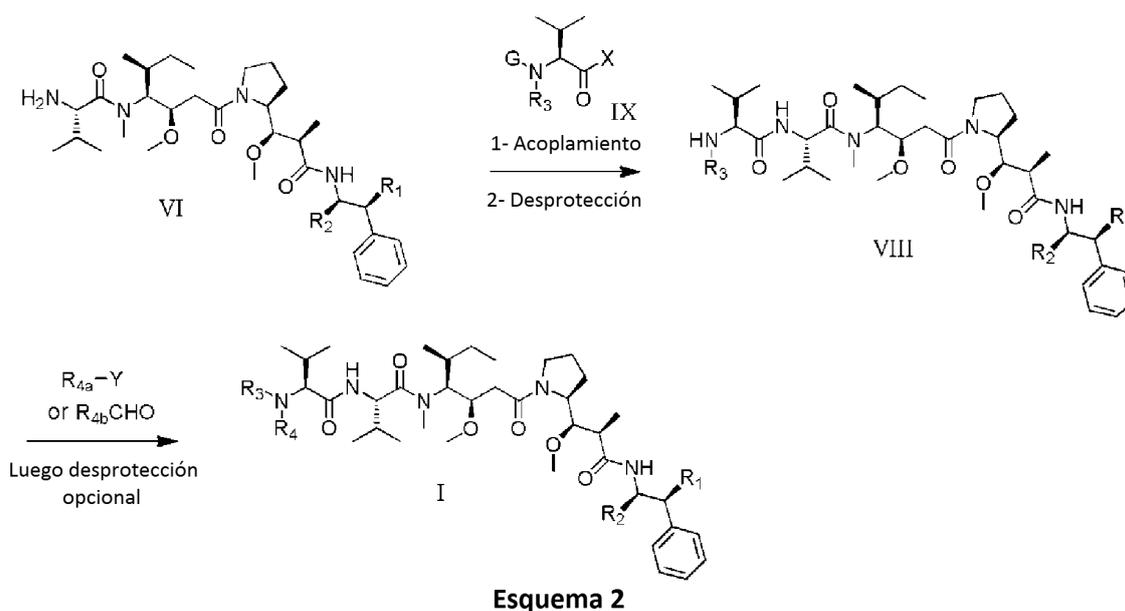
10

La primera etapa consiste en la condensación del compuesto (II), protegido en su función amina por un grupo protector G, con el compuesto (III). X puede representar un grupo saliente tal como un átomo de cloro. En este caso, la primera etapa consiste en la reacción entre un cloruro ácido y una amina. Esta reacción puede llevarse a cabo usando métodos y técnicas bien conocidas por los expertos en la materia. En un método particularmente apreciado, las dos entidades se hacen reaccionar en la presencia de una base orgánica o inorgánica, por ejemplo Et_3N , $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, piridina, NaH, Cs_2CO_3 , K_2CO_3 en un disolvente tal como THF, diclorometano, DMF, DMSO, a una temperatura en particular entre -20°C y 100°C . X también puede ser un hidroxilo (OH). En este caso, la primera etapa es una reacción de condensación entre el ácido carboxílico (II) y la amina (III). Esta reacción se puede llevar a cabo siguiendo los métodos y técnicas bien conocidas por el experto en la materia en la materia. En un método particularmente apreciado, estas dos entidades se hacen reaccionar en presencia de un agente de acoplamiento tal como 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil-carbodiimida (EDC), 3-hidroxi-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona, una amina terciaria tal como diisopropiletilamina, en un disolvente aprótico polar tal como diclorometano o DMF, a una temperatura en particular entre -15°C y 40°C . En otro método particularmente apreciado, estas dos entidades se hacen reaccionar en presencia de fosforocianidato de dietilo (DEPC), una amina terciaria tal como trietilamina, en un disolvente aprótico polar tal como diclorometano o DMF, a una temperatura entre -15°C y 40°C . Otro método particularmente apreciado consiste en hacer que estas dos entidades reaccionen en presencia de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uroniumhexafluorofosfato (HATU), una amina terciaria tal como diisopropiletilamina, en un disolvente aprótico polar tal como diclorometano o DMF, a una temperatura de entre -15°C y 100°C .

30

Después de la desprotección del producto intermedio utilizando las técnicas bien conocidas por el experto en la materia («Protective Groups in Organic Synthesis», T.W. Greene, John Wiley & Sons, 2006 y «Protecting Groups», P.J. Kocienski, Thieme Verlag, 1994), el compuesto (IV) se puede condensar con el compuesto (V) siguiendo los métodos y técnicas descritos anteriormente para producir el compuesto (VI) después de una etapa de desprotección. Posteriormente, este compuesto puede, después de la condensación con el producto intermedio (VII) y la desprotección opcional, llevar a la formación de los compuestos de fórmula (I). El compuesto (VI) también se puede acoplar con un compuesto (VII) en el que R_3 es un precursor de R_3 , en particular un grupo R_3 protegido por un grupo protector. El acoplamiento seguido por la desprotección del grupo R_3 para conducir a R_3 puede llevarse a cabo siguiendo los mismos procedimientos como se describieron anteriormente.

40



Esquema 2

El esquema 2 ilustra el segundo método general que se puede utilizar para preparar los compuestos de fórmula (I). En las fórmulas generales anteriores R₁, R₂, y R₃ son tal como se definieron anteriormente, R_{4a} representa un grupo R₄ tal como se ha definido anteriormente, opcionalmente en forma protegida, R_{4b} es un precursor de un grupo R₄ y G es un grupo protector.

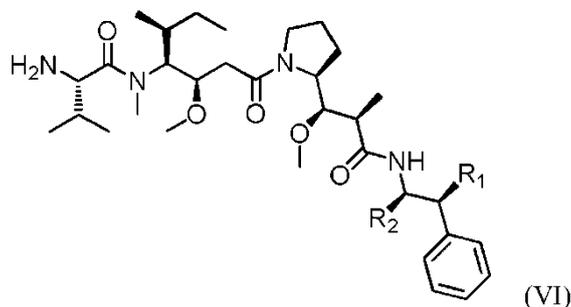
En la primera etapa, el compuesto (IX) protegido en su función amina por un grupo protector G se condensa con el compuesto (VI). X puede representar un grupo residual, por ejemplo, un átomo de cloro. En este caso, la primera etapa consiste en la reacción entre un cloruro ácido y una amina. Esta reacción se puede realizar utilizando métodos y técnicas bien conocidas por el experto en la materia. En un método particularmente apreciado las dos entidades se hacen reaccionar en presencia de una base orgánica o inorgánica tal como Et₃N, iPr₂NEt, piridina, NaH, Cs₂CO₃, K₂CO₃ en un disolvente tal como THF, diclorometano, DMF, DMSO a una temperatura en particular entre -20° y 100°C. X también puede representar un grupo hidroxilo. En este caso, la primera etapa es una reacción de condensación entre el ácido carboxílico (IX) y la amina (VI). Esta reacción puede llevarse a cabo siguiendo los métodos y técnicas bien conocidos por un experto en la materia. En un método particularmente apreciado, las dos entidades se hacen reaccionar en presencia de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil-carbodiimida (EDC), 3-hidroxi-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona, una amina terciaria tal como diisopropiletilamina, en un disolvente aprótico polar tal como diclorometano o DMF, a una temperatura en particular entre -15°C y 40°C. En otro método particularmente apreciado, estas dos entidades se hacen reaccionar en presencia de fosforocianidato de dietilo (DEPC), una amina terciaria tal como trietilamina, en un disolvente aprótico polar tal como diclorometano o DMF, a una temperatura en particular entre -15°C y 40°C.

Después de la desprotección del producto intermedio, usando técnicas bien conocidas por un experto en la materia, el compuesto obtenido (VIII) puede conducir a los compuestos de fórmula (I) después de la reacción con R₄Y. En este caso, Y es un grupo saliente tal como Cl, Br, I, OSO₂CH₃, OSO₂CF₃ u O-Tosilo. La reacción se lleva a cabo en presencia de una base orgánica o inorgánica tal como Et₃N, iPr₂NEt, NaH, Cs₂CO₃, K₂CO₃, en un disolvente anhidro polar tal como diclorometano, THF, DMF, DMSO a una temperatura en particular entre -20° y 100°C. En otro método particularmente apreciado, el compuesto (VIII) se hace reaccionar con un aldehído de fórmula R_{4b}-CHO en la que R_{4b} corresponde a un precursor de R₄. En este caso, la reacción es una aminación reductiva en presencia de un agente reductor tal como NaBH₄, NaBH₃CN, NaBH(OAc)₃, en un disolvente polar tal como 1,2-dicloroetano, diclorometano, THF, DMF, MeOH, en la presencia opcional de isopropóxido de titanio (IV), a un pH que puede ser controlado por la adición de un ácido tal como ácido acético a una temperatura en particular entre -20°C y 100°C.

En los esquemas de síntesis anteriores, un compuesto de fórmula (I) puede conducir a otro compuesto de fórmula (I) después de una etapa de reacción adicional, tal como saponificación por ejemplo, usando métodos bien conocidos por un experto en la materia mediante los cuales un grupo R₂ que representa un éster, preferentemente un éster de metilo, se cambia a un grupo R₂ que representa un ácido carboxílico.

Si se desea aislar un compuesto de fórmula (I) que contiene al menos una función base en el estado de una sal de adición ácida, esto es posible mediante el tratamiento de la base libre del compuesto de fórmula (I) (que contienen al menos una función base) con un ácido adecuado, preferentemente en cantidad equivalente. El ácido adecuado puede ser en particular ácido trifluoroacético.

Por tanto, un objeto adicional de la presente invención es un primer método para preparar un compuesto de fórmula (I), que comprende una reacción de condensación entre un compuesto de fórmula (VI):

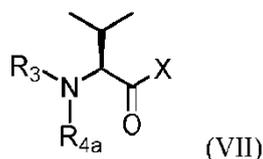


5

en el que R_1 y R_2 son tal como se ha definido anteriormente, y

un compuesto de la siguiente fórmula (VII):

10



en el que R_3 es tal como se ha definido anteriormente, R_{4a} corresponde a un grupo R_4 tal como se ha definido anteriormente, opcionalmente en forma protegida, y X es OH o Cl.

15

Cuando X = OH, la reacción de acoplamiento se puede realizar bajo condiciones de acoplamiento de péptidos bien conocidas por un experto en la materia.

20

Dicho acoplamiento del péptido puede llevarse a cabo en presencia de un agente de acoplamiento tal como diisopropilcarbodiimida (DIC), dicitclohexilcarbodiimida (DCC), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC), carbonildiimidazol (CDI), hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TBTU), hexafluorofosfato de O-(7-azobenzotriazol-1-ilo)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HATU), fosforocianidato de dietilo (DEPC) o hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-ilo) tripirrolodino fosfonio (PyBOP), opcionalmente asociado con un auxiliar de acoplamiento tal como N-hidroxi succinimida (NHS), N-hidroxi benzotriazol (HOBt), 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazol (HOObt), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HAT), N-hidroxisilfosuccinimida (sulfo NHS) o dimetilaminopiridina (DMAP). Preferentemente, el agente de acoplamiento es HATU o DEPC.

25

La reacción también se puede realizar en presencia de una base tal como DIEA (diisopropiletilamina).

30

En particular, el acoplamiento peptídico se realiza en presencia de HATU o DEPC y DIEA.

Dicha reacción se puede llevar a cabo en un disolvente aprótico polar tal como diclorometano (DCM) o dimetilformamida (DMF), en particular a una temperatura de entre -15°C y 40°C .

35

Cuando X = Cl, la reacción de condensación se llevará a cabo en presencia de una base que puede ser orgánica o inorgánica, tal como Et_3N , iPr_2NEt , piridina, NaH, Cs_2CO_3 o K_2CO_3 .

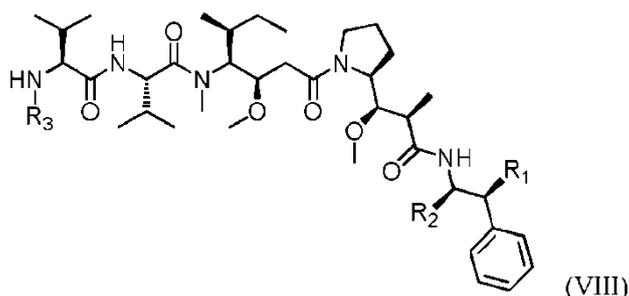
40

La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente tal como tetrahidrofurano (THF), diclorometano (DCM), dimetilformamida (DMF), o dimetilsulfóxido (DMSO), en particular a una temperatura de entre -20° y 100°C .

Los compuestos de fórmulas (VI) y (VII) se pueden preparar siguiendo los protocolos de síntesis descritos en la parte experimental a continuación o siguiendo las técnicas conocidas por un experto en la materia.

45

Un objeto adicional de la presente invención es un segundo método para preparar un compuesto de fórmula (I) que comprende una reacción de sustitución entre un compuesto de la siguiente fórmula (VIII):



en el que R_1 , R_2 y R_3 son como se ha definido anteriormente, y

5 un compuesto de la siguiente fórmula (X):



10 en el que R_{4a} es un grupo R_4 tal como se ha definido anteriormente, opcionalmente en forma protegida, e Y es un grupo saliente tal como Cl, Br, I, OSO_2CH_3 , OSO_2CF_3 u O-Tosilo.

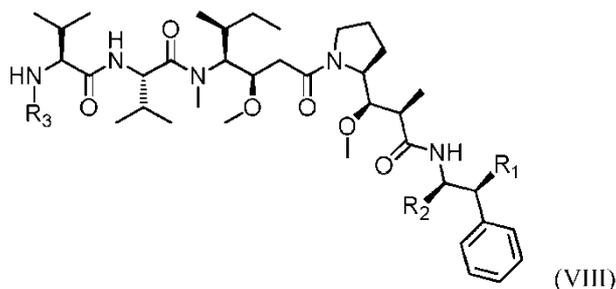
La reacción de sustitución se lleva a cabo en particular en presencia de una base que puede ser orgánica o inorgánica, tal como Et_3N , iPr_2NEt , NaH, Cs_2CO_3 , o K_2CO_3 .

15 Esta reacción puede llevarse a cabo en un disolvente polar, preferentemente anhidro, tal como DCM, THF, DMF o DMSO, en particular, a una temperatura de entre -20° y $100^\circ C$.

20 Los compuestos de fórmulas (VIII) y (X) se pueden preparar siguiendo los protocolos de síntesis descritos en la parte experimental a continuación o usando las técnicas conocidas por un experto en la materia.

Un objeto adicional de la presente invención es un tercer método para preparar un compuesto de fórmula (I) en la que R_4 es un grupo $-CH_2R_{4b}$ con R_{4b} representando un fenilo o un grupo fenil-alquilo (C_1) sustituido por un grupo (preferentemente en la fracción fenilo) seleccionado de entre unos grupos OH y NR_9R_{10} ,

25 que comprende una reacción de aminación reductiva entre un compuesto de la siguiente fórmula (VIII):



en el que R_1 , R_2 y R_3 son tal como se ha definido anteriormente, y

30 un compuesto de la siguiente fórmula (XI):



35 en el que R_{4b} es tal como se ha definido anteriormente.

La reacción de aminación reductiva se puede llevar a cabo en presencia de un agente reductor tal como $NaBH_4$, $NaBH_3CN$ o $NaBH(OAc)_3$ y opcionalmente isopropóxido de titanio (IV).

40 El pH se puede controlar mediante la adición de un ácido tal como ácido acético, en particular, para alcanzar un pH de entre 4 y 5.

Esta reacción puede llevarse a cabo en un disolvente polar tal como DCE (1,2-dicloroetano), DCM, THF, DMF o metanol, en particular, a una temperatura de entre -20° y $100^\circ C$.

45 Los compuestos de fórmulas (VIII) y (XI) se pueden preparar siguiendo los protocolos de síntesis descritos en la

parte experimental a continuación o utilizando las técnicas conocidas por un experto en la materia.

El compuesto obtenido después de la etapa de condensación/sustitución/aminación reductora de uno de los tres métodos anteriormente se puede someter a las etapas adicionales de desprotección, particularmente en relación con los sustituyentes R_2 y R_4 y las etapas de funcionalización opcionalmente adicionales utilizando los métodos bien conocidos por el experto en la materia.

Cuando R_2 representa un grupo COOH, la etapa de condensación/sustitución/aminación reductora anteriormente mencionada se puede realizar a partir de un compuesto de fórmula (VI) con un grupo R_2 que representa una función COO-éster (alquilo de (C_1-C_6)), a continuación esta función éster posiblemente se saponifica para producir un compuesto de fórmula (I) con $R_2 = COOH$.

Cuando el grupo R_4 comprende una función NH, ésta se puede proteger antes de realizar la reacción de condensación/sustitución/aminación reductiva mediante la sustitución del átomo de nitrógeno por un grupo N-protector tal como un grupo Boc o Fmoc.

Mediante «grupo protector» en la presente invención se hace referencia un grupo que bloquea selectivamente un sitio reactivo en un compuesto multifuncional, de tal manera que una reacción química selectivamente se puede llevar a cabo en otro sitio reactivo no protegido en el sentido convencionalmente asociado con éste en la síntesis química.

Mediante «grupo protector de N» en la presente invención se hace referencia a cualquier sustituyente que protege el grupo NH contra las reacciones indeseables tal como los grupos N-protectores descritos en Greene, «Protective Groups In Organic Synthesis», (John Wiley & Sons, Nueva York (1981)) y Harrison *et al.* «Compendium of Synthetic Organic Methods», Vols. 1 a 8 (J. Wiley & Sons, 1971 a 1996). Los grupos N-protectores comprenden carbamatos, amidas, derivados N-alquilados, derivados de amino acetal, derivados de N-bencilo, derivados de imina, derivados de enamina y derivados de N-heteroátomo. Los grupos N-protectores pueden ser formilo; un arilo, tal como un fenilo, opcionalmente sustituido con uno o varios grupos metoxi, tal como *p*-metoxifenilo (PMP); un aril-alquilo de (C_1-C_6) , tal como un bencilo, la porción arilo siendo opcionalmente sustituida con uno o varios grupos metoxi, tales como bencilo (Bn), *p*-metoxibencilo (PMB) o 3,4-dimetoxibencilo (DMPM); $-CO-R_{GP1}$ tal como acetilo (Ac), pivaloilo (Piv o Pv), benzoilo (Bz) o *p*-metoxibencilcarbonilo (Moz); $-CO_2-R_{GP1}$ tal como *t*butiloxicarbonilo (Boc), tricloroetoxicarbonilo (TROC), aliloxicarbonilo (Alloc), benciloxicarbonilo (Cbz o Z) o 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc); $-SO_2-R_{GP1}$ tal como fenilsulfonilo, tosilo (Ts o Tos) o 2-nitrobencensulfonilo (también llamado nosilo - Nos o Ns); y los similares,

con R_{GP1} representando un alquilo de (C_1-C_6) opcionalmente sustituido con uno o varios átomos de halógeno tal como F o Cl; un alqueno de (C_2-C_6) tal como un alilo; un arilo, tal como un fenilo, opcionalmente sustituido con uno o varios grupos seleccionados de entre OMe (metoxi) y NO_2 (nitro); un aril-alquilo de (C_1-C_6) , tal como un bencilo, la porción arilo siendo opcionalmente sustituida con uno o varios grupos metoxi; o un grupo 9-fluorenilmetilo.

En particular, el grupo N-protector comprende formilo, acetilo, benzoilo, pivaloilo, fenilsulfonilo, bencilo (Bn), *t*-butiloxicarbonilo (Boc), benciloxicarbonilo (Cbz), *p*-metoxibenciloxicarbonilo, *p*-nitrobencil-oxicarbonilo, tricloroetoxicarbonilo (TROC), aliloxicarbonilo (Alloc), 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), trifluoro-acetilo, carbamatos de bencilo (sustituidos o no) y similares. Este puede ser, en particular, un grupo Boc o Fmoc.

La protección de la función amina NH por un grupo Boc o Fmoc y su posterior desprotección, después de la reacción de condensación/sustitución/aminación reductiva, son bien conocidas por el experto en la materia y se describen en particular en la parte experimental a continuación.

El compuesto de fórmula (I) obtenido con uno de los tres métodos anteriormente mencionados también puede ser salificado mediante la adición de una base o ácido farmacéuticamente aceptable, en particular un ácido farmacéuticamente aceptable tal como ácido trifluoroacético. Dicha etapa se puede realizar opcionalmente al mismo tiempo que otra etapa de reacción, en particular, al mismo tiempo que una etapa de desprotección cuando se debe realizar en un medio ácido, por ejemplo.

El compuesto obtenido con uno de estos tres métodos, opcionalmente después de la(s) etapa(s) adicional(es) para la desprotección, funcionalización y/o salificación, se puede separar del medio de reacción usando métodos bien conocidos por el experto en la materia, tales como mediante extracción, evaporación del disolvente o por precipitación y filtración.

Si es necesario el compuesto también se puede purificar, utilizando técnicas bien conocidas por el experto en la materia, por ejemplo, mediante recristalización si el compuesto es cristalino, mediante destilación, por cromatografía en columna de gel de sílice o cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitar el alcance de la misma.

Ejemplos**I - Síntesis de los compuestos de la invención**

5

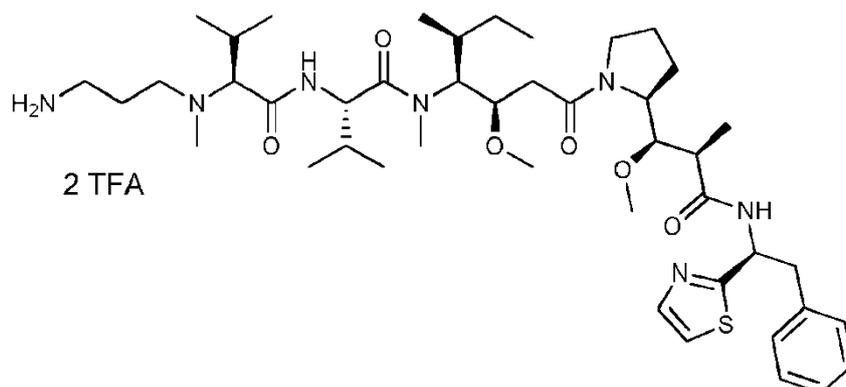
Las siguientes abreviaturas se utilizan en los siguientes ejemplos:

ac.	acuoso
ee	exceso enantiomérico
equiv	equivalente
ESI	ionización por electroaspersión
LC/MS	cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
RMN	resonancia magnética nuclear
15 sat.	saturado
UV	ultravioleta

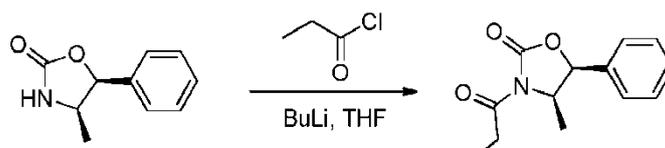
Ejemplo de referencia 1

20

(S)-2-((S)-2-((3-aminopropil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((S)-2-fenil-1-(tiazol-2-il)etil)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida, ácido bis trifluoroacético



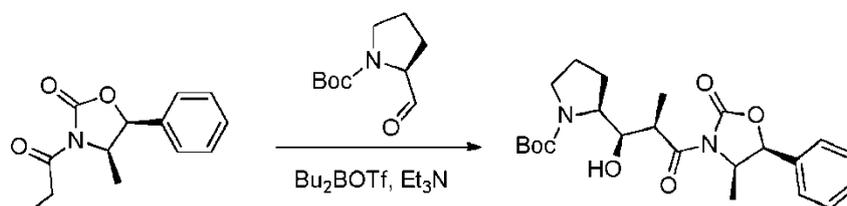
25

Ejemplo 1A: (4R,5S)-4-metil-5-fenil-3-propanoil-1,3-oxazolidin-2-ona

30 (4R,5S)-4-metil-5-fenil-1,3-oxazolidin-2-ona (5,8 g, 32,7 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en tetrahidrofurano (THF, 120 ml) en una atmósfera inerte. La mezcla se enfrió a -78°C y se añadió *n*-butil-litio (14,4 ml) gota a gota. Después de agitación durante 30 minutos a -78°C , se añadió cloruro de propanoil (5,7 ml). La agitación continuó durante 30 minutos a -78°C y a continuación durante la noche a temperatura ambiente. A continuación la mezcla de reacción se concentró, se redisolvió en 200 ml de agua. El pH de la solución se ajustó a 7 con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Esta fase acuosa se extrajo 3 veces con 100 ml de acetato de etilo (EtOAc). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 6,8 g (89%) del compuesto 1A en forma de un aceite de color amarillo.

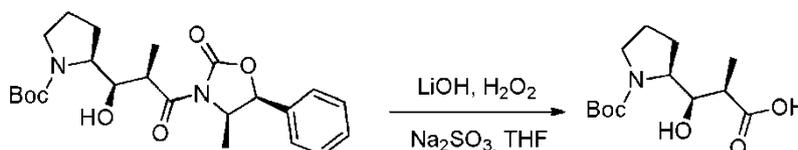
Ejemplo 1B: *terc*-butil (2S)-2-[(1R,2R)-1-hidroxi-2-metil-3-[(4R,5S)-4-metil-2-oxo-5-fenil-1,3-oxazolidin-3-il]-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato

40



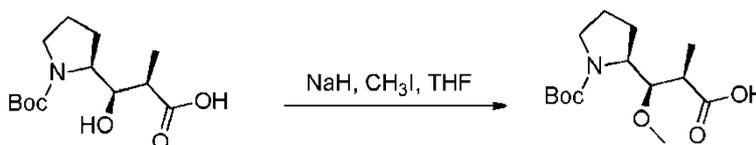
El compuesto 1A (17,6 g, 75,45 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en diclorometano (DCM, 286 ml) en una atmósfera inerte. Esta solución se enfrió con un baño de hielo. Se añadieron trietilamina (TEA, 12,1 ml, 1,15 equiv) y Bu₂BOTf (78,3 ml, 1,04 equiv) gota a gota mientras se mantenía la temperatura de la mezcla de reacción inferior a 2°C. La agitación continuó a 0°C durante 45 minutos, después de lo cual la reacción se enfrió a -78°C. Se añadió gota a gota una solución de *tert*-butil (2S)-2-formilpirrolidin-1-carboxilato (8,5 g, 42,66 mmoles, 0,57 equiv) en DCM (42 ml). La agitación continuó durante 2 horas a -78°C, a continuación 1 hora a 0°C y finalmente 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se neutralizó con 72 ml de regulador de pH de fosfato (pH = 7,2 - 7,4) y 214 ml de metanol, y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota una solución de peróxido de hidrógeno al 30% en metanol (257 ml) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 10°C. La agitación continuó durante 1 hora a 0°C. La reacción se neutralizó con 142 ml de agua, después se concentró bajo presión reducida. La solución acuosa resultante se extrajo 3 veces con 200 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y éter de petróleo (EtOAc:PE = 1:8) para producir 13,16 g (40%) del compuesto 1B en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo 1C: Ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-[(*tert*-butoxi)carbonil]pirrolidin-2-il]-3-hidroxi-2-metilpropanoico



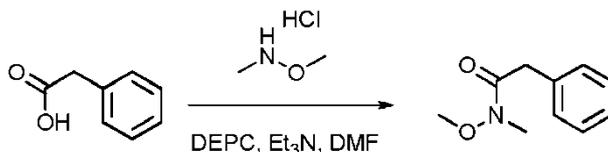
El compuesto 1B (13,16 g, 30,43 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en THF (460 ml) en presencia de peróxido de hidrógeno (30% en agua, 15,7 ml), después se enfrió con un baño de hielo. Se añadió gota a gota una solución acuosa de hidróxido de litio (0,4 mol/l, 152,1 ml) mientras se mantenía la temperatura de reacción por debajo de 4°C. La mezcla de reacción se agitó 2,5 horas a 0°C. Se añadió gota a gota una solución acuosa de Na₂SO₃ (1 mol/l, 167,3 ml) mientras se mantenía la temperatura a 0°C. La mezcla de reacción se agitó 14 horas a temperatura ambiente, después se neutralizó con 150 ml de solución fría saturada de bicarbonato de sodio y se lavó 3 veces con 50 ml de DCM. El pH de la solución acuosa se ajustó a 2-3 con una solución acuosa 1 M de KHSO₄. Esta solución acuosa se extrajo 3 veces con 100 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron una vez con solución saturada de NaCl, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 7,31 g (88%) del compuesto 1C en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo 1D: Ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-[(*tert*-butoxi)carbonil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico



El compuesto 1C (7,31 g, 26,74 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en THF (135 ml) en presencia de yodometano (25,3 ml). El medio de reacción se enfrió con un baño de hielo después de lo cual se añadió NaH (60% en aceite, 4,28 g) en porciones. La reacción se dejó bajo agitación 3 días a 0°C y después se neutralizó con 100 ml de solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y se lavó 3 veces con 50 ml de éter. El pH de la solución acuosa se ajustó a 3 con solución acuosa de KHSO₄ 1M. Esta solución acuosa se extrajo 3 veces con 100 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron una vez con 100 ml de Na₂S₂O₃ (5% en agua), una vez con solución saturada de NaCl, después se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 5,5 g (72%) del compuesto 1D en forma de un aceite incoloro.

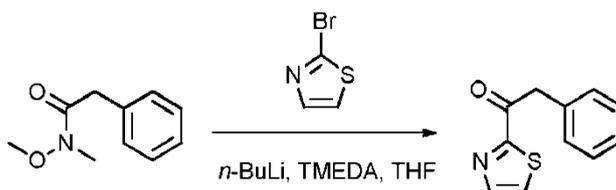
Ejemplo 1E: *N*-metoxi-*N*-metil-2-fenilacetamida



El ácido 2-fenilacético (16,2 g, 118,99 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en dimetilformamida (DMF, 130 ml) después se enfrió a -10°C. Se añadieron dietil fosforocianidato (DEPC, 19,2 ml), clorhidrato de metoxi(metil)amina (12,92 g, 133,20 mmoles, 1,12 equiv) y trietilamina (33,6 ml). La mezcla de reacción se agitó 30 minutos a -10°C y después 2,5 horas a temperatura ambiente. A continuación, se extrajo dos veces con 1 litro de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron dos veces con 500 ml de NaHCO₃ (sat.), una vez con

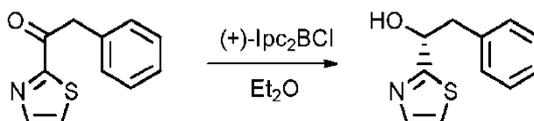
400 ml de agua, después se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:100 a 1:3) para producir 20,2 g (95%) del compuesto 1E en forma de un aceite de color amarillo.

5 Ejemplo 1F: 2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etan-1-ona



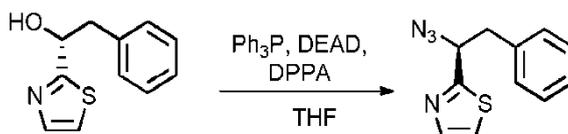
10 Se disolvió tetrametiletilendiamina (TMEDA, 27,2 ml) en 300 ml de THF en una atmósfera inerte, después se enfrió a -78°C antes de la adición, gota a gota, de *n*-BuLi (67,6 ml, 2,5 M). Se añadió 2-bromo-1,3-tiazol (15,2 ml) gota a gota y la agitación continuó durante 30 minutos a -78°C . El compuesto 1E (25 g, 139,50 mmoles, 1,00 equiv) disuelto en THF (100 ml) se añadió gota a gota. La agitación continuó durante 30 minutos a -78°C y a continuación 2 horas a -10°C . La reacción se neutralizó con 500 ml de KHSO_4 (sat.), después se extrajo 3 veces con 1 litro de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron dos veces con 400 ml de agua y dos veces con 700 ml de NaCl (sat.), después se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:100 a 1:10) para producir 25 g (88%) del compuesto 1F en forma de un aceite de color amarillo.

20 Ejemplo 1G: (1R)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etan-1-ol



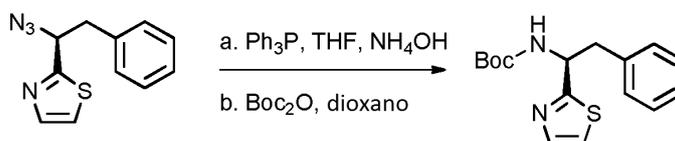
25 En una atmósfera inerte, se añadió gota a gota una solución del compuesto 1F (15 g, 73,8 mmoles, 1,00 equiv.) en éter (300 ml) a (+)-B-clorodisopinocanfeilborano ((+)- Ipc₂BCl, 110,8 ml). La mezcla de reacción se agitó 24 horas a 0°C , después se neutralizó con 300 ml de una mezcla (1:1) de NaOH (10% en agua) y H_2O_2 (30% en agua), y finalmente se extrajo tres veces con 500 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron dos veces con 300 ml de K_2CO_3 (sat.) y una vez con 500 ml de NaCl (sat.), después se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:20 a 1:2) para producir 6,3 g (42%) del compuesto 1G en forma de un sólido de color blanco.

30 Ejemplo 1H: 2-[(1S)-1-azido-2-feniletíl]-1,3-tiazol



35 El compuesto 1G (6 g, 29,23 mmoles, 1,00 equiv.) se disolvió en una atmósfera inerte en THF (150 ml) en presencia de trifenilfosfina (13 g, 49,56 mmoles, 1,70 equiv.), después se enfrió a 0°C . Se añadió gota a gota azodicarboxilato de dietilo (DEAD, 7,6 ml), seguido de difenilfosforilazida (DPPA, 11 ml), el baño frío se retiró y la solución se dejó bajo agitación 48 horas a temperatura ambiente. El medio se concentró a presión reducida. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:100 a 1:30) para producir 8 g del compuesto 1H parcialmente purificado en forma de un aceite de color amarillo. El compuesto 1H se utiliza como tal en la etapa siguiente.

Ejemplo 1I: terc-butil N-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]carbamato



45 El compuesto 1H (6,5 g, 28,2 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en THF (100 ml) en presencia de trifenilfosfina (6,5 g, 33,9 mmoles, 1,20 equiv.), y se calentó a 50°C durante 2 horas. A continuación se añadió amoníaco (70 ml) y continuó el calentamiento durante 3 horas. La reacción se enfrió, se neutralizó con

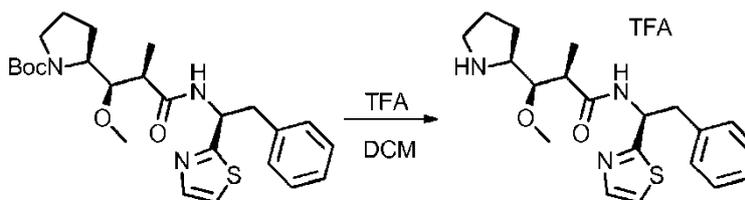
500 ml de agua, a continuación se extrajo 3 veces con 500 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron y se extrajeron dos veces con 500 ml de HCl 1N. Las fases acuosas se combinaron, se llevaron a pH 8-9 mediante la adición de una solución de hidróxido de sodio (10% en agua), después se extrajeron 3 veces con 500 ml de DCM. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 4,8 g (83%) de (1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etan-1-amina en forma de un aceite de color amarillo. A continuación, este compuesto se protegió con un grupo Boc ((*tert*-butoxi)carbonilo) para que se pudiera purificar. Se disolvió en una atmósfera inerte en 1,4-dioxano (40 ml), después se enfrió a 0°C. (Boc)₂O (10,26 g, 47,01 mmoles, 2,00 equiv), se diluyó en 20 ml de 1,4-dioxano añadido gota a gota. El baño frío se retiró y la solución se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente antes de ser neutralizada con 300 ml de agua y se extrajo dos veces con 500 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:100 a 1:20, ee = 93%). A continuación, se recrystalizó en una mezcla de hexano/acetona (~5-10/l, 1 g/10 ml) para producir 6 g (84%) del compuesto 1I en forma de un sólido de color blanco (ee > 99%).

15 **Ejemplo 1J: *tert*-butilo (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-2-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]carbamoil]etil]pirrolidin-1-carboxilato**



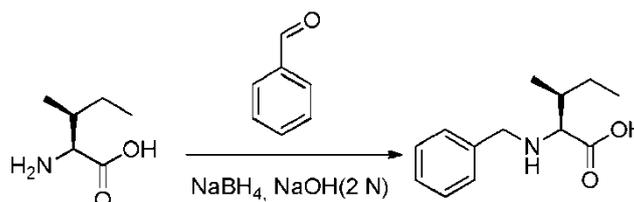
20 El compuesto 1I (3 g, 9,86 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en 10 ml de DCM. Se añadió ácido trifluoroacético (TFA, 10 ml) y la solución se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, después se concentró a presión reducida para producir 2,0 g (64%) de (1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etan-1-amina; ácido trifluoroacético en forma de un aceite de color amarillo. Este producto intermedio se volvió a disolver en 20 ml de DCM después de lo cual, se añadieron el compuesto 1D (1,8 g, 6,26 mmoles, 1,05 equiv), DEPC (1,1 g, 6,75 mmoles, 1,13 equiv) y diisopropiletilamina (DIEA, 1,64 g, 12,71 mmoles, 2,13 equiv). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, después se concentró a presión reducida. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:100 a 1:3) para producir 2,3 g (81%) del compuesto 1J en forma de un sólido de color amarillo pálido.

30 **Ejemplo 1K: (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-N-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida; ácido trifluoroacético**



35 El compuesto 1J (2,25 g, 4,75 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en 10 ml de DCM. Se añadió TFA (10 ml) y la solución se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, después se concentró a presión reducida para producir 2,18 g (94%) del compuesto 1K en forma de un aceite de color amarillo.

40 **Ejemplo 1L: Ácido (2S,3S)-2-(bencilamino)-3-metilpentanoico**

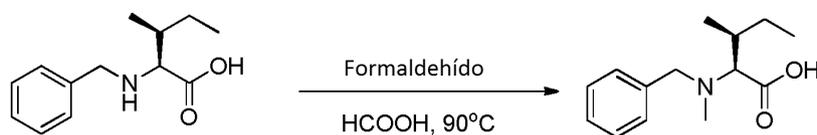


45 El ácido (2S,3S)-2-amino-3-metilpentanoico (98,4 g, 750 mmoles, 1,00 equiv) se añadió a temperatura ambiente y en porciones a una solución de hidróxido de sodio 2 N (375 ml). El benzaldehído (79,7 g, 751,02 mmoles, 1,00 equiv) se añadió rápidamente y la solución resultante se agitó 30 minutos. Se añadió borohidruro de sodio (10,9 g, 288,17 mmoles, 0,38 equiv) en pequeñas porciones, mientras se mantenía la temperatura entre 5 y 15°C. La

agitación continuó durante 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con 200 ml de agua, a continuación se lavó dos veces con 200 ml de EtOAc. El pH de la solución acuosa se ajustó a 7 con una solución de ácido clorhídrico 2N. El precipitado formado se recogió por filtración y produjo 149,2 g (90%) del compuesto 1L en forma de un sólido de color blanco.

5

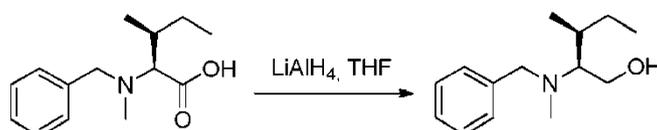
Ejemplo 1M: Ácido (2S,3S)-2-[bencil(metil)amino]-3-metilpentanoico



10 El compuesto 1L (25 g, 112,97 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en ácido fórmico (31,2 g) en presencia de formaldehído (36,5% en agua, 22,3 g). La solución se agitó 3 horas a 90°C y después se concentró a presión reducida. El residuo se trituroó en 250 ml de acetona, después se concentró. Esta operación de trituración/evaporación se repitió dos veces con 500 ml de acetona para producir 21,6 g (81%) del compuesto 1M en forma de un sólido de color blanco.

15

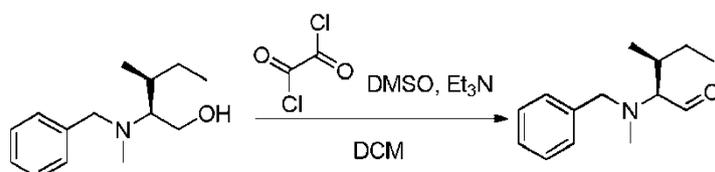
Ejemplo 1N: (2S,3S)-2-[bencil(metil)amino]-3-metilpentan-1-ol



20 El LiAlH₄ (0,36 g) se suspendió en 10 ml de THF en una atmósfera inerte a 0°C. El compuesto 1M (1,5 g, 6,37 mmoles, 1,00 equiv) se añadió en pequeñas porciones mientras se mantenía la temperatura entre 0 y 10°C. La mezcla de reacción se agitó 2 horas a 65°C, después se enfrió de nuevo a 0°C antes de ser neutralizada con adiciones sucesivas de 360 µl de agua, 1 ml de hidróxido de sodio al 15% y 360 µl de agua. Las sales de aluminio que se precipitaron se separaron por filtración. El filtrado se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:50) para producir 820 mg (58%) del compuesto 1N en forma de un aceite de color amarillo pálido.

25

Ejemplo 1O: (2S,3S)-2-[bencil(metil)amino]-3-metilpentanal

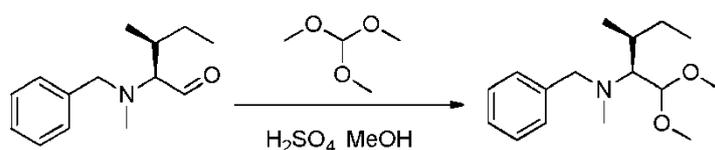


30

35 El cloruro de oxalilo (0,4 ml) se disolvió en DCM (15 ml) en una atmósfera inerte. La solución se enfrió a -70°C y se añadió gota a gota una solución de dimetilsulfóxido (DMSO (0,5 ml) en DCM (10 ml) durante 15 minutos. La mezcla de reacción se agitó 30 minutos, después de lo cual se añadió gota a gota una solución del compuesto 1N (820 mg, 3,70 mmoles, 1,00 equiv) en DCM (10 ml) durante 15 minutos. La mezcla de reacción se agitó otros 30 minutos a baja temperatura, a continuación, se añadió lentamente trietilamina (2,5 ml). La mezcla de reacción se agitó 1 hora a -50°C, el baño frío se retiró y la reacción se neutralizó con 25 ml de agua al tiempo que se permitía que la temperatura volviera a la normalidad. La solución se lavó una vez con 30 ml de solución acuosa saturada de NaCl, a continuación, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:200) para producir 0,42 g (52%) del compuesto 1O en forma de un aceite de color amarillo.

40

Ejemplo 1P: (2S,3S)-N-bencil-1,1-dimetoxi-N,3-dimetilpentan-2-amina



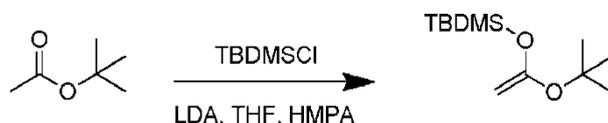
45

El compuesto 1O (4,7 g, 21,43 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 20 ml de metanol a 0°C. Se añadió gota a gota ácido sulfúrico concentrado (4,3 ml) y continuó la agitación durante 30 minutos a 0°C. Se añadió trimetil

ortoformiato (21,4 ml), el baño frío se retiró y el medio de reacción se dejó bajo agitación durante 3 horas a temperatura ambiente. El medio de reacción se diluyó con 200 ml de EtOAc, se lavó sucesivamente con 100 ml de Na₂CO₃ al 10% y 200 ml de NaCl saturado, después se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró bajo presión reducida para producir 3,4 g (60%) del compuesto 1P en forma de un aceite de color amarillo pálido.

5

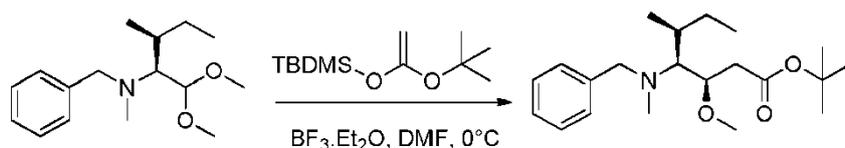
Ejemplo 1Q: [[1-(*terc*-butoxi)etenil]oxi](*terc*-butil) dimetilsilano



Se disolvió diisopropilamina (20 g, 186,71 mmoles, 1,08 equiv) en 170 ml de THF en una atmósfera inerte y se enfrió a -78°C. Se añadió nBuLi (2,4 M, 78,8 ml) gota a gota y la solución se agitó 30 minutos a baja temperatura (para producir LDA-diisopropilamida de litio) antes de añadir acetato de *terc*-butilo (20 g, 172,18 mmoles, 1,00 equiv). La mezcla de reacción se agitó 20 minutos a -78°C antes de añadir hexametilfosforamida (HMPA, 25,8 ml) y una solución de *terc*-butildimetilclorosilano (TBDMS-Cl, 28 g, 185,80 mmoles, 1,08 equiv) en 35 ml de THF. La agitación continuó durante 20 minutos adicionales a baja temperatura, y a continuación se retiró el baño frío. La solución se concentró bajo presión reducida. El residuo se volvió a disolver en 100 ml de agua y se extrajo 3 veces con 100 ml de PE. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron una vez con 500 ml de solución acuosa saturada de NaCl, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por destilación para producir 16,6 g (83%) del compuesto 1Q en forma de un aceite incoloro.

20

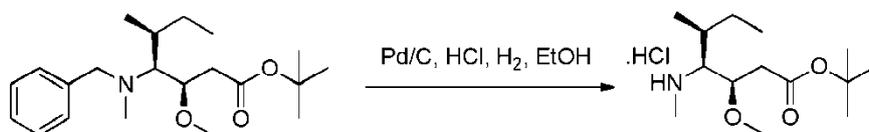
Ejemplo 1R: *terc*-butil (3R,4S,5S)-4-[bencil(metil)amino]-3-metoxi-5-metil heptanoato



El compuesto 1P (2,0 g, 7,54 mmoles, 1,00 equiv) y el compuesto 1Q (2,6 g, 11,28 mmoles, 1,50 equiv) se disolvieron en 33 ml de DCM en una atmósfera inerte. La solución se enfrió a 0°C. El DMF (1,2 g) se añadió gota a gota junto con una solución de BF₃-Et₂O (2,1 g) en 7,5 ml de DCM. La agitación continuó durante 24 horas a 0°C. El medio de reacción se lavó una vez con 30 ml de carbonato de sodio (10%) y dos veces con 50 ml de solución acuosa saturada de NaCl, después se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:100) para producir 1,82 g (91%) del compuesto 1R en forma de un aceite de color amarillo.

30

Ejemplo 1S: clorhidrato de (3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-(metilamino)heptanoato



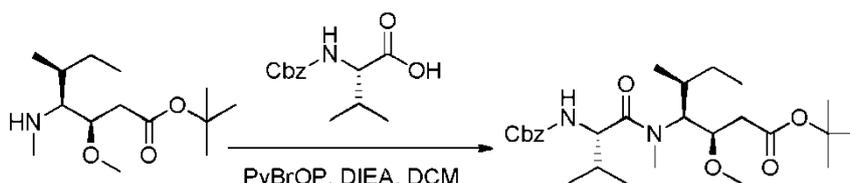
35

El compuesto 1R (2,4 g, 6,87 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en 35 ml de etanol en presencia de Pd/C (0,12 g) y ácido clorhídrico concentrado (0,63 ml). La atmósfera de nitrógeno se reemplazó por una atmósfera de hidrógeno y el medio de reacción se dejó bajo agitación 18 horas a temperatura ambiente. El medio de reacción se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se trituró en 50 ml de hexano y se eliminó el sobrenadante que, después de secar bajo presión reducida, produjo 1,66 g (82%) del compuesto 1S en la forma de un sólido de color blanco.

40

Ejemplo 1T: *terc*-butil (3R,4S,5S)-4-[(2S)-2-[[benciloxi]carbonil]amino]-N,3-dimetilbutanamido]-3-metoxi-5-metiloheptanoato

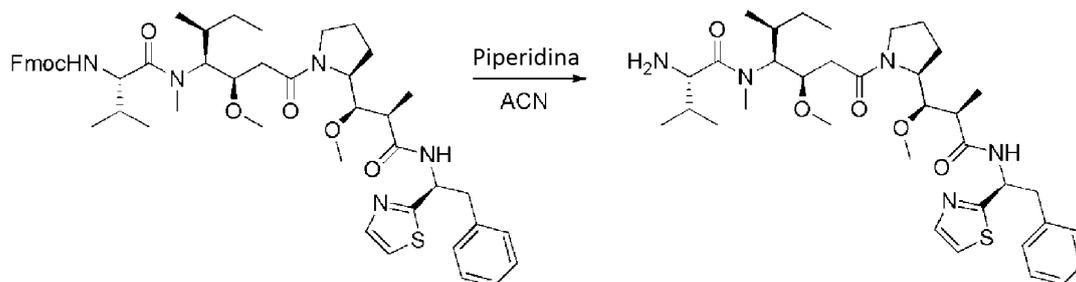
45



El ácido (2S)-2-[[benciloxi]carbonil]amino]-3-metilbutanoico (15 g, 0,40 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en

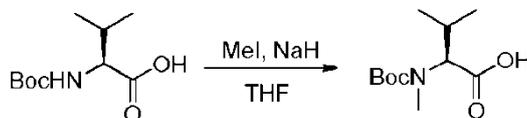
El compuesto 1W (2,53 g, 4,82 mmoles, 1,08 equiv) se disolvió en 20 ml de DCM en presencia del compuesto 1K (2,18 g, 4,47 mmoles, 1,00 equiv), DEPC (875 mg, 5,37 mmoles, 1,20 equiv) y DIEA (1,25 g, 9,67 mmoles, 2,16 equiv). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, después se lavó sucesivamente con 50 ml de solución saturada de KHSO₄ y 100 ml de agua, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de metanol y DCM (1:200 a 1:40) para producir 2,8 g (71%) del compuesto 1X en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo 1Y: (2S)-2-amino-N-[(3R,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-2-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]carbamoil]etil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N,3-dimetilbutanamida



El compuesto 1X (2,8 g, 3,18 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en acetonitrilo (ACN, 12 ml) en presencia de piperidina (3 ml) y se dejó bajo agitación 18 horas a temperatura ambiente. La reacción se neutralizó con 50 ml de agua, después se extrajo dos veces con 100 ml de DCM. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de metanol y DCM (1:100 a 1:40) para producir 1,2 g (57%) del compuesto 1Y en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo 1ZA: Ácido (2S)-2-[[*tert*-butoxi]carbonil](metil)amino]-3-metil butanoico



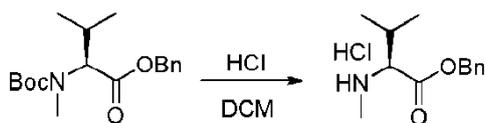
El ácido (2S)-2-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino]-3-metilbutanoico (63 g, 289,97 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en THF (1000 ml) en presencia de yodometano (181 ml). La solución se enfrió a 0°C antes de añadir hidruro de sodio (116 g, 4,83 moles, 16,67 equiv) en pequeñas porciones. La mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas a 0°C, el baño frío se retiró y la agitación continuó durante 18 horas. La reacción se neutralizó con 200 ml de agua y después se concentró a presión reducida. La fase acuosa residual se diluyó con 4 litros de agua, se lavó una vez con 200 ml de EtOAc y su pH se ajustó entre 3 y 4 con una solución de ácido clorhídrico 1N. La mezcla obtenida se extrajo 3 veces con 1,2 l de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 60 g (89%) del compuesto 1ZA en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo 1ZB: bencil (2S)-2-[[*tert*-butoxi]carbonil](metil)amino]-3-metilbutanoato



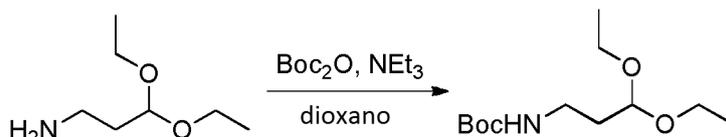
El compuesto 1ZA (47 g, 203,21 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en DMF (600 ml) en presencia de Li₂CO₃ (15,8 g, 213,83 mmoles, 1,05 equiv). La solución se enfrió a 0°C y después se añadió gota a gota bromuro de bencilo (BnBr 57,9 g, 338,53 mmoles, 1,67 equiv). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche antes de ser neutralizada con 400 ml de agua y se filtró. La solución obtenida se extrajo dos veces con 500 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:100 a 1:20) para producir 22,5 g (34%) del compuesto 1ZB en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo 1ZC: clorhidrato de bencil (2S)-3-metil-2-(metilamino) butanoato



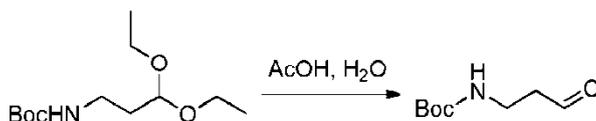
5 El compuesto 1ZB (22,5 g, 70,00 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 150 ml de DCM. Se burbujó ácido clorhídrico gaseoso. La reacción se agitó 1 hora a temperatura ambiente y después se concentró a presión reducida para producir 17 g (94%) del compuesto 1ZC en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo 1ZD: *tert*-butil *N*-(3,3-dietoxipropil)carbamato



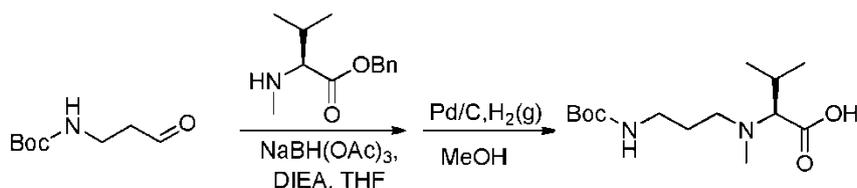
10 La 3,3-dietoxipropán-1-amina (6 g, 40,76 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 1,4-dioxano (30 ml) en presencia de TEA (4,45 g, 43,98 mmoles, 1,08 equiv), a continuación se enfrió hasta 0°C. (Boc)₂O (9,6 g, 43,99 mmoles, 1,08 equiv) diluido en 20 ml de 1,4-dioxano se añadió gota a gota. La solución se agitó 2 horas a 0°C, a continuación durante la noche a temperatura ambiente antes de ser neutralizada con 10 ml de agua. El pH se ajustó a 5 con HCl (1%). La solución se extrajo 3 veces con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 8,21 g (81%) del compuesto 1ZD en forma de un aceite de color amarillo pálido.

Ejemplo 1Z: *tert*-butil *N*-(3-oxopropil)carbamato



20 El compuesto 1ZD (8,20 g, 33,15 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 18,75 ml de ácido acético y se dejó en agitación durante la noche a temperatura ambiente. El medio de reacción se extrajo 3 veces con 30 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron 3 veces con 30 ml de solución saturada de NaCl, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 5 g (87%) del compuesto 1ZE en forma de un aceite de color rojo oscuro.

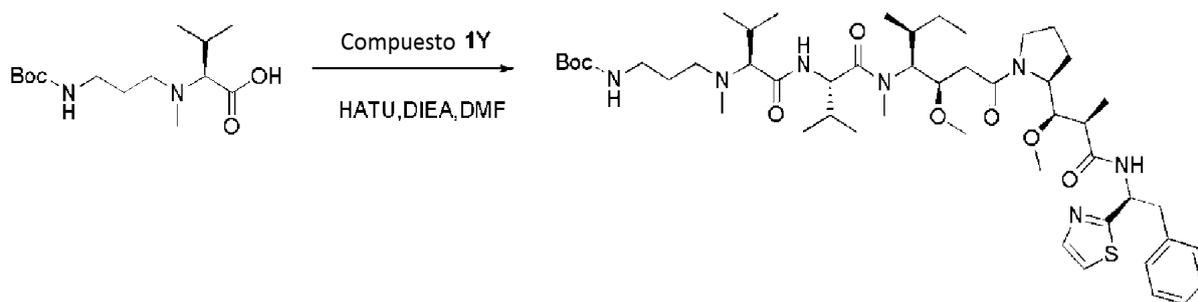
Ejemplo 1ZF: Ácido (2S)-2-[[3-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino]propil](metil)amino]-3-metilbutanoico



35 El compuesto 1ZE (2,4 g, 13,86 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 50 ml de THF en presencia del compuesto 1ZC (3,56 g, 13,81 mmoles, 1,00 equiv) y DIEA (9,16 ml, 4,00 equiv). La mezcla de reacción se agitó 30 minutos a temperatura ambiente antes de añadir triacetoxiborohidruro de sodio (5,87 g, 27,70 mmoles, 2,00 equiv). La agitación continuó durante una noche, después la reacción se neutralizó con 100 ml de agua y se extrajo 3 veces con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó parcialmente en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:4). El producto bruto obtenido se volvió a disolver en 20 ml de metanol en presencia de Pd/C (1,2 g) y se hidrogenó durante 20 minutos a temperatura y presión normal. El medio de reacción se filtró y se concentró bajo presión reducida para producir 200 mg (5%) del compuesto 1ZF en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 1ZG: *tert*-butil *N*-(3-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[3R,4S,5S]-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-2-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]carbamoil]til]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]](metil)carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]-2-metilpropil](metil)amino]propil]carbamato

45



El compuesto 1Y (50 mg, 0,08 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 2 ml de DMF en presencia del compuesto 1ZF (26,2 mg, 0,09 mmoles, 1,20 equiv), DIEA (37,7 ml) y hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazo-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU, 43,3 mg, 0,11 mmoles, 1,50 equiv). La reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, después se diluyó con 10 ml de agua y se extrajo 3 veces con 5 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 100 mg del compuesto 1ZG en forma de un aceite incoloro parcialmente purificado.

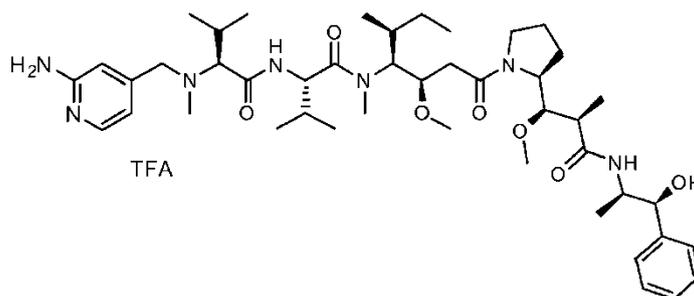
Ejemplo 1: El compuesto 1ZG (90 mg, 0,10 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera neutra en 2 ml de DCM y la solución se enfrió con un baño de hielo. Se añadió TFA (1 ml) y la reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, después se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa (columna Pre-HPLC-001 SHIMADZU, SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con 0,05% de TFA; gradiente de 18% a 31% de ACN durante 7 minutos y a continuación de 31% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 1 se obtuvo con un rendimiento del 25% (23 mg) en forma de un sólido de color blanco.

LC/MS/UV (columna Atlantis T3, 3 μ m, 4,6 x 100 mm; 35°C; 1 ml/min, de 30% a 60% de ACN en agua (acetato de amonio 20 mM durante 6 minutos); ESI (C₄₄H₇₃N₇O₆S, masa exacta 827,53) *m/z*: 829 (MH⁺), 5,84 min (93,7%, 254 nm).

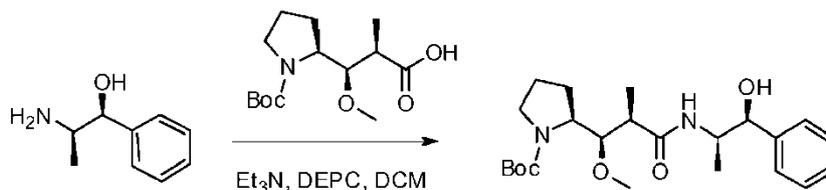
¹H RMN (300 MHz, CD₃OD, ppm): δ (Presencia de rotámeros) 7,85-7,80 (m, 1H); 7,69-7,66 (m, 1H), 7,40-7,10 (m, 5H), 5,80-5,63 (m, 1H), 4,80-4,65 (m, 2H), 4,22-4,00 (m, 1H), 3,89-0,74 (m, 58H).

Ejemplo de referencia 2

(S)-2-((S)-2-(((2-aminopiridin-4-il)metil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida, ácido trifluoroacético



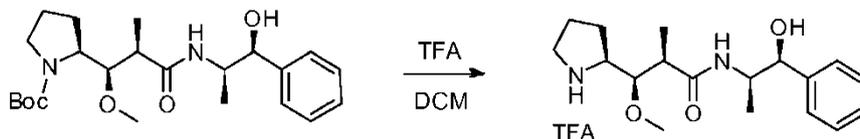
Ejemplo 2A: *terc*-butil (S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-carboxilato



El compuesto 1D (2,5 g, 8,70 mmoles, 1,00 equiv) y (1S,2R)-2-amino-1-fenilpropan-1-ol (1,315 g, 8,70 mmoles, 1,00 equiv) se disolvieron en una atmósfera inerte en DMF (35 ml). La solución se enfrió a 0°C y a continuación se añadieron gota a gota DEPC (1,39 ml) y TEA (1,82 ml). La mezcla de reacción se agitó 2 horas a 0°C, a

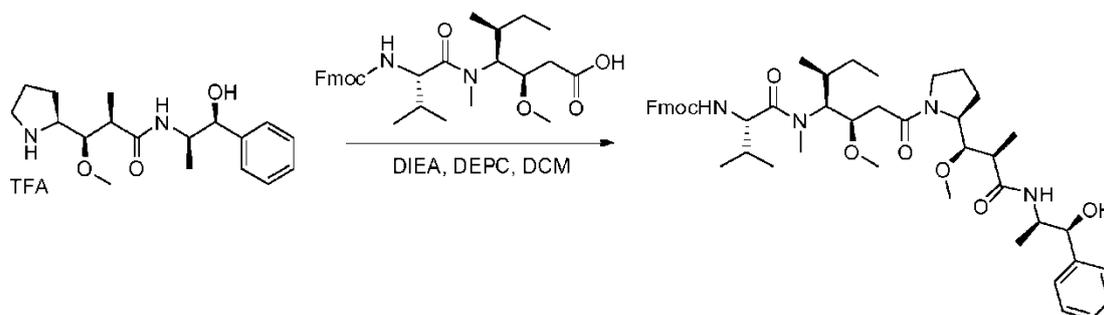
continuación 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con 200 ml de agua y se extrajo tres veces con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron una vez con 50 ml de KHSO_4 (1 mol/l), una vez con 50 ml de NaHCO_3 (sat.), una vez con 50 ml de NaCl (sat.), después se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para producir 3,6 g (98%) del compuesto 2A en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo 2B: (2R,3R)-N-((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)-3-metoxi-2-metil-3-((S)-pirrolidin-2-il)propanamida-2,2,2-trifluoroacetato



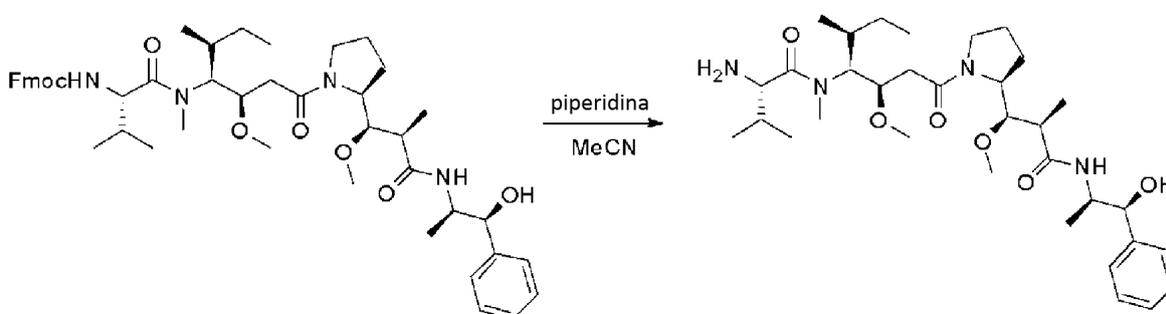
El compuesto 2A (2,7 g, 6,42 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en DCM (40 ml), después se enfrió a 0°C . Se añadió TFA (25 ml) y la solución se agitó durante 2 horas a 0°C . La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir 4,4 g del compuesto 2B en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo 2C: (9H-fluoren-9-il)metil ((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-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)carbamato

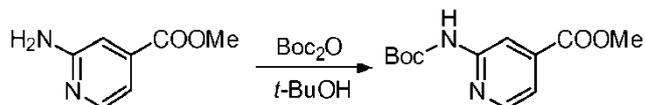


Los compuestos 2B (4,4 g, 10,13 mmoles, 1,00 equiv) y 1W (5,31 g, 10,12 mmoles, 1,00 equiv) se disolvieron en una atmósfera inerte en DCM (45 ml). La solución se enfrió a 0°C , a continuación se añadieron gota a gota DEPC (1,62 ml) y DIEA (8,4 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a 0°C y después a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con 100 ml de agua y se extrajo tres veces con 50 ml de DCM. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron una vez con 50 ml de KHSO_4 (1 mol/l), una vez con 50 ml de NaHCO_3 (sat.), una vez con 50 ml de NaCl (sat.), después se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión para producir 3,3 g (39%) del compuesto 2C en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo 2D: (S)-2-amino-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida

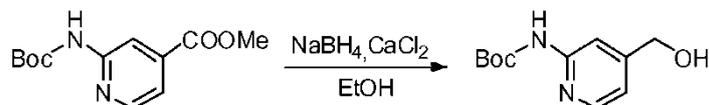


El compuesto 2C (300 mg, 0,36 mmoles, 1,00 eq.) se disolvió en una atmósfera inerte en ACN (2 ml) y piperidina (0,5 ml). La solución se dejó bajo agitación a temperatura ambiente durante la noche y después se evaporó hasta sequedad a presión reducida. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de DCM y MeOH (1:100) para producir 150 mg (68%) del compuesto 2D en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 2E: metil 2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)isonicotinato

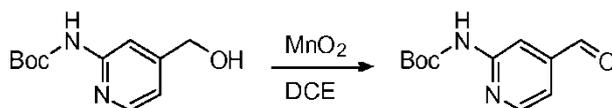
5 El metil 2-aminopiridin-4-carboxilato (2 g, 13,14 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en *tert*-butanol (20 ml) después de lo cual se añadió di-*tert*-butil dicarbonato (4,02 g, 18,42 mmoles, 1,40 equiv) (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante la noche, después la reacción se detuvo mediante la adición de una solución acuosa de NaHCO₃ 1M (50 ml). El sólido se recuperó por filtración, se lavó con 50 ml de EtOH, a continuación se secó *in vacuo* para producir 2,5 g (75%) del compuesto 2E en forma de un sólido de color blanco.

10

Ejemplo 2F: *tert*-butil (4-(hidroximetil)piridin-2-il)carbamato

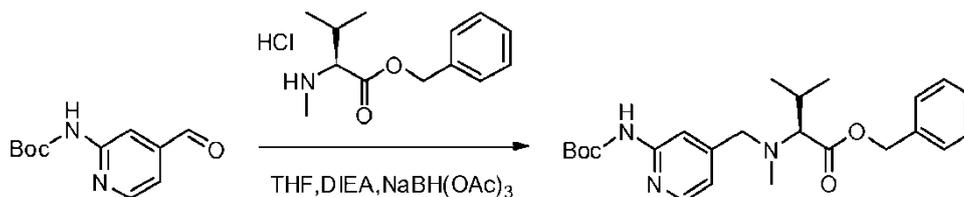
15 El compuesto 2E (2,5 g, 9,91 mmoles, 1,00 equiv) y CaCl₂ (1,65 g) se disolvieron en EtOH (30 ml). La solución se enfrió a 0°C, a continuación se añadió gradualmente NaBH₄ (1,13 g, 29,87 mmoles, 3,01 equiv). La solución se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, después la reacción se detuvo con la adición de agua (50 ml). La mezcla se extrajo tres veces con 20 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron dos veces con 20 ml de NaCl (sat.) y a continuación se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para producir 2,0 g (90%) del compuesto 2F en forma de un sólido incoloro.

20

Ejemplo 2G: *tert*-butil (4-formilpiridin-2-il)carbamato

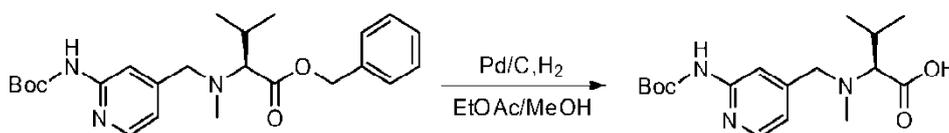
25 El compuesto 2F (2,5 g, 11,15 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en DCE (25 ml) y después se añadieron 19,4 g (223,14 mmoles, 20,02 equiv) de MnO₂. La mezcla se dejó bajo agitación durante la noche a 70°C, después los sólidos se retiraron por filtración. El filtrado se evaporó hasta sequedad para producir 1,4 g (57%) del compuesto 2G en forma de un sólido de color blanco.

30

Ejemplo 2H: bencil (S)-2-(((2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)piridin-4-il)metil)(metil)amino)-3-metilbutanoato

35 El compuesto 2G (2,3 g, 10,35 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 25 ml de THF en presencia del compuesto 1ZC (2,93 g, 11,37 mmoles, 1,10 equiv), DIEA (5,39 g, 41,71 mmoles, 4,03 equiv) y NaBH(OAc)₃ (4,39 g, 20,71 mmoles, 2,00 equiv). La mezcla de reacción se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente y a continuación se neutralizó con 60 ml de NaHCO₃ (sat.) y se extrajo 3 veces con 20 ml de AcOEt. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron dos veces con 20 ml de NaCl (sat.), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:15) para producir 2,7 g (61%) del compuesto 2H en forma de un sólido de color blanco.

40

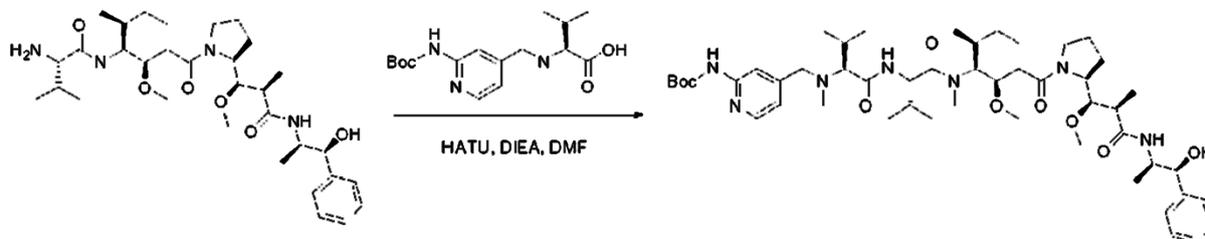
Ejemplo 2I: Ácido (S)-2-(((2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)piridin-4-il)metil)(metil)amino)-3-metilbutanoico

45

El compuesto 2H (500 mg, 1,17 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 10 ml de AcOEt y 2 ml de metanol en presencia de Pd/C (250 mg), y se hidrogenó durante 3 horas a temperatura ambiente y presión atmosférica. El

medio de reacción se filtró y se concentró bajo presión reducida para producir 254 mg (64%) del compuesto 2I en forma de un sólido incoloro

5 **Ejemplo 2J:** *terc*-butil (4-((3S,6S,9S,10R)-9-((S)-*sec*-butil)-10-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-3,6-diisopropil-2,8-dimetil-4,7-dioxo-11-oxa-2,5,8-triazadodecil)piridin-2-il)carbamato



10 El compuesto 2J se preparó de forma similar al compuesto 1ZG a partir de la amina 2D (85,2 mg, 0,14 mmoles, 1,50 equiv), el ácido 2I (31,7 mg, 0,09 mmoles, 1,00 equiv), HATU (42,9 mg, 0,11 mmoles, 1,20 equiv) y DIEA (36,7 mg, 0,28 mmoles, 3,02 equiv) en DMF (3 ml). Después de evaporación hasta sequedad, se obtuvieron 100 mg del producto bruto en forma de un sólido de color blanco.

15 **Ejemplo 2:** El compuesto 2J (100 mg, 0,11 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 2 ml de DCM y 1 ml de TFA. La reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente, después se concentró a presión reducida. El residuo (80 mg) se purificó por HPLC preparativa (columna Pre-HPLC-001 SHIMADZU, SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con 0,05% de TFA; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 2 se obtuvo con un rendimiento del 6% (6,3 mg) en forma de un sólido de color blanco.

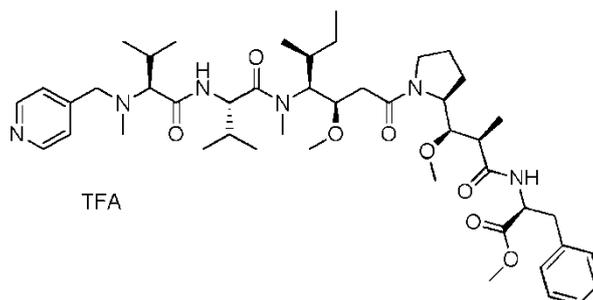
25 LC/MS/UV (columna Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,8 ml/min, de 10% a 95% de ACN en agua (0,05% de TFA) durante 6 minutos); ESI ($C_{45}H_{73}N_7O_7$, masa exacta 823,56) *m/z*: 824,5 (MH^+) y 412,9 ($M.2H^+/2$, 100%), 3,21 min (99,2%, 210 nm)

1H RMN (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 7,81-7,79 (m, 1H); 7,39-7,29 (m, 5H); 6,61-6,59 (m, 2H); 4,84-4,52 (m, 1H); 4,32-4,02 (m, 1H); 3,90-2,98 (m, 10H); 2,90-2,78 (m, 1H); 2,55-0,81 (m, 39H).

30 **Ejemplo de referencia 3**

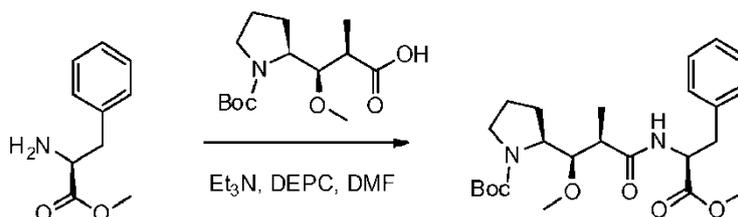
metil ((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-*N*,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metil(piridin-4-ilmetil)amino)butanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato, ácido trifluoroacético

35



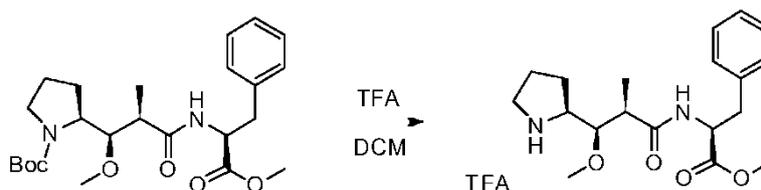
40 **Ejemplo 3A:** *terc*-butil (S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-3-((S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-carboxilato

40



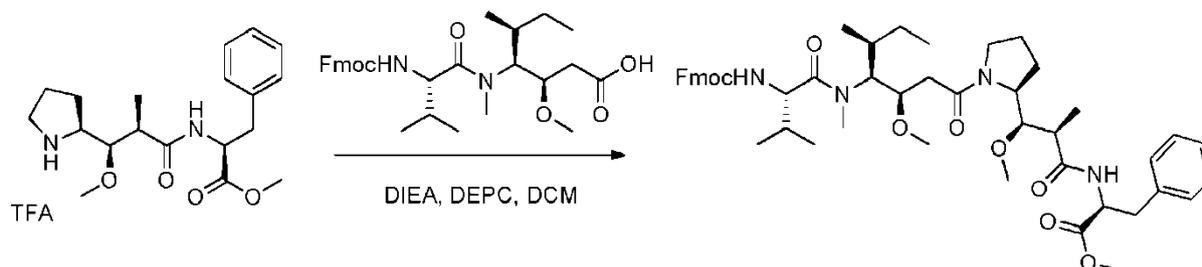
El compuesto 1D (3 g, 10,44 mmoles, 1,00 equiv) y metil (S)-2-amino-3-fenilpropanoato (2,25 g, 12,55 mmoles, 1,20 equiv) se disolvieron en una atmósfera inerte en DMF (40 ml). La solución se enfrió a 0°C y a continuación se añadieron gota a gota DEPC (1,67 ml, 1,05 equiv) y TEA (3,64 ml, 2,50 equiv). La mezcla de reacción se agitó 2 horas a 0°C y después a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con 100 ml de agua y se extrajo tres veces con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron una vez con 100 ml de KHSO₄ (1 mol/l), una vez con 100 ml de NaHCO₃ (sat.), una vez con 100 ml de NaCl (sat.), después se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión para producir 4 g (85%) del compuesto 3A en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo 3B: 2,2,2-trifluoroacetato de metil (S)-2-((2R,3R)-3-metoxi-2-metil-3-((S)-pirrolidin-2-il)propanamido)-3-fenilpropanoato



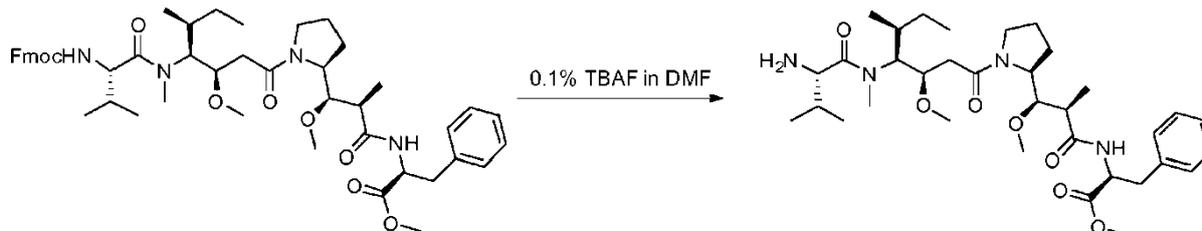
El compuesto 3A (5 g, 11,15 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en DCM (40 ml). Se añadió TFA (25 ml) y la solución se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir 8 g del compuesto 3B en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo 3C: metil (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato



Los compuestos 3B (8,03 g, 17,36 mmoles, 1,00 equiv) y 1W (9,1 g, 17,34 mmoles, 1,00 equiv) se disolvieron en una atmósfera inerte en DCM (80 ml). La solución se enfrió a 0°C y a continuación se añadieron gota a gota DEPC (2,8 ml) y DIEA (12 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a 0°C y después a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con 200 ml de agua y se extrajo tres veces con 50 ml de DCM. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron una vez con 50 ml de KHSO₄ (1 mol/l), una vez con 50 ml de NaHCO₃ (sat.), una vez con 50 ml de NaCl (sat.), después se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para producir 5 g (34%) del compuesto 3C en forma de un sólido de color amarillo.

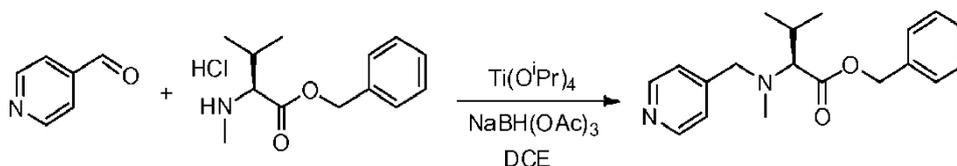
Ejemplo 3D: metil (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-amino-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato



El compuesto 3C (5,5 g, 6,43 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en una solución de fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF, 2,61 g, 9,98 mmoles, 1,55 equiv) en DMF (100 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y después se diluyó con 100 ml de agua y se extrajo tres veces con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, a continuación se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para producir 3,3 g (81%) del compuesto 3D en forma de un sólido de color

amarillo.

Ejemplo 3E: bencil (S)-3-metil-2-(metil(piridin-4-ilmetil)amino)butanoato

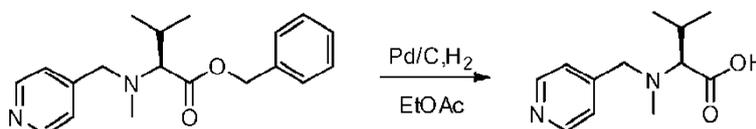


5

La piridina-4-carbaldehído (1 g, 9,34 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 10 ml de 1,2-dicloroetano (DCE) en presencia del compuesto 1ZC (2,9 g, 11,25 mmoles, 1,21 equiv) e isopropóxido de titanio (IV) (4,19 ml, 1,40 equiv). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se añadieron 2,77 g de NaBH(OAc)₃ (13,07 mmoles, 1,40 equiv). El medio de reacción se dejó bajo agitación durante la noche y a continuación se neutralizó con 100 ml de agua y la mezcla se extrajo 3 veces con 50 ml de AcOEt. Las fases orgánicas se combinaron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:20) para producir 1,3 g (45%) del compuesto 3E en forma de un aceite incoloro.

10

Ejemplo 3F: Ácido (S)-3-metil-2-(metil(piridin-4-ilmetil)amino)butanoico



20

El compuesto 3E (800 mg, 2,56 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 30 ml de AcOEt en presencia de Pd/C (300 mg) y se hidrogenó durante 3 horas a temperatura ambiente y presión atmosférica. El medio de reacción se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de DCM y MeOH (100:1 a 5:1) para producir 100 mg (18%) del compuesto 3F en forma de un sólido de color blanco.

25

Ejemplo 3: Los compuestos 3D (50 mg, 0,08 mmoles, 1,00 equiv) y 3F (26,34 mg, 0,12 mmoles, 1,50 equiv) se disolvieron en 3 ml de DCM. La solución se enfrió a 0°C y a continuación se añadieron 0,018 ml de DEPC y 0,0392 ml de DIEA. La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y después a temperatura ambiente durante la noche. El medio de reacción se concentró a presión reducida y el residuo (70 mg) se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 µm, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con 0,05% de TFA; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 3 se obtuvo con un rendimiento del 27% (20 mg) en forma de un sólido de color blanco.

30

LC/MS/UV (columna Ascentis Express C18, 2,7 µm, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/min, del 10% al 95% de ACN en agua (TFA al 0,05%) durante 8 minutos); ESI (C₄₆H₇₂N₆O₈, masa exacta 836,5) *m/z*: 837,5 (MH⁺) y 419,4 (M.2H⁺/2 (100%)), 7,04 min (90,0%, 210 nm)

35

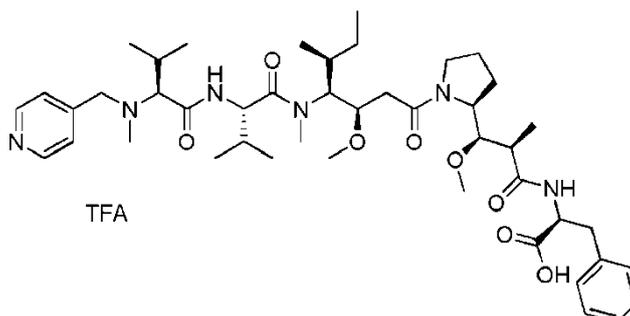
¹H RMN (400 MHz, CD₃OD, *ppm*): δ (Presencia de rotámeros) 8,76-8,74 (m, 2H); 8,53-8,48 (m, 0,4H, NHCO intercambio incompleto); 8,29-8,15 (m, 0,8H, NHCO intercambio incompleto); 8,01 (s, 2H), 7,31-7,22 (m, 5H), 4,88-4,68 (m, 3H); 4,31-4,07 (m, 2H); 3,94-2,90 (m, 18H); 2,55-0,86 (m, 38H).

40

Ejemplo de referencia 4

Ácido (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metil(piridin-4-ilmetil)amino)butanamido)butanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoico, ácido trifluoroacético

45



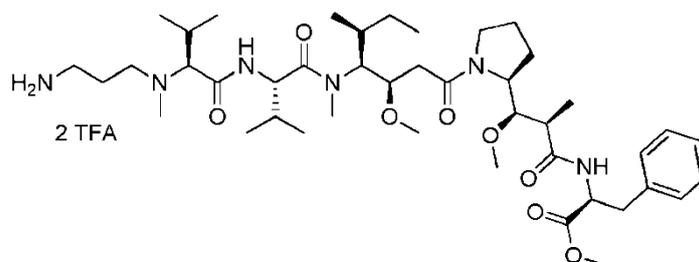
Ejemplo 4: El compuesto 3 (100 mg, 0,11 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una mezcla de agua (5 ml), ACN (5 ml) y piperidina (2,5 ml). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche y después se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm), para producir 20 mg (20%) del compuesto 4 en forma de un sólido de color blanco.

LC/MS/UV (columna Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/min, de 10% a 95% de ACN en agua (TFA al 0,05%) por 8 minutos); ESI ($C_{45}H_{70}N_6O_8$, masa exacta 822,5) m/z : 823,5 (MH^+) y 412,4 ($M.2H^+/2$, 100%), 6,84 min (89,1%, 210 nm).

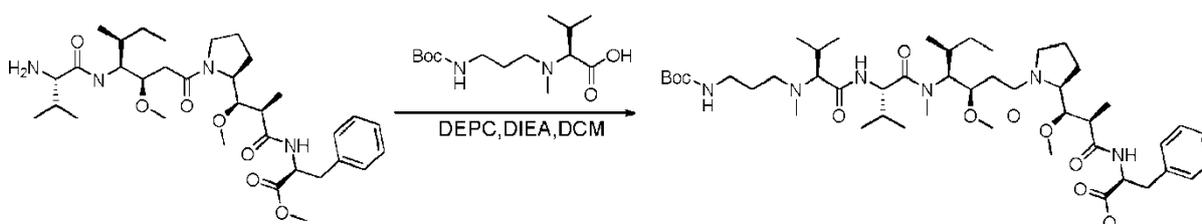
1H RMN (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 8,79-8,78 (m, 2H); 8,09 (m, 2H); 7,30-7,21 (m, 5H); 4,80-4,80 (m, 1H), 4,36-0,87 (m, 58H).

Ejemplo de referencia 6

metil (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-aminopropil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato, ácido bis trifluoroacético



Ejemplo 6A: metil (2S)-2-[(2R)-2-[(R)-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(3-[[terc-butoxi]carbonil]amino]propil)(metil)amino]-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il](metoxi)metil]propanamido]-3-fenilpropanoato



El compuesto 3D (157,5 mg, 0,25 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió a 0°C en una atmósfera inerte, en 3 ml de DCM en presencia de ácido carboxílico 1ZF (78,7 mg, 0,27 mmoles, 1,10 equiv), DEPC (46 μ l) y DIEA (124 μ l). La mezcla de reacción se agitó 2 horas a baja temperatura y a continuación se retiró el baño frío y la agitación continuó durante 4 horas. A continuación, se concentró bajo presión reducida para producir 200 mg del compuesto 6A en forma de un aceite bruto de color amarillo. Se utilizó como tal en la etapa siguiente.

Ejemplo 6: El compuesto 6A (200 mg, 0,22 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte a 0°C en 2 ml de DCM. Se añadió TFA (1 ml) gota a gota y el baño frío se retiró. La mezcla de reacción se agitó 1 hora a temperatura ambiente y después se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm), para producir 60 mg (26%, rendimiento en 2 etapas) del compuesto 6 en forma de un sólido de color blanco.

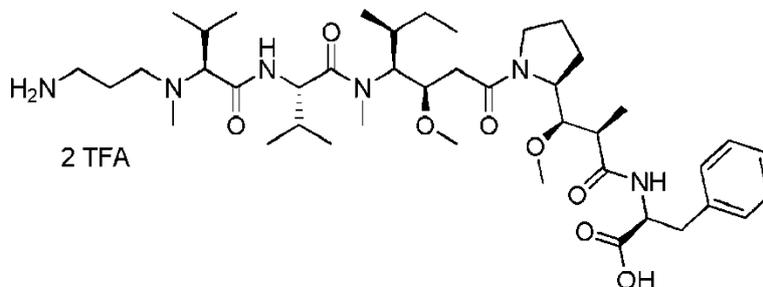
LC/MS/UV (Zorbax Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 1 ml/min, 40°C, de 30 a 80% de metanol en agua (H_3PO_4 al 0,1%) durante 18 minutos); ESI ($C_{43}H_{74}N_6O_8$, masa exacta 802,56) m/z : 804 (MH^+); 11,50 min (91,5%, 210 nm).

1H RMN (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 8,52 (d, 0,3H, NHCO intercambio incompleto); 8,25 (d, 0,5H, NHCO intercambio incompleto); 7,30-7,22 (m, 5H); 4,9-4,6 (m, 3H); 4,2-4,0 (m, 1H); 4,0-0,86 (m,

61H).

Ejemplo de referencia 7

- 5 **Ácido (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-aminopropil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoico, ácido bis trifluoroacético**



10

Ejemplo 7: El compuesto 6 (70 mg, 0,08 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una mezcla de agua (5 ml), ACN (2,5 ml) y piperidina (5 ml). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, después se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm), para producir 14,6 mg (21%) del compuesto 7 en forma de un sólido de color blanco.

15

LC/MS/UV (Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 1,5 ml/min, 40°C, de 0 a 80% de metanol en agua (TFA al 0,05%) durante 8 minutos); ESI ($C_{42}H_{72}N_6O_8$, masa exacta 788,54) m/z : 790 (MH^+), 5,71 min (96,83%, 210 nm).

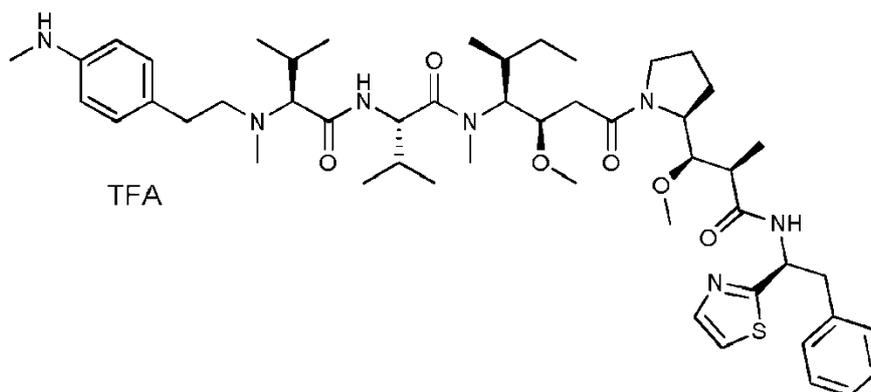
20

1H RMN (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 8,42 (d, 0,3H, NHCO intercambio incompleto); 8,15 (d, 0,2H, NHCO intercambio incompleto); 7,31-7,21 (m, 5H); 4,9-4,6 (m, 3H); 4,25-4,0 (m, 1H); 4,0-0,86 (m, 59H).

25

Ejemplo 11

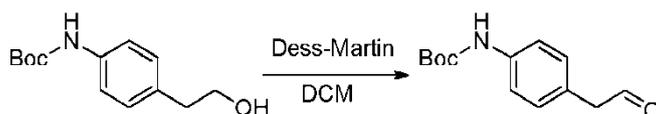
- 30 **(S)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((S)-2-fenil-1-(tiazol-2-il)etil)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metil(4-(metilamino)fenil)amino)butanamido)butanamida, ácido trifluoroacético**



- 35 **Ejemplo 11A: *tert*-butil N-[4-(2-hidroxi)etil]fenil] carbamato**

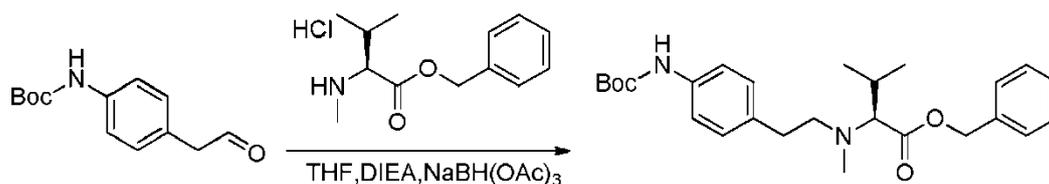
El compuesto 11A se obtuvo con un rendimiento del 75% después de la reacción a temperatura ambiente del 2-(4-aminofenil)etanol con BOC_2O en THF.

- 40 **Ejemplo 11B: *tert*-butil N-[4-(2-oxo)etil]fenil] carbamato**



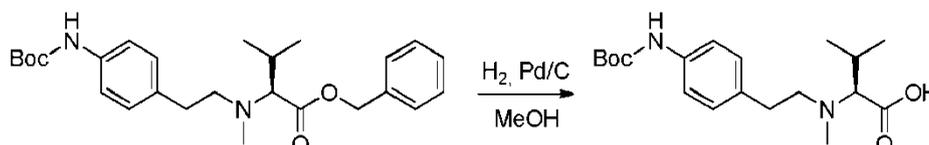
5 El compuesto 11A (2,5 g, 10,5 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 25 ml de DCM y a continuación se enfrió a -78°C. Una solución de Dess-Martin periodinano (DMP, 6,71 g, 15,8 mmoles, 1,5 equiv) en DCM (10 ml) se añadió gota a gota. El baño frío se retiró y la agitación continuó durante 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se neutralizó con 60 ml de una mezcla 50/50 de solución acuosa de bicarbonato de sodio saturado y solución acuosa saturada de Na₂S₂O₃. La solución resultante se extrajo 3 veces con 30 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron dos veces con solución acuosa saturada de NaCl, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó sobre gel de sílice (EtOAc/PE 1/15) para producir 1,0 g (40%) del compuesto 11B en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo 11C: bencil (2S)-2-[[2-(4-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino]fenil)etil](metil)amino]-3-metilbutanoato.



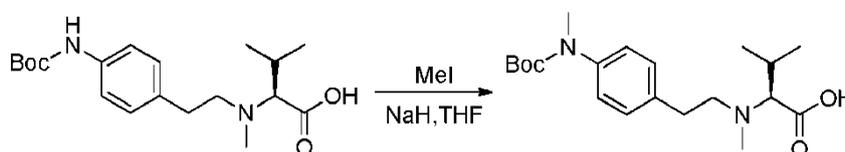
15 El compuesto 1ZC (3,5 g, 13,6 mmoles, 1,1 equiv) se disolvió en THF (30 ml) en presencia de DIEA (6,4 g, 49,7 mmoles, 4,0 equiv), aldehído 11B (2,9 g, 12,3 mmoles, 1,0 equiv) y triacetoxiborohidruro sódico (5,23 g, 49,7 mmoles, 2,0 equiv). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, a continuación se neutralizó con 60 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio. La solución resultante se extrajo 3 veces con 30 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron dos veces con solución acuosa saturada de NaCl, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó sobre gel de sílice (EtOAc/PE 1:20) para producir 3,7 g (68%) del compuesto 11C en forma de un aceite de color amarillo.

25 **Ejemplo 11D: Ácido (2S)-2-[[2-(4-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino]fenil)etil](metil)amino]-3-metilbutanoico**



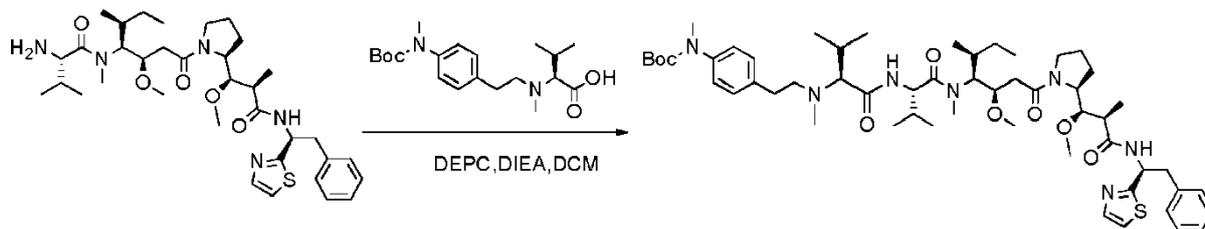
30 El compuesto 11C (2 g, 4,5 mmoles, 1 equiv) se disolvió en 10 ml de metanol en presencia de Pd/C (2 g) y se hidrogenó durante 2 horas a temperatura y presión normal. El medio de reacción se filtró y se concentró bajo presión reducida para producir 1,2 g (75%) del compuesto 11D en forma de un aceite de color amarillo.

35 **Ejemplo 11E: Ácido (2S)-2-[[2-(4-[[*tert*-butoxi]carbonil](metil)amino]fenil)etil](metil)amino]-3-metilbutanoico**



40 El compuesto 11D (1,2 g, 3,4 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en THF (20 ml). El medio de reacción se enfrió con un baño de hielo después de lo cual se añadió NaH (60% en aceite, 549 mg, 13,7 mmoles, 4,0 equiv) en porciones, seguido de yodometano (4,9 g, 34 mmoles, 10 equiv). La reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente, después se neutralizó con agua y se lavó con 100 ml de EtOAc. El pH de la solución acuosa se ajustó a 6-7 con HCl 1N. Esta solución acuosa se extrajo 3 veces con 100 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir 800 mg (64%) del compuesto 11E en forma de un sólido de color amarillo.

45 **Ejemplo 11F: *tert*-butil N-[4-(2-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[[[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-2-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]carbamoil]etil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]-2-metilpropil](metil)amino]etil]fenil]-N-metilcarbamoil**



5 El compuesto 11F se preparó de manera similar al compuesto 6A a partir de la amina 1Y (150 mg, 0,22 mmoles, 1,2 equiv) y el ácido 11E (70 mg, 0,19 mmoles, 1,0 equiv). Después de la purificación sobre gel de sílice (EtOAc/PE 1:1) se obtuvieron 100 mg (52%) del producto deseado en forma de un sólido de color amarillo pálido.

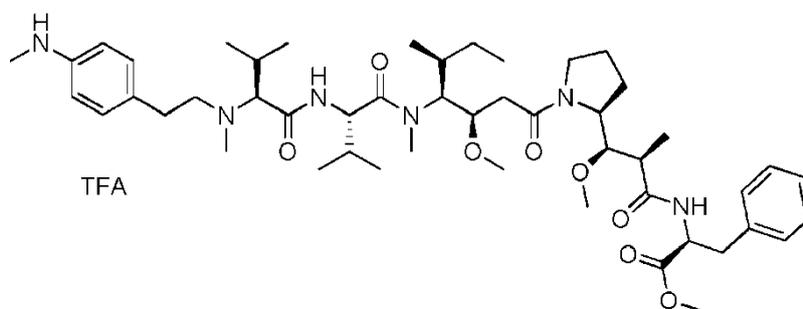
10 **Ejemplo 11:** El compuesto 11 se preparó de la misma manera que para el compuesto 1 a partir del producto intermedio 11F (100 mg, 0,1 mmoles). El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 11 se obtuvo con un rendimiento del 39% (39,7 mg) en forma de un sólido de color blanco.

15 LC/MS/UV (Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 1 ml/min, 40°C, de 50 a 95% de metanol en agua (TFA al 0,05%) durante 18 minutos); ESI (C₅₀H₇₇N₇O₆S, masa exacta 903,57) *m/z*: 904,5 (MH⁺), 7,53 min (93,68%, 254 nm).

20 ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD, *ppm*): δ (Presencia de rotámeros) 8,84 (d, 0,5H, NHCO intercambio incompleto); 8,7-8,5 (m, 0,9H, NHCO intercambio incompleto); 7,76-7,73 (m, 1H); 7,55-7,4 (m, 1H); 7,28-7,22 (m, 7H); 7,08-7,05 (m, 2H); 5,51-5,72 (m, 1H); 4,9-4,80 (m, 2H); 4,3-0,7 (m, 60H).

Ejemplo 12

25 **Metil (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metil(4-(metilamino)fenetil)amino)butanamido)butanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato, ácido trifluoroacético**



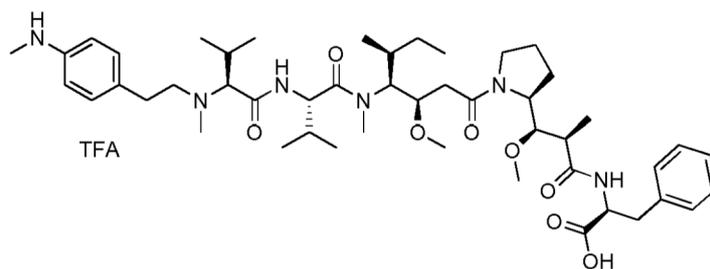
30 **Ejemplo 12:** De la misma manera que para las fases finales en la síntesis del compuesto 1, el compuesto 12 se preparó en dos etapas a partir de la amina 3D (118 mg, 0,19 mmoles) y el ácido 11E (82 mg, 0,22 mmoles). El residuo final se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 12 se obtuvo con un rendimiento del 7% (13,7 mg) en forma de un sólido de color blanco.

40 LC/MS/UV (Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 1 ml/min, 40°C, de 40 a 95% de metanol en agua (TFA al 0,05%) por 18 minutos); ESI (C₄₉H₇₈N₆O₈, masa exacta 878,59) *m/z*: 879,7 (MH⁺), 10,07 min (90,6%, 254 nm).

¹H: RMN (300 MHz, CD₃OD, *ppm*): δ (Presencia de rotámeros) 7,40 (se, 2H); 7,38-7,22 (m, 7H); 4,95-4,7 (m, 3H); 4,2-4,0 (m, 1H); 3,9-0,86 (m, 62H).

Ejemplo 13

45 **Ácido (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metil(4-(metilamino)fenetil)amino)butanamido)butanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoico, ácido trifluoroacético**



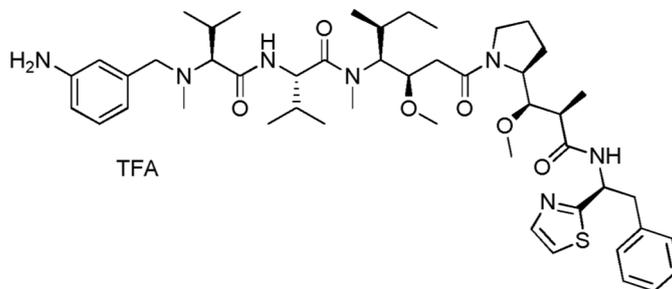
Ejemplo 13: El compuesto 13 se preparó de la misma manera que para el compuesto 7 a partir del compuesto 12 (100 mg, 0,10 mmoles). El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 13 se obtuvo con un rendimiento del 20% (20 mg) en forma de un sólido de color blanco.

LC/MS/UV (Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 1,5 ml/min, 40°C, de 10 a 95% de metanol en agua (TFA al 0,05%) durante 8 minutos); ESI ($C_{48}H_{76}N_6O_8$, masa exacta 864,57) m/z : 865,6 (MH^+), 6,05 min (90,9%, 210 nm).

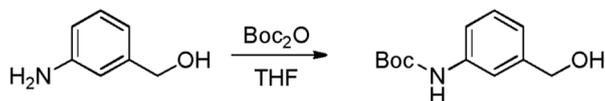
1H RMN: (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 7,32-7,19 (m, 9H); 4,9-4,65 (m, 3H); 4,2-4,0 (m, 1H); 3,9 a 0,86 (m, 59H).

Ejemplo 14

(S)-2-((S)-2-((3-aminobencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((S)-2-fenil-1-(tiazol-2-il)etil)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida, ácido trifluoroacético

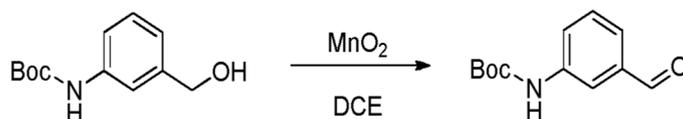


Ejemplo 14A: *tert*-butil (3-(hidroximetil)fenil)carbamato



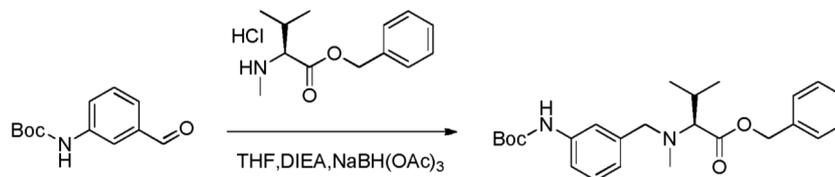
Se disuelve (3-aminofenil)metanol (3 g, 24,36 mmoles, 1,00 equiv) en THF (60 ml) después de lo cual se añadió di-*tert*-butil dicarbonato (6,38 g, 29,23 mmoles, 1,20 equiv). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente y después se diluyó la reacción mediante la adición de 200 ml de agua. El producto se extrajo 3 veces con 100 ml de AcOEt y las fases orgánicas se recombinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para producir el producto bruto (13,85 g del compuesto 14A) en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo 14B: *tert*-butil(3-formilfenil)carbamato



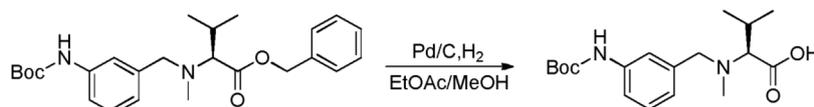
El compuesto 14A (13,8 g, 61,81 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en DCE (400 ml) y a continuación se añadió MnO₂ (54 g, 621,14 mmoles, 10,05 equiv). La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 días después de lo cual los sólidos se separaron por filtración. El filtrado se evaporó hasta sequedad y el residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:30) para producir 3 g (22%) del compuesto 14B en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 14C: bencil (S)-2-((3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)bencil)(metil)amino)-3-metilbutanoato



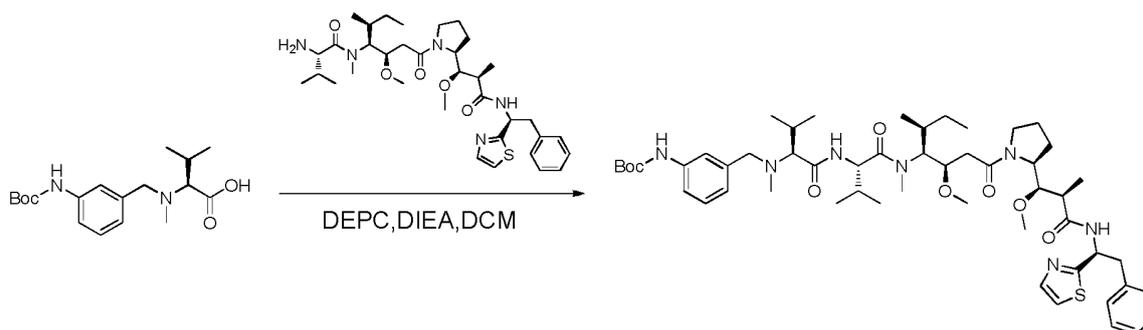
El compuesto 14B (1 g, 4,52 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 20 ml de THF en presencia del compuesto 1ZC (1,16 g, 4,50 mmoles, 1,00 equiv), DIEA (3 ml) y NaBH(OAc)₃ (1,92 g, 9,06 mmoles, 2,01 equiv). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente y después se neutralizó con 100 ml de agua y se extrajo 3 veces con 50 ml de AcOEt. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:50) para producir 1,9 g (99%) del compuesto 14C en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 14D: Ácido (S)-2-((3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)bencil)(metil)amino)-3-metilbutanoico



El compuesto 14C (1 g, 2,34 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 30 ml de AcOEt y 4 ml de metanol en presencia de Pd/C (400 mg) y se hidrogenó durante 1 hora a temperatura ambiente y presión atmosférica. El medio de reacción se filtró y se concentró bajo presión reducida para producir 680 mg (86%) del compuesto 14D en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 14E: *tert*-butil (3-((3S,6S,9S,10R)-9-((S)-*sec*-butil)-3,6-diisopropil-10-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-2-fenil-1-(tiazol-2-il)etil)amino)propil)pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-2,8-dimetil-4,7-dioxo-11-oxa-2,5,8-triazadodecil)fenil)carbamato



El compuesto 14E se sintetizó de la misma manera que para el compuesto 3 a partir de la amina 1Y (100 mg, 0,15 mmoles, 1,00 equiv), el ácido 14D (102,27 mg, 0,30 mmoles, 2,00 equiv), DEPC (0,053 ml) y DIEA (0,046 ml) en DCM (3 ml). El producto bruto (80 mg) se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:1) para producir 100 mg (67%) del compuesto 14E en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo 14: El compuesto 14 se sintetizó de la misma manera que para el compuesto 2 a partir del producto intermedio 14E (100 mg, 0,10 mmoles, 1,00 equiv). El producto bruto (80 mg) se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μm, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 14 se obtuvo con un rendimiento del 10% (10 mg) en forma de un sólido de color blanco.

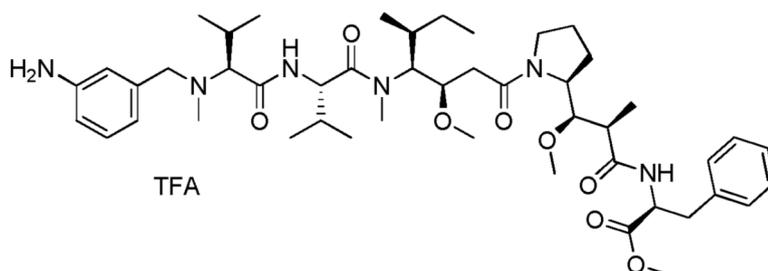
LC/MS/UV (columna Eclipse Plus C8, 3,5 μm , 4,6 x 150 mm; 40°C; 1,0 ml/min, de 40% a 95% de MeOH en agua (TFA al 0,05%) durante 18 minutos); ESI ($\text{C}_{48}\text{H}_{73}\text{N}_7\text{O}_6\text{S}$, masa exacta 875,5) m/z : 876,5 (MH^+) y 438,9 ($\text{M}_2\text{H}^+/2$, 100%), 11,35 min (95,6%, 210 nm).

5 ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 8,92-8,86 (m, 0,4H, NH intercambio incompleto); 8,70-8,54 (m, 0,6H, NH intercambio incompleto); 7,88-7,78 (m, 1H); 7,60-7,50 (m, 1H); 7,45-6,97 (m, 9H); 5,80-5,65 (m, 1H); 4,85-4,70 (m, 1H); 4,40-0,80 (m, 56H).

Ejemplo 15

10

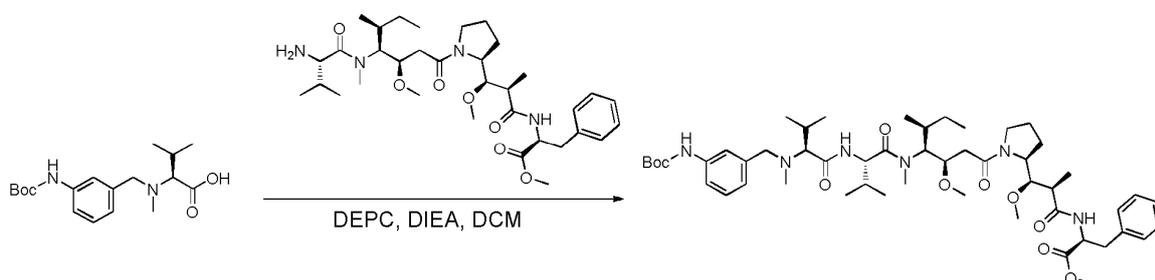
metil (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-aminobencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato, ácido trifluoroacético



15

Ejemplo 15A: metil (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-((terc-butoxicarbonil)amino)bencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetil-butano-amido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato

20



25

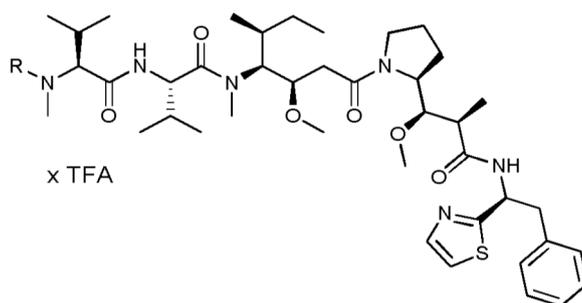
El compuesto 15A se sintetizó de la misma manera que para el compuesto 3 a partir de la amina 3D (200 mg, 0,32 mmoles, 1,00 equiv), el ácido 14D (212,6 mg, 0,63 mmoles, 2,00 equiv), DEPC (0,1103 ml) y DIEA (0,157 ml, 3,00 equiv) en DCM (5 ml). El producto bruto se purificó sobre una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:1) para producir 200 mg (67%) del compuesto 15A en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo 15: El compuesto 15 se sintetizó de la misma manera que para el compuesto 2 a partir del producto intermedio 15A (200 mg, 0,21 mmoles, 1,00 equiv). El producto bruto se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μm , 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 15 se obtuvo con un rendimiento del 19% (38,6 mg) en forma de un sólido de color blanco.

35 LC/MS/UV (columna Ascentis Express C18, 2,7 μm , 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/min, de 10% a 95% de MeOH en agua (TFA al 0,05%) durante 8 minutos); ESI ($\text{C}_{47}\text{H}_{74}\text{N}_6\text{O}_8$, masa exacta 850,5) m/z : 851,5 (MH^+) y 426,4 ($\text{M}_2\text{H}^+/2$, 100%), 6,61 min (91,1%, 210 nm).

40 ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 7,53-7,42 (m, 1H); 7,35-7,18 (m, 8H); 4,88-4,79 (m, 2H); 4,42-4,00 (m, 3H); 3,93-2,71 (m, 22H); 2,61-0,81 (m, 33H).

Ejemplos 16 al 20



Los compuestos 16 a 20 se prepararon de la misma manera que para el compuesto 1, a partir de las aminas 1Y y 1ZC y los aldehídos correspondientes.

El carbonato de *tert*-butil 4-formilfenilo involucrado en la preparación del compuesto 19 se preparó en una sola etapa de la siguiente manera: 4-hidroxibenzaldehído (2,5 g, 20,5 mmoles, 1,0 equiv) se disolvió en una atmósfera inerte en THF (20 ml) en la presencia de 18-corona-6 (0,25 g) y carbonato de potasio (5 g). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y a continuación se añadió el dicarbonato de di-*tert*-butilo (5,8 g, 26,58 mmoles, 1,30 equiv). La agitación continuó durante 1 hora a baja temperatura, después de lo cual la reacción se neutralizó con 30 ml de agua. La solución resultante se extrajo tres veces con 200 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó sobre gel de sílice (EtOAc/PE 1:10) y produjo 4,2 g (92%) de carbonato de *tert*-butil 4-formilfenilo en forma de un sólido de color amarillo pálido.

El 4-nitrobenzaldehído involucrado en la preparación del compuesto 20 era comercial.

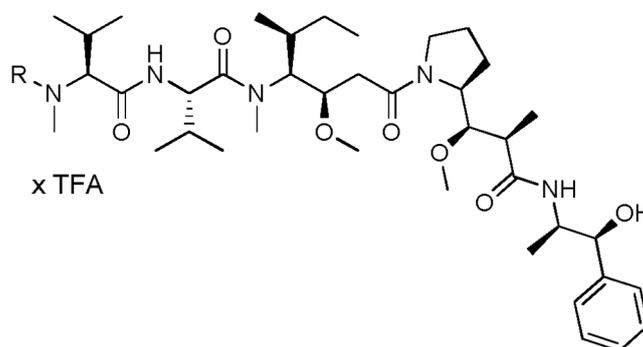
La síntesis del compuesto 20 se completó mediante la reducción del grupo nitro. Esto se realizó como se expone a continuación: (2S)-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-[(1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil]-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N,3-dimetil-2-[(2S)-3-metil-2-[metil[(4-nitrofenil)metil]amino]butanamido]butanamida (40 mg, 0,05 mmoles, 1,0 equiv) se disolvió en 15 ml de etanol. Se añadió cloruro de estaño dihidratado (II) (317 mg, 1,4 mmoles, 30 equiv) y la solución se dejó bajo agitación durante 3 días a temperatura ambiente. La reacción se neutralizó con 50 ml de agua, a continuación se extrajo tres veces con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para producir el compuesto 20 en estado bruto.

Nº	Nombre	x	R	Pureza*	Cantidad
19	(S)-2-((S)-2-((4-hidroxibencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-2-fenil-1-(tiazol-2-il)etil)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida, ácido trifluoroacético	1		93,2%	21,6 mg
20	(S)-2-((S)-2-((4-aminobencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-2-fenil-1-(tiazol-2-il)etil)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida, ácido trifluoroacético	1		96,7%	21,1 mg

* Los compuestos se purificaron por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 µm, 19 x 150 mm; Fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm), para producir las sales de TFA correspondiente en forma de sólidos de color blanco.

Caracterización de los productos finales: Compuesto **19** LC/MS/UV ESI: (C₄₈H₇₂N₆O₇S, masa exacta 876,52) m/z 877 (MH⁺), 439 [100%, (M.2H⁺)/2]; UV: RT = 1,76 min (93,2%, 220 nm). Compuesto **20** ¹H RMN: (400 MHz, CD₃OD, ppm): δ (Presencia de rotámeros) 7,85-7,80 (m, 1H); 7,6-7,5 (m, 1H); 7,4-7,15 (m, 5H); 7,1-7,05 (m, 2H); 6,73-6,70 (m, 2H); 5,8-5,55 (m, 1H); 5,0-4,7 (m, 2H); 4,25-4,05 (m, 1H); 4,0-0,8 (m, 54H). LC/MS/UV ESI: (C₄₈H₇₃N₇O₇S, masa exacta 875,53) m/z 876 (MH⁺), 439 [75%, (M.2H⁺)/2]; UV: RT = 4,83 min (96,8%, 254 nm). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD, ppm): δ (Presencia de rotámeros) 7,85-7,80 (m, 1H); 7,6-7,5 (m, 1H); 7,4-7,1 (m, 7H); 6,76-6,72 (m, 2H); 5,8-5,55 (m, 1H); 4,9-4,65 (m, 2H); 4,25-4,05 (m, 1H); 4,0-0,8 (m, 54H).

Ejemplos 23 y 24



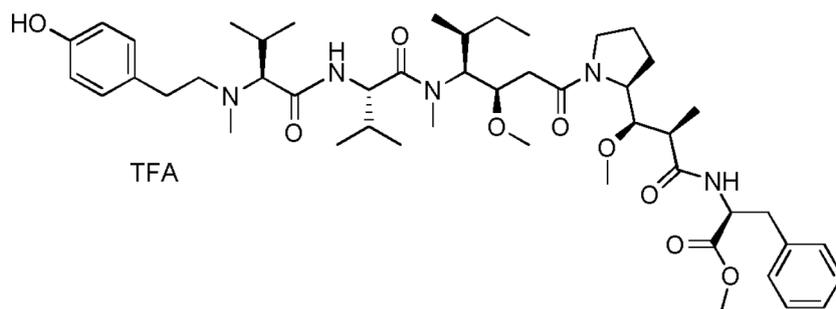
- 5 Los compuestos 23 y 24 se prepararon de la misma manera que para los compuestos 19 y 20, reemplazando a la amina 1Y por la amina 2D.

Nº	Nombre	x	R	Pureza*	Cantidad
23	(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-((4-hidroxibencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida, ácido trifluoroacético	1		98,5%	5,8 mg
24	(S)-2-((S)-2-((4-aminobencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida, ácido trifluoroacético	1		99,1%	6,9 mg

- 10 * Los compuestos se purificaron por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm), para producir las sales de TFA correspondiente en forma de sólidos de color blanco.
- 15 Caracterización de los productos finales: Compuesto 23 LC/MS/UV (ESI) ($C_{46}H_{73}N_5O_8$, masa exacta 823,55) m/z 824 (MH^+), 846 (MNa^+), 413 (100%, ($M.2H^+$)/2); UV: 4,76 min (98,5%, 215 nm). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ (Presencia de rotámeros) 7,5-7,2 (m, 5H); 7,9-7,75 (m, 2H); 5,5-5,3 (m, 1H); 4,9-4,6 (m, 2H); 4,55-4,15 (m, 4H); 4,0-0,8 (m, 55H). Compuesto 24 LC/MS/UV (ESI) ($C_{46}H_{74}N_6O_7$, masa exacta 822,56) m/z 823 (MH^+), 845 (MNa^+), 861 (MK^+); UV: 3,68 min (99,15%, 254 nm). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 8,0-7,7 (m, 0,5H, NHCO intercambio incompleto); 7,5-7,0 (m, 7H); 6,75-6,65 (m, 2H); 4,85-4,5 (m, 2H); 4,4-4,05 (m, 2H); 4,0-0,8 (m, 56H).

Ejemplo 27

- 25 metil (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-hidroxifenil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato, ácido trifluoroacético



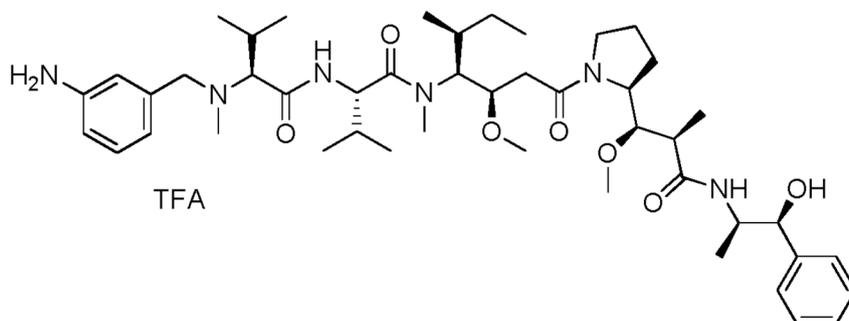
Ejemplo 27: El compuesto **27** se preparó de la misma manera que para el compuesto **3** a partir de la amina **3D** (70 mg, 0,11 mmoles, 1,00 equiv), el ácido **49C** (55,5 mg, 0,22 mmoles, 2,00 equiv), DEPC (0,034 ml, 2,00 equiv) y DIEA (0,055 ml, 3,00 equiv) en DCM (3 ml). El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 45% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm). El compuesto **27** se obtuvo con un rendimiento del 3% (2,9 mg) en forma de un sólido de color blanco.

LC/MS/UV (columna Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 40°C; 1,5 ml/min, de 10% a 95% de MeOH en agua (TFA al 0,05%) durante 8 minutos); ESI ($C_{48}H_{75}N_5O_9$, masa exacta 866,56) m/z : 866,5 (MH^+) y 433,9 ($M.2H^+/2$, 100%), 6,61 min (89,1%, 210 nm).

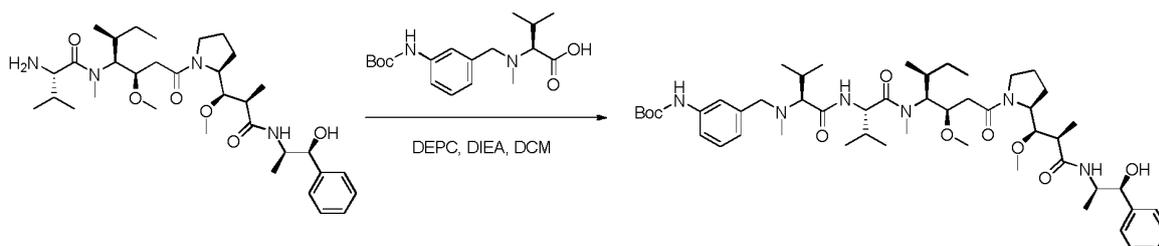
1H RMN (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 8,70-8,49 (m, 0,9H, NH/OH intercambio incompleto); 8,30-8,22 (m, 0,3H, NH intercambio incompleto); 7,36-7,02 (m, 7H); 6,86-6,62 (m, 2H); 4,82-4,69 (m, 2H); 4,20-4,03 (m, 1H); 3,91-3,33 (m, 12H); 3,30-2,90 (m, 17H); 2,55-0,80 (m, 35H).

Ejemplo 28

(S)-2-((S)-2-((3-aminobencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida, ácido trifluoroacético



Ejemplo 28A: *terc*-butil (3-((3S,6S,9S,10R)-9-((S)-*sec*-butil)-10-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-3,6-diisopropil-2,8-dimetil-4,7-dioxa-11-oxa-2,5,8-triazadodecil)fenil)carbamato



El compuesto **28A** se preparó de la misma manera que para el compuesto **3** a partir de la amina **2D** (100 mg, 0,17 mmoles, 1,00 equiv), el ácido **14D** (111,25 mg, 0,33 mmoles, 2,00 equiv), DEPC (0,058 ml) y DIEA (0,05 ml) en DCM (3 ml). El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y hexano (1:1) para

producir 100 mg (66%) del compuesto 28A en forma de un sólido de color blanco.

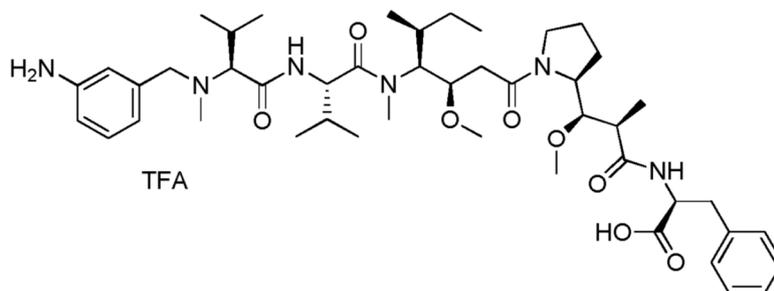
Ejemplo 28: El compuesto 28 se sintetizó de la misma manera que para el compuesto 2 a partir del producto intermedio 28A (100 mg, 0,11 mmoles, 1,00 equiv). El producto bruto (80 mg) se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 28 se obtuvo con un rendimiento del 20% (20 mg) en forma de un sólido de color blanco.

LC/MS/UV (columna Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/min, de 10% a 95% de MeOH en agua (TFA al 0,05%) durante 8 minutos); ESI (C₄₆H₇₄N₆O₇, masa exacta 822,56) *m/z*: 823,5 (MH⁺) y 412,4 (M.2H⁺/2, 100%), 12,45 min (87,2%, 210 nm).

¹H RMN: (400 MHz, CD₃OD, *ppm*): δ (Presencia de rotámeros) 7,47-7,20 (m, 5H); 7,10-7,01 (m, 1H); 6,80-6,56 (m, 3H); 4,82-4,52 (m, 3H); 4,33-4,03 (m, 2H); 3,91-3,82 (m, 0,5H); 3,75-3,35 (m, 9,5H); 3,28-3,10 (m, 2H); 2,79-2,90 (m, 1H); 2,60-2,40 (m, 2H); 2,30-0,80 (m, 40H).

Ejemplo 29

Ácido (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-aminobencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoico, ácido trifluoroacético



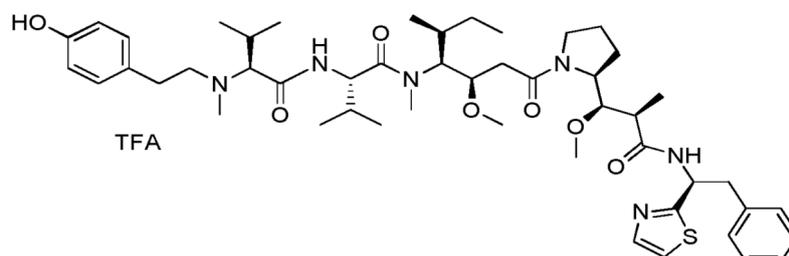
Ejemplo 29: El compuesto 15 (100 mg, 0,10 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en una mezcla de agua (5 ml), ACN (5 ml) y piperidina (2,5 ml). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente y después se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm), para producir 20 mg (20%) del compuesto 29 en forma de un sólido de color blanco.

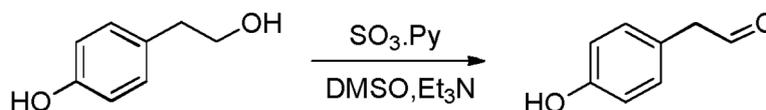
LC/MS/UV (columna Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 40°C; 1,0 ml/min, de 40% a 95% de MeOH en agua (TFA al 0,05%) durante 18 minutos); ESI (C₄₆H₇₂N₆O₈, masa exacta 836,54) *m/z*: 837,5 (MH⁺) y 419,4 (M.2H⁺/2, 100%), 10,61 min (92,5%, 210 nm).

¹H RMN: (400 MHz, CD₃OD, *ppm*): δ (Presencia de rotámeros) 7,38-7,15 (m, 6H); 7,00-6,99 (m, 3H); 4,85-4,68 (m, 2H); 4,37-3,38 (m, 11H); 3,31-2,70 (m, 8H); 2,60-0,82 (m, 35H).

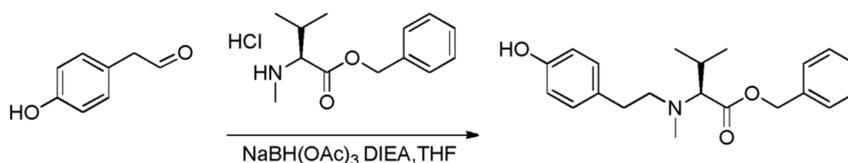
Ejemplo 49

(S)-2-((S)-2-((4-hidroxifenil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((S)-2-fenil-1-(tiazol-2-il)etil)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida, ácido trifluoroacético

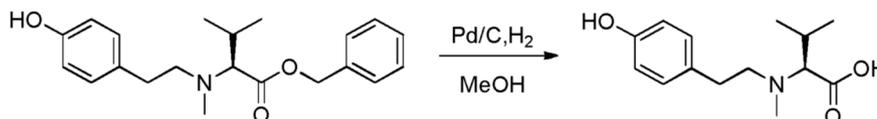


Ejemplo 49A: 2-(4-hidroxifenil)acetaldehído

5 Se disolvió 4-(2-hidroxietil)fenol (4 g, 28,95 mmoles, 1,00 equiv) en DMSO (32 ml) y a continuación se añadió TEA (8,8 ml, 2,20 equiv.) gota a gota. Se agregó una solución de SO₃·Py (10 g, 2,20 equiv) en DMSO (36 ml) y la mezcla se dejó bajo agitación durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó con 250 ml de agua y se extrajo 3 veces con 100 ml de AcOEt. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron 5
10 veces con agua (100 ml), después dos veces con 150 ml de NaCl (sat.), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó sobre gel de sílice (EtOAc/PE (1:10)) para producir 1 g (25%) del compuesto 49A en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo 49B: bencil ((S)-2-((4-hidroxifenil)(metil)amino)-3-metilbutanoato

15 El compuesto 49B se sintetizó de la misma manera que para el compuesto 14C a partir de la amina 1ZC (1,5 g, 5,82 mmoles, 0,99 equiv), el aldehído 49A (800 mg, 5,88 mmoles, 1,00 equiv), NaBH(OAc)₃ (2,7 g, 12,74 mmoles, 2,17 equiv) y DIEA (4,23 ml) en THF (25 ml). La mezcla de reacción se neutralizó con 50 ml de agua y se extrajo 3 veces con 50 ml de AcOEt. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó sobre gel de sílice (EtOAc/PE (1:10)) para producir 600
20 mg (37%) del compuesto 49B en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 49C: Ácido ((S)-2-((4-hidroxifenil)(metil)amino)-3-metilbutanoico

25 El compuesto 49B (0,5 g, 1,46 mmoles, 1,00 equiv) se disolvió en 40 ml de MeOH en presencia de Pd/C (250 mg) y se hidrogenó durante 3 horas a temperatura ambiente y presión atmosférica. El medio de reacción se filtró y se concentró bajo presión reducida para producir 0,4 g del compuesto 49C en forma de un sólido de color blanco.
30

35 **Ejemplo 49:** El compuesto 49 se sintetizó de la misma manera que para el compuesto 3 a partir de la amina 1Y (53,4 mg, 0,08 mmoles, 2,00 equiv), el ácido 49C (70 mg, 0,28 mmoles, 1,00 equiv), DEPC (0,032 ml, 2,00 equiv) y DIEA (0,053 ml, 3,00 equiv) en DCM (3 ml). El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna Atlantis Prep OBD T3, 5 μm, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 45% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 45% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm), para producir 3 mg (1%) del compuesto 49 en forma de un sólido de color blanco.
40

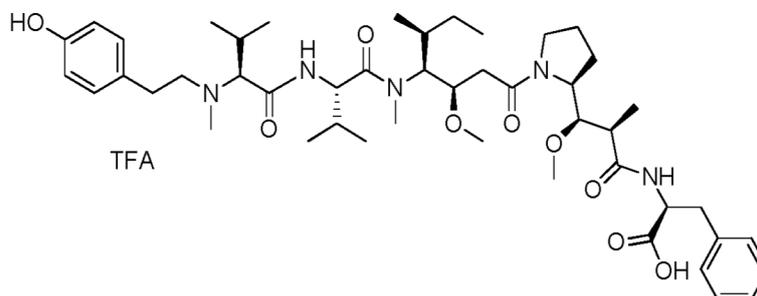
45 LC/MS/UV (columna Ascentis Express C18, 2,7 μm, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/min, de 10% a 95% de MeOH en agua (TFA al 0,05%) durante 8 minutos); ESI (C₄₉H₇₄N₆O₇S, masa exacta 890,5) *m/z*: 891,5 (MH⁺) y 446,4 (M.2H⁺/2, 100%), 6,69 min (100%, 210 nm).

¹H RMN: (400 MHz, CD₃OD, ppm): δ (Presencia de rotámeros) 8,92-8,87 (m, 0,5H, NHCO, intercambio incompleto), 8,70-8,63 (m, 0,4H, NHCO, intercambio incompleto), 8,85-8,77 (m, 1H), 7,59-7,51 (m, 1H), 7,35-7,03 (m, 7H), 6,82-6,71 (m, 2H), 5,77-5,58 (m, 1H), 5,81-5,70 (m, 1H), 4,21-0,80 (m, 58H).
50

Ejemplo 50

Ácido ((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-hidroxifenil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-

fenilpropanoico, ácido trifluoroacético



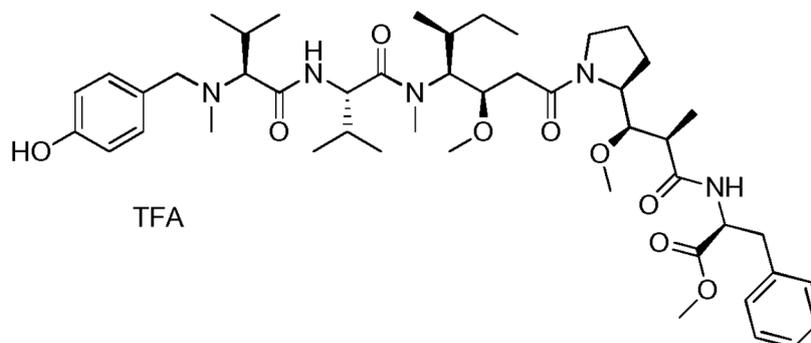
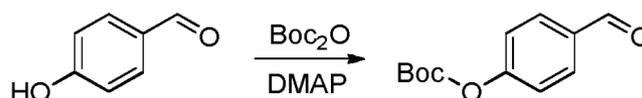
5 **Ejemplo 50:** El compuesto 50 se preparó de la misma manera que para el compuesto 4, a partir del compuesto 27 (100 mg, 0,10 mmoles, 1,00 equiv). El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, columna Atlantis Prep OBD T3, 5 μ m, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 20% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 100% de ACN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm), para producir 10,7 mg (11%) del compuesto 50 en forma de un sólido de color blanco.

LC/MS/UV (columna Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/min, de 10% a 95% de MeOH en agua (TFA al 0,05%) durante 8 minutos); ESI ($C_{47}H_{73}N_5O_9$, masa exacta 851,5) m/z : 852,5 (MH^+) y 426,8 ($M.2H^+/2$, 100%), 6,46 min (91,7%, 210 nm).

15 1H RMN: (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (Presencia de rotámeros) 7,34-7,15 (m, 5H); 7,15-7,04 (se, 2H), 6,82-6,83 (m, 2H), 4,83-4,70 (m, 1H), 4,21-4,00 (m, 1H), 3,90-3,80 (m, 1H), 3,74-3,62 (m, 1H), 3,57-2,86 (m, 20H), 2,56-0,80 (m, 36H).

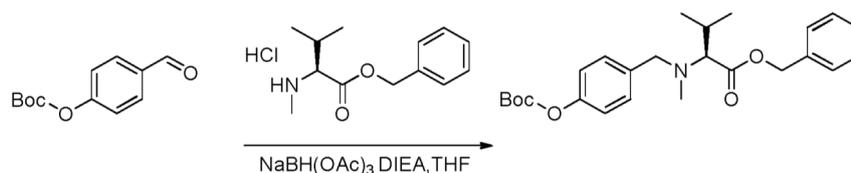
20 **Ejemplo 51**

metil (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-hidroxibencil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato, ácido trifluoroacético

Ejemplo 51A: *terc*-butil (4-formilfenil)carbonato

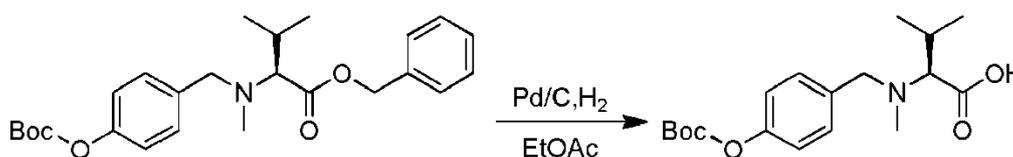
30 Se disuelve 4-hidroxibenzaldehído (3,0 g, 24 mmoles) en 30 ml de DCM en presencia de 4-DMAP (300 mg, 2,46 mmoles, 0,1 equiv.) y di-*terc*-butilo dicarbonato (5,35 g, 24 mmoles, 1,0 equiv.) y se agitó 1 hora a temperatura ambiente. Después, la solución se diluyó con 200 ml de agua y se extrajo 3 veces con 100 ml de DCM. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para producir 5 g (92%) del compuesto **51A** en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 51B: bencil (S)-2-((4-((*terc*-butoxicarbonil)oxi)bencil)(metil)amino)-3-metilbutanoato



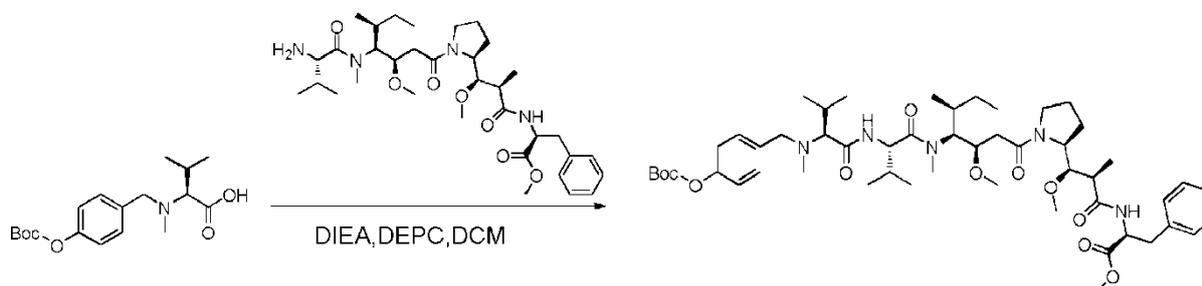
El compuesto 51A (220 mg, 0,99 mmoles) se disolvió en 5 ml de THF en presencia del compuesto 1ZC (255 mg, 0,99 mmoles, 1,0 equiv.), NaBH(OAc)₃ (420 mg, 2 mmoles, 2,0 equiv.) y DIEA (654 μl) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después, la solución se diluyó con 100 ml de agua y se extrajo 3 veces con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó en una columna de sílice con una mezcla de EtOAc y PE (1:100) para producir 200 mg (47%) del compuesto 51B en forma de un sólido de color blanco.

10 Ejemplo 51C: Ácido (S)-2-((4-((*tert*-butoxicarbonil)oxi)encil)(metil)amino)-3-metil butanoico



El compuesto 51C se preparó por hidrogenación del compuesto 51B (200 mg), siguiendo el protocolo utilizado para la preparación del compuesto 3F.

20 Ejemplo 51D: metil(S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((*tert*-butoxicarbonil)oxi)encil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-3-fenilpropanoato



El compuesto 51D se preparó mediante el acoplamiento del compuesto 51C con la amina 3D, siguiendo el protocolo utilizado para la preparación del compuesto 3 para obtener el producto deseado en forma de aceite de color amarillo con un rendimiento del 60%.

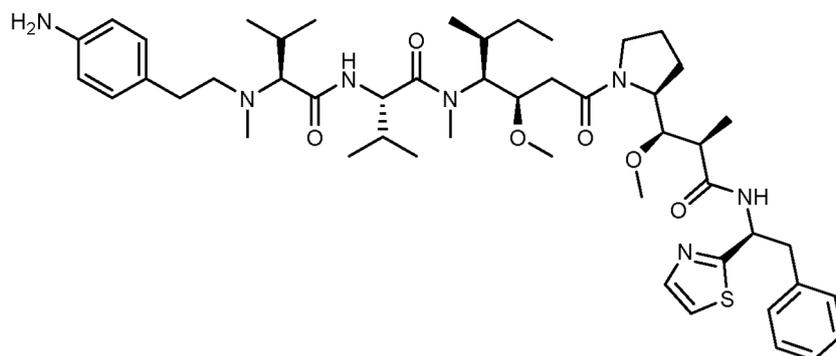
Ejemplo 51: El compuesto 51D (80 mg, 0,08 mmoles) se disolvió en 1 ml de DCM en presencia de 0,5 ml de TFA, se agitó 2 horas a temperatura ambiente y después se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Pre-HPLC-010, columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μm, 19 x 150 mm; fase de elución: agua/ACN con pH regulado con TFA al 0,05%; gradiente de 23% a 40% de ACN durante 10 minutos y a continuación de 40% a 95% de ACN durante 2 minutos; detector UV Waters 2489 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 51 se obtuvo con un rendimiento del 24% (20 mg) en forma de un sólido de color blanco.

LC/MS/UV (Zorbax SB-Aq, 1,8 μm, 4,6 x 100 mm; MeOH al 2% en agua (TFA al 0,05%) durante 1 minuto y a continuación de 2% a 95% de MeOH durante 13 minutos); ESI (C₄₇H₇₃N₅O₉, masa exacta 851,54) *m/z*: 874,5 (MNa⁺), 426,9 (M.2H⁺/2); 12,48 min (96%, 210 nm).

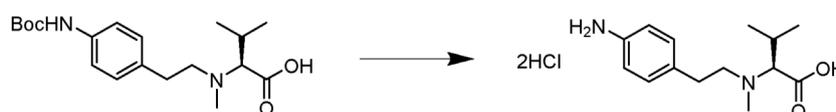
¹H RMN: (300 MHz, CD₃OD, ppm): δ (Presencia de rotámeros) 8,1-8,6 (m, 0,9H, NHCO intercambio incompleto); 7,29-7,27 (m, 2H), 7,25-6,86 (m, 5H), 6,84-6,83 (m, 2H), 4,83-4,72 (m, 3H), 4,26-0,82 (m, 58H).

45 Ejemplo 61

(S)-2-((S)-2-((4-aminofenil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((S)-2-fenil-1-(tiazol-2-il)etil)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida



Ejemplo 61A: diclorhidrato de *N*-(4-aminofenil)-*N*-metil-*L*-valina



5

El compuesto 11D (962 mg, 2,75 mmoles) se disolvió en 10 ml de una solución comercialmente disponible de HCl en propan-2-ol (5 - 6 M), y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El análisis por TLC indicó el consumo completo del material de partida. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el sólido amarillo resultante se trituró con Et₂O (2 x 10 ml). El producto se secó bajo vacío para proporcionar el compuesto 61A como un sólido amarillo (322 mg, 47%).

10

Ejemplo 61: El ácido carboxílico 61A (73 mg, 0,23 mmoles, 1 eq) y amina 1Y (150 mg, 0,23 mmoles, 1 eq) se disolvieron en DMF seco (2 ml). Se añadieron DIEA (158 µl, 0,90 mmoles, 4 eq.) y DECP (51 µl, 0,34 mmoles, 1,5 eq.) y la reacción se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. El análisis por LC-MS mostró el consumo completo del material de partida. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (DCM/MeOH) para proporcionar el compuesto 61 como un sólido de color amarillo claro (83 mg, 40%).

15

¹H RMN: (500 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ (Presencia de rotámeros), 8,86 (d, 0,5H, NHCO); 8,65 (d, 0,5H, NHCO), 8,11-8,05 (m, 1H, NHCO), 7,80 (d, 0,5H, tiazol), 7,78 (d, 0,5H, tiazol), 7,65 (d, 0,5H, tiazol), 7,63 (d, 0,5H, tiazol), 7,32-7,12 (m, 5H), 6,83 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,45 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 5,56-5,49 (m, 0,5H), 5,42-5,35 (m, 0,5H), 4,78 (s, 2H, NH₂), 4,74-4,46 (m, 2H), 4,01-0,66 (m, 57H).

20

HPLC (XBridge Shield C18, 3,5 µm, 4,6 x 50 mm; 3,5 ml/min, 40°C, de 0 a 95% de MeCN en agua (TFA al 0,1%) durante 2,25 minutos y a continuación 95% de MeCN durante 0,5 minutos, Tr = 1,31 min (96,5%, 220 nm).

25

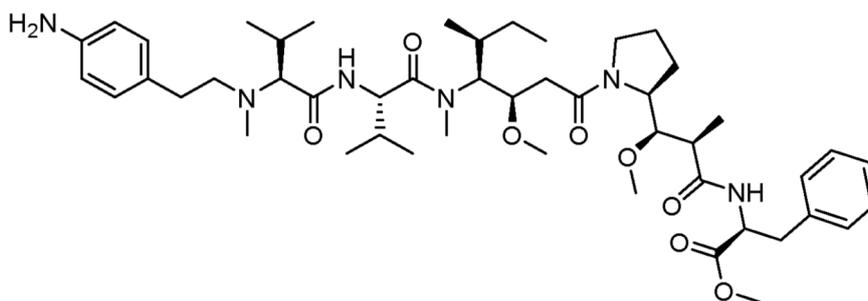
m/z (Q-TOF ESI⁺) 890,5558 (2%, MH⁺, C₄₉H₇₆N₇O₆S requiere 890,5572), 445,7834 (100%, (MH₂)²⁺, C₄₉H₇₇N₇O₆S requiere 445,7823).

30

Ejemplo 62

Metil ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-aminofenil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)-*L*-fenilalaninato

35



Ejemplo 62: El compuesto 62 se preparó de la misma manera que para el compuesto 61, utilizando ácido carboxílico 61A (69 mg, 0,21 mmoles, 1 eq), amina 3D (135 mg, 0,21 mmoles, 1 eq), DIEA (75 µl, 0,43 mmoles, 2 eq.) y DECP (49 µl, 0,32 mmoles, 1,5 eq.). El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel

40

de sílice (DCM/MeOH) para proporcionar el compuesto 62 como un sólido de color amarillento (82 mg, 45%).

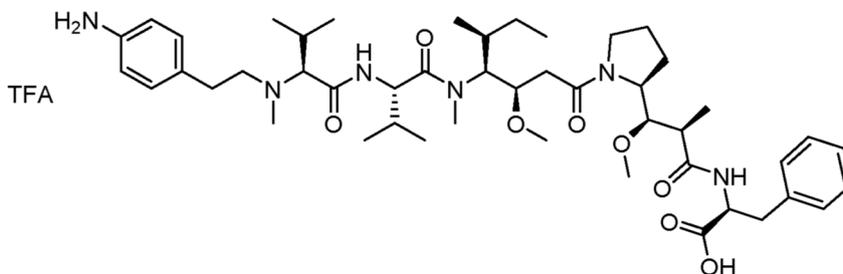
^1H RMN: (500 MHz, DMSO- d_6 , ppm): δ (Presencia de rotámeros), 8,50 (d, $J=8,3$, 0,5H, NHCO); 8,27 (d, $J=8,0$, 0,5H, NHCO), 8,15-8,04 (m, 1H, NHCO), 7,27-7,13 (m, 5H), 6,86-6,79 (m, 2H), 6,48-6,42 (m, 2H), 4,78 (s, 2H, NH₂), 4,74-4,44 (m, 3H), 4,01-3,72 (m, 1,5H), 3,66 (s, 1,5H, CO₂Me), 3,63 (s, 1,5H, CO₂Me), 3,57-0,65 (m, 55,5H).

HPLC (XBridge Shield C18, 3,5 μm , 4,6 x 50 mm; 3,5 ml/min, 40°C, de 0 a 95% de MeCN en agua (TFA al 0,1%) durante 2,25 minutos y a continuación MeCN al 95% durante 0,5 minutos, Tr = 1,29 min (95,3%, 220 nm).

m/z (Q-TOF ESI⁺) 865,5800 (2%, MH⁺, C₄₈H₇₇N₆O₈ requiere 865,5797), 433,2937 (100%, (MH₂)²⁺, C₄₈H₇₈N₆O₈ requiere 433,2935).

Ejemplo 63

((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-aminofenil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)-L-fenilalanina-2,2,2-trifluoroacetato



Ejemplo 63: El compuesto 62 (23 mg, 0,03 mmoles) se disolvió en una mezcla de agua (1 ml) y acetonitrilo (1 ml). Se añadió piperidina (0,75 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. El análisis por TLC indicó el consumo completo del material de partida. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo se purificó por HPLC preparativa (columna SunFire Prep C18 OBD, 5 μm , 19 x 150 mm; fase móvil: agua/MeCN con pH regulado con TFA al 0,1%; gradiente de 20% a 40% de MeCN durante 10 minutos, a continuación, del 40% al 100% de MeCN durante 2 minutos; Detector UV Waters 2545 a 254 nm y 220 nm). El compuesto 63 se obtuvo como un sólido blanco (14 mg, 66%).

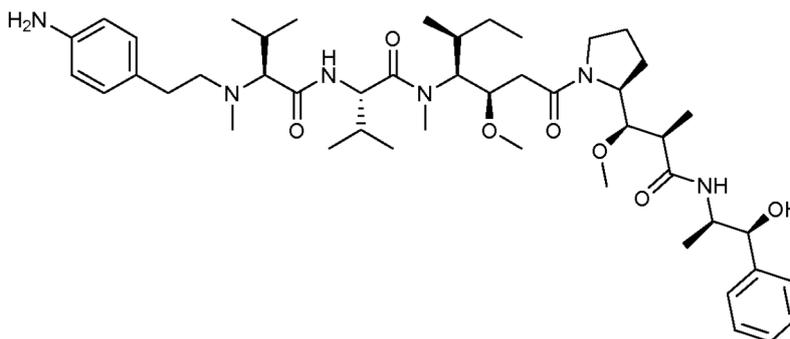
^1H RMN: (500 MHz, DMSO- d_6 , ppm): δ (Presencia de rotámeros), 12,7 (s(br), 1H, CO₂H), 9,58 (m(br), 1H); 9,04-8,89 (m, 1H), 8,41 (d, 0,6H, NHCO), 8,15 (d, 0,4H, NHCO), 7,27-7,13 (m, 5H), 7,13-6,99 (m(br), 2H), 6,90-6,64 (s(br), 2H), 4,77-3,40 (m, 10H), 3,34-2,75 (m, 20H), 2,34-1,94 (m, 4H), 1,90-0,7 (m, 25H).

HPLC (XBridge Shield C18, 3,5 μm , 4,6 x 50 mm; 3,5 ml/min, 40°C, de 0 a 95% de MeCN en agua (TFA de 0,1%) durante 2,25 minutos y a continuación 95% de MeCN durante 0,5 minutos, Tr = 1,24 min (100%, 220 nm).

m/z (Q-TOF ESI⁺) 851,5641 (6%, MH⁺, C₄₇H₇₅N₆O₈ requiere 851,5641), 426,2854 (100%, (MH₂)²⁺, C₄₇H₇₆N₆O₈ requiere 426,2857).

Ejemplo 64

((S)-2-((S)-2-((4-aminofenil)(metil)amino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida



El compuesto 64 se preparó de la misma manera que para el compuesto 61, utilizando ácido carboxílico 61A (93 mg, 0,29 mmoles, 1 eq.), amina 2D (174 mg, 0,29 mmoles, 1 eq.), DIEA (100 μ l, 0,58 mmoles, 2 eq.) y DECP (66 μ l, 0,43 mmoles, 1,5 eq.). El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (DCM/MeOH) para proporcionar el compuesto 64 como un sólido de color blanquecino (51 mg, 21%).

^1H RMN: (500 MHz, DMSO- d_6 , ppm): δ (Presencia de rotámeros), 9,61 (m(br), 1H); 9,05-8,89 (m, 1H), 7,93 (d, 0,6H, NHCO), 7,64 (d, 0,4H, NHCO), 7,36-6,98 (m, 7H), 6,92-6,70 (m(br), 2H), 5,45 (s(br), 1H), 4,80-4,41 (m, 3H), 4,06-3,44 (m, 4H), 3,37-2,79 (m, 18H), 2,45-2,21 (m, 3H), 2,17-0,70 (m, 35H).

HPLC (XBridge Shield C18, 3,5 μ m, 4,6 x 50 mm; 3,5 ml/min, 40°C, de 0 a 95% de MeCN en agua (TFA al 0,1%) durante 2,25 minutos y a continuación 95% de MeCN durante 0,5 minutos, Tr = 1,20 min (100%, 220 nm).

m/z (Q-TOF ESI $^+$) 837,5826 (33%, MH $^+$, C $_{47}$ H $_{77}$ N $_6$ O $_7$ requiere 837,5848), 419,2956 (100%, (MH $_2$) $^{2+}$, C $_{47}$ H $_{76}$ N $_6$ O $_8$ requiere 419,2961).

II - La actividad biológica de los compuestos de la invención

Método:

Cultivo de células. Las células A549 (células no pequeñas de cáncer de pulmón - ATCC CCL-185) y MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama - ATCC HTB-26) se cultivaron en medio esencial mínimo de Eagle (MEM) con 5% de suero de ternera fetal (FCS) y medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) con 10% de FCS, respectivamente. Las células MCF7 (carcinoma ductal de mama - ATCC HTB-22) y SN-12C (carcinoma de riñón - ATCC) se mantuvieron en medio RPMI1640 (sin rojo fenol para las células MCF7) que contenía 10% de FCS. Todos los medios fueron suplementados con fungizona (1,25 μ g/ml) y penicilina-estreptomicina (100 U/100 μ g/ml). Las células se cultivaron bajo condiciones estándar en una incubadora a 37°C, 5% de CO $_2$ y 95% de humedad atmosférica.

Actividad antiproliferativa en 4 estirpes celulares tumorales. Los compuestos según la invención se investigaron para su actividad antiproliferativa utilizando un ensayo de proliferación ATPlite (Perkin Elmer, Villebon sur Yvette, Francia) en un amplio panel de 4 estirpes celulares. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos (10 3 células/pocillo para A549, 2 \cdot 10 3 para MCF7, MDA-MB-231 y SN12C) al día 0 a una concentración para asegurar que las células permanecieran en fase de crecimiento celular logarítmico a lo largo del período de tratamiento de fármacos de 72 h. Después de un período de incubación de 24 horas, todas las células se trataron con diluciones seriadas de los compuestos ensayados (11 μ l de una solución 10X en DMSO al 1% - 6 pocillos/condición). Para evitar la adherencia de los compuestos sobre las puntas, las puntas se cambiaron entre dos diluciones consecutivas. Las células se colocaron entonces en una incubadora a 37°C y 5% de CO $_2$. Al día 4, la viabilidad celular se evaluó mediante la dosificación de la ATP liberada por las células viables. Se analizó el número de células viables en comparación con el número de células tratadas con el disolvente. Se determinaron los valores de EC $_{50}$ con el análisis de ajuste de curva (modelo de regresión no lineal con una respuesta de dosis sigmoidal, coeficiente de pendiente variable de Hill), realizado con el algoritmo proporcionado por el software GraphPad (GraphPad Software Inc., CA, EUA).

Resultados:

Diversos compuestos:

Los diversos compuestos según la invención se sometieron a ensayo para determinar su actividad antiproliferativa sobre la estirpe celular MDA-MB-231 siguiendo el método anteriormente descrito. Las actividades medidas dieron valores de EC $_{50}$ < 0,1 μ M.

Los pocos ejemplos siguientes, seleccionados de entre los compuestos según la invención, ilustran sus

propiedades antiproliferativas completamente excepcionales:

Ejemplo 12: $EC_{50} = 5,80 \times 10^{-10}$ M; Ejemplo 13: $EC_{50} = 7,95 \times 10^{-8}$ M; Ejemplo 15: $EC_{50} = 1,70 \times 10^{-10}$ M; Ejemplo 27: $EC_{50} = 1,20 \times 10^{-10}$ M.

5

Diversas estirpes celulares:

El compuesto 15 se sometió a ensayo en diferentes estirpes celulares (A549, MDA-MB-231, MCF-7, SN12C) siguiendo el método anteriormente descrito. Las actividades medidas proporcionaron valores de $EC_{50} < 0,1 \mu\text{M}$.

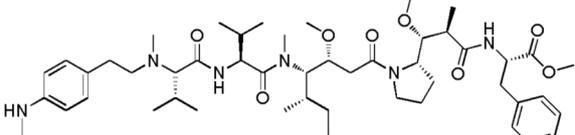
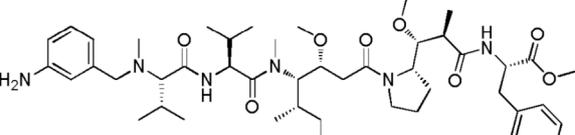
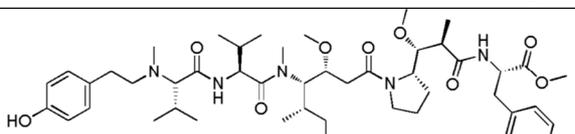
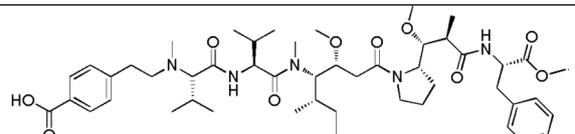
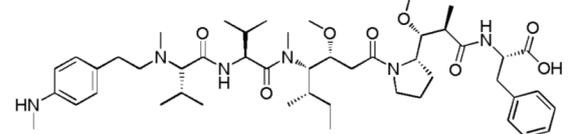
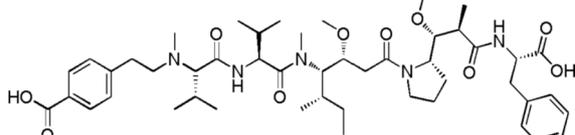
10

EC_{50} (M)	A549	MDA-MB-231	MCF-7	SN12C
Compuesto 15	$1,45 \times 10^{-10}$	$1,70 \times 10^{-10}$	$7,15 \times 10^{-10}$	$2,18 \times 10^{-10}$

Ejemplos comparativos:

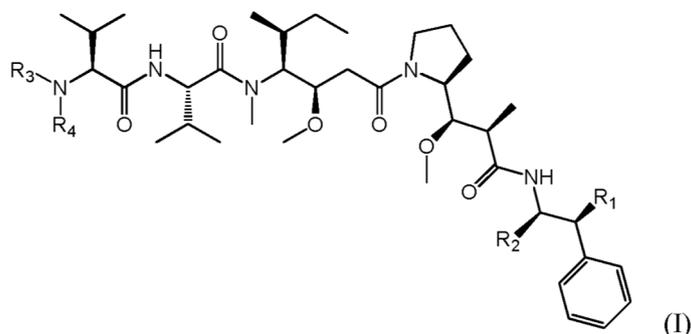
15

La sustitución en el anillo fenilo (amino/hidroxilo v. carboxilo) se estudió en los ejemplos comparativos a continuación que muestran la mejora de la actividad antiproliferativa de los fármacos según la invención que comprende un sustituyente amino o hidroxilo **en comparación con un fármaco que comprende un sustituyente carboxilo según la técnica anterior (documentos WO 2012/041805 y WO 2012/123423).**

N°	Estructura	EC_{50} (M)	
		A549	MDA-MB-231
12		$1,48 \times 10^{-10}$	$5,80 \times 10^{-10}$
15		$1,45 \times 10^{-10}$	$1,70 \times 10^{-10}$
27		$8,60 \times 10^{-11}$	$1,20 \times 10^{-10}$
Ejemplo comparativo		$3,76 \times 10^{-9}$	$2,29 \times 10^{-9}$
13		$2,71 \times 10^{-8}$	$7,95 \times 10^{-8}$
Ejemplo comparativo		$4,03 \times 10^{-7}$	$9,75 \times 10^{-7}$

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de la fórmula (I) siguiente:



5 en la que:

- R₁ = OH y R₂ = metilo, o
- 10 - R₁ = H y R₂ = COOH, COOMe o tiazol-2-ilo,
- R₃ es un grupo alquilo (C₁-C₆), y
- 15 - R₄ es un grupo fenil-alquilo (C₁-C₂) sustituido por un grupo seleccionado de entre grupos OH y NR₉R₁₀ con R₉ y R₁₀ cada uno independientemente entre sí representando H o un grupo alquilo (C₁-C₆), en el que el grupo fenil-alquilo (C₁-C₂) está unido al resto de la molécula mediante su fracción alquilo (C₁-C₂),

o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

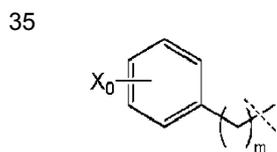
20 2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R₁ representa H y R₂ representa COOH o COOMe.

25 3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado por que R₃ representa un grupo metilo.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que R₄ representa un grupo fenil-alquilo (C₁-C₂) sustituido por un grupo en la fracción fenilo seleccionado de entre OH y NR₉R₁₀.

30 5. Compuesto según la reivindicación 4, caracterizado por que R₄ representa un grupo fenil-alquilo (C₁-C₂) sustituido por un grupo NR₉R₁₀ en la fracción fenilo.

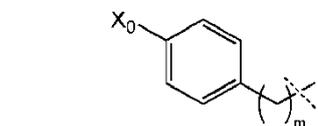
6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que R₄ presenta la fórmula siguiente:



en el que X₀ representa OH o NR₉R₁₀ y m es 1 o 2.

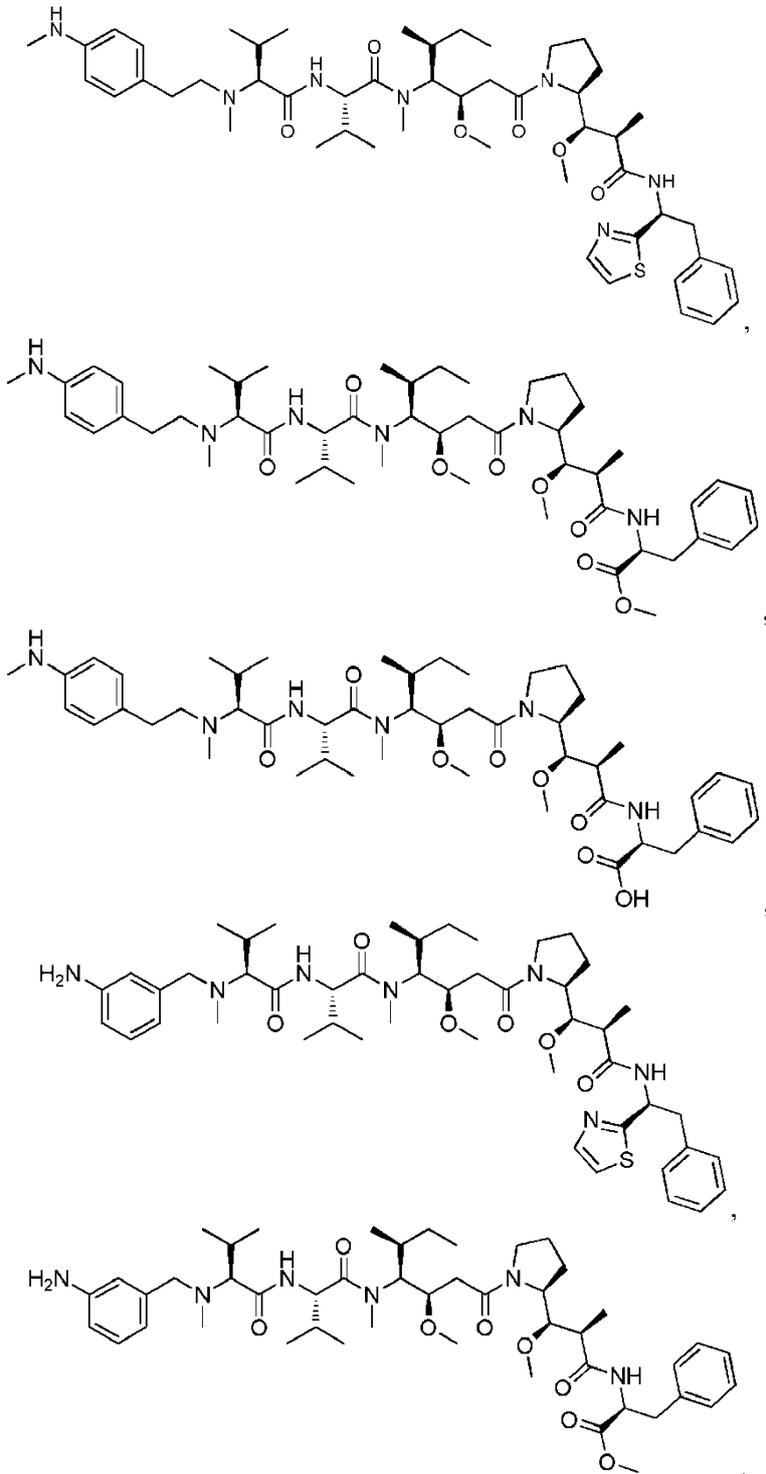
40 7. Compuesto según la reivindicación 6, caracterizado por que X₀ es NR₉R₁₀.

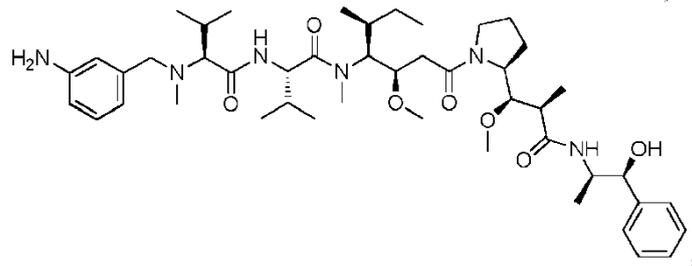
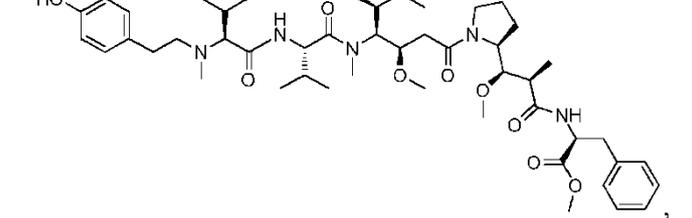
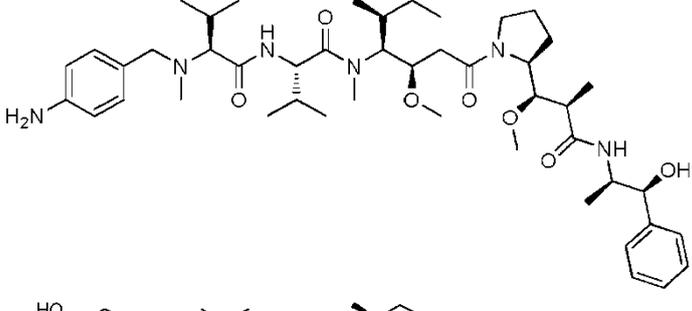
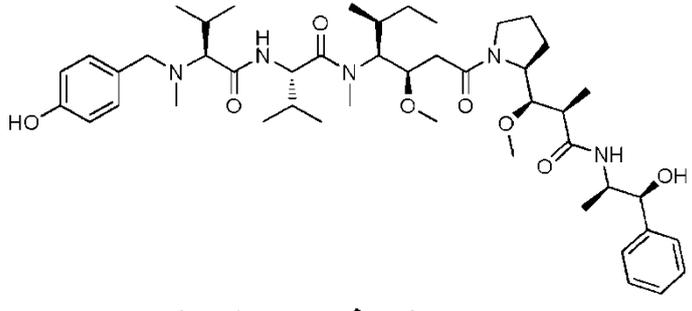
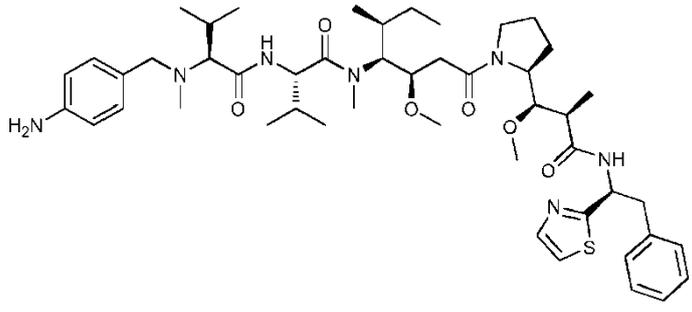
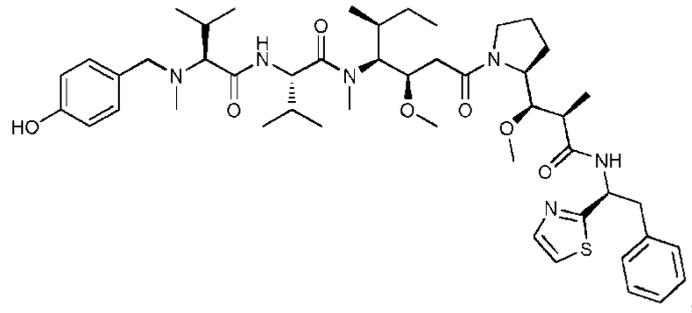
8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que R₄ presenta la fórmula siguiente:

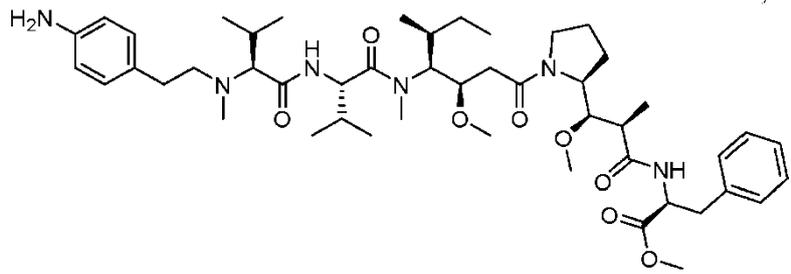
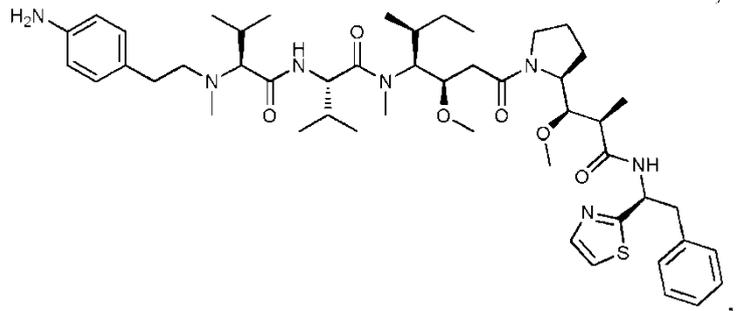
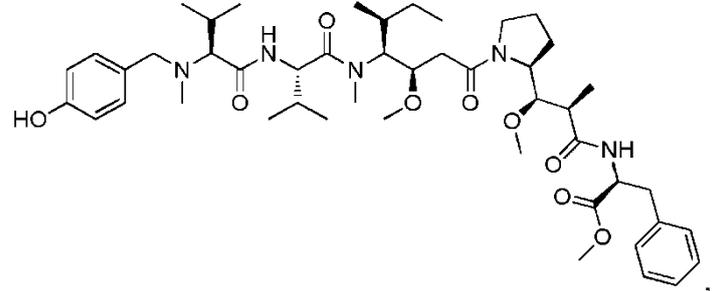
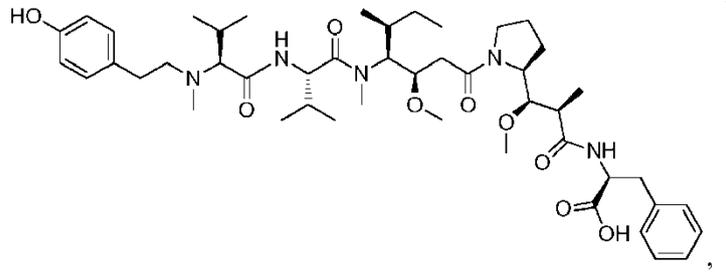
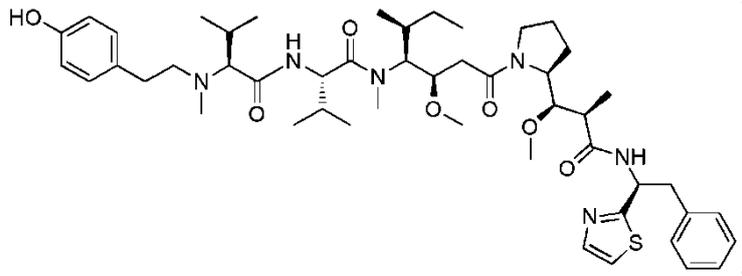
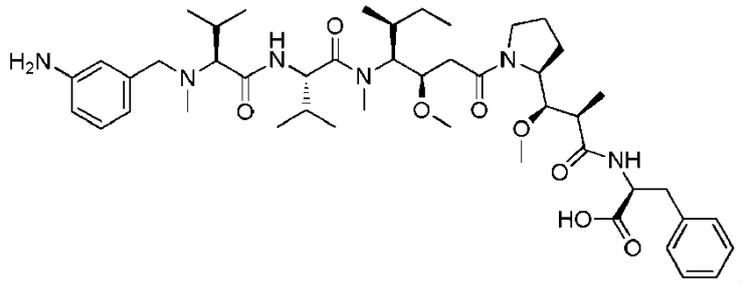


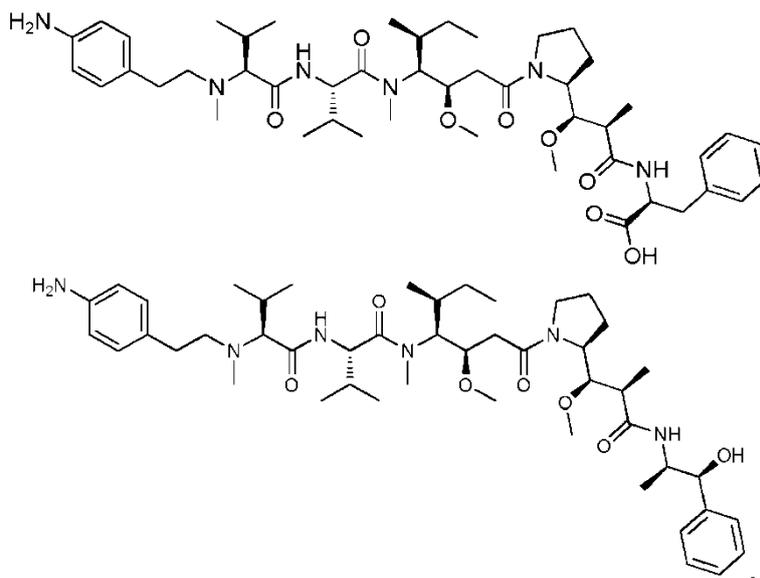
en el que X₀ representa NR₉R₁₀ y m representa 1 o 2.

9. Compuesto según la reivindicación 1, seleccionado de entre:









5 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos tales como las sales formadas con ácido trifluoroacético.

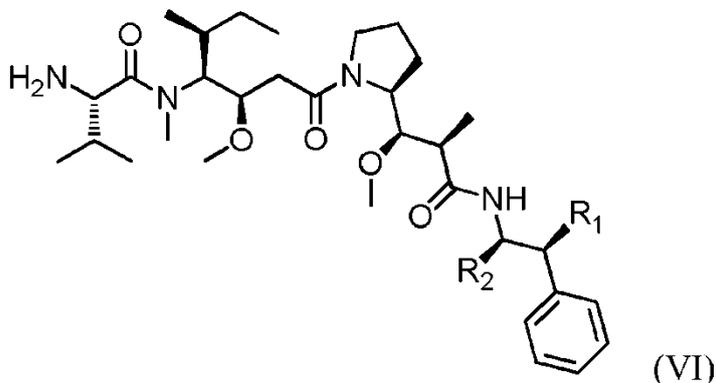
10. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su utilización como una especialidad farmacéutica.

10 11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su utilización como especialidad farmacéutica destinada al tratamiento del cáncer o de trastornos proliferativos benignos.

12. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

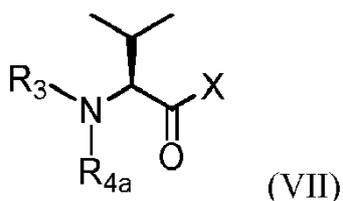
15 13. Composición farmacéutica según la reivindicación 12, que comprende además otro principio activo, seleccionado ventajosamente de entre los agentes anticancerosos, que comprenden en particular agentes anticancerosos citotóxicos tales como navelbina, vinflunina, taxol, taxoter, 5-fluorouracilo, metotrexato, doxorubicina, camptotecina, gemcitabina, etopósido, cisplatino o carmustina; y agentes anticancerosos hormonales tales como el tamoxifeno o la medroxiprogesterona.

20 14. Procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende una reacción de condensación entre un compuesto de la fórmula (VI) siguiente:



25 en la que R₁ y R₂ son como se ha definido en la reivindicación 1, y

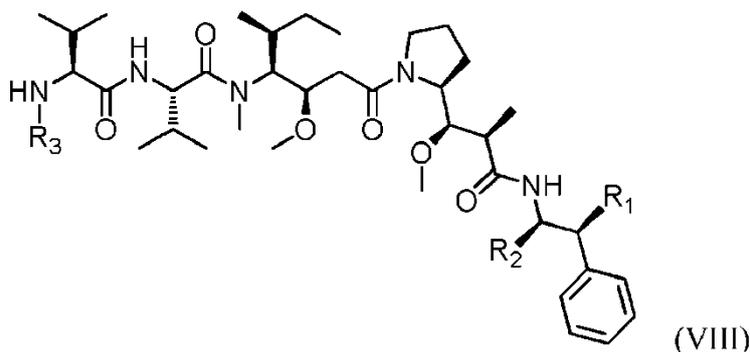
30 un compuesto de la fórmula (VII) siguiente:



en la que R₃ es como se ha definido en la reivindicación 1, R_{4a} representa un grupo R₄ como se ha definido en la reivindicación 1, opcionalmente en forma protegida, y X es OH o Cl.

5

15. Procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende una reacción de sustitución entre un compuesto de la fórmula (VIII) siguiente:

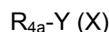


10

en la que R₁, R₂, y R₃ son como se ha definido en la reivindicación 1, y

un compuesto de la fórmula (X) siguiente:

15



en la que R_{4a} representa un grupo R₄ como se ha definido en la reivindicación 1, opcionalmente en forma protegida, e

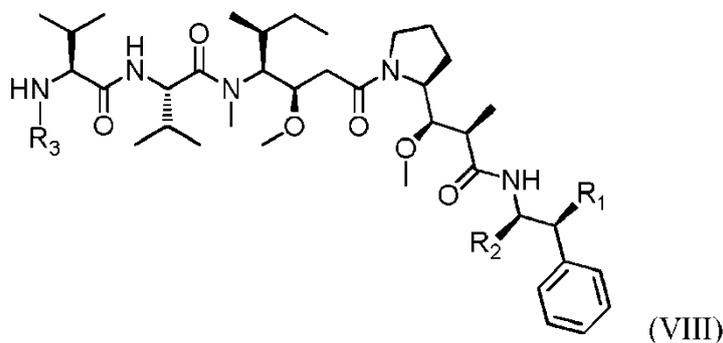
20

Y es un grupo saliente tal como Cl, Br, I, OSO₂CH₃, OSO₂CF₃ u O-Tosilo.

25

16. Procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que R₄ representa un grupo -CH₂R_{4b} con R_{4b} representando un grupo fenilo o fenilo-metilo sustituido por un grupo seleccionado de entre los grupos OH y NR₉R₁₀,

que comprende una reacción de aminación reductiva entre un compuesto de la fórmula (VIII) siguiente:



30

en la que R₁, R₂ y R₃ son como se ha definido en la reivindicación 1, y

un compuesto de la fórmula (XI) siguiente:

35



en la que R_{4b} es como se ha definido anteriormente.