

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 368**

51 Int. Cl.:

**C07D 405/12** (2006.01)  
**A61K 31/336** (2006.01)  
**A61K 31/404** (2006.01)  
**C07D 409/12** (2006.01)  
**C07D 303/32** (2006.01)  
**A61P 37/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2014 PCT/US2014/026980**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2014 WO14152127**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014 E 14723553 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.08.2018 EP 2970225**

54 Título: **Inhibidores de proteasa de epoxi cetona dipeptídica y tripeptídica**

30 Prioridad:

**14.03.2013 US 201361785608 P**  
**14.03.2013 US 201361786086 P**  
**18.07.2013 US 201361847780 P**  
**22.07.2013 US 201361856847 P**  
**27.09.2013 US 201361883798 P**  
**27.09.2013 US 201361883843 P**  
**19.02.2014 US 201461941798 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**24.10.2018**

73 Titular/es:

**ONYX THERAPEUTICS, INC. (100.0%)**  
**One Amgen Center Drive**  
**Thousand Oaks, CA 91320, US**

72 Inventor/es:

**MCMINN, DUSTIN;**  
**JOHNSON, HENRY y**  
**MOEBIUS, DAVID, C.**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 687 368 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

Inhibidores de proteasa de epoxi cetona dipeptídica y tripeptídica

**Antecedentes de la invención****Campo de la invención**

- 5 Esta descripción se refiere a inhibidores de proteasa de epoxi cetona dipeptídica y tripeptídica, incluyendo métodos para preparar y usar los mismos.

**Descripción de la tecnología relacionada**

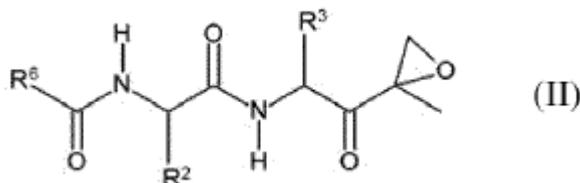
10 En eucariotas, la degradación de las proteínas está mediada predominantemente por la vía de la ubiquitina, en la que las proteínas marcadas para su destrucción se unen al polipéptido ubiquitina de 76 aminoácidos. Una vez  
 15 marcadas, las proteínas ubiquitinadas sirven entonces como sustratos para el proteasoma 26S, una proteasa multicatalítica, que escinde las proteínas en péptidos cortos mediante la acción de sus tres principales actividades proteolíticas. Al tiempo que tiene una función general en la renovación de las proteínas intracelulares, la degradación  
 20 mediada por el proteasoma también desempeña una función clave en muchos procesos tales como la presentación de antígenos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I, apoptosis, regulación del crecimiento celular, activación del NF- $\kappa$ B, procesamiento de antígenos y transducción de señales pro-inflamatorias.

El proteasoma 20S es un complejo proteasa multicatalítico con forma cilíndrica de 700 kDa que comprende 28 subunidades organizadas en cuatro anillos. En levaduras y otros eucariotas, 7 subunidades  $\alpha$  diferentes forman los  
 25 anillos externos y 7 subunidades  $\beta$  diferentes comprenden los anillos internos. Las subunidades  $\alpha$  sirven como sitios de unión para los complejos reguladores 19S (PA700) y 11S (PA28), así como una barrera física para la cámara proteolítica interna formada por los dos anillos de las subunidades  $\beta$ . Por lo tanto, *in vivo*, se cree que el proteasoma  
 30 existe como una partícula 26S ("el proteasoma 26S"). Los experimentos *in vivo* han demostrado que la inhibición de la forma 20S del proteasoma puede correlacionarse fácilmente con la inhibición del proteasoma 26S. La escisión de las pro-secuencias amino terminales de las subunidades  $\beta$  durante la formación de las partículas expone residuos de  
 35 treonina amino terminales, que sirven como los nucleófilos catalíticos. Las subunidades responsables de la actividad catalítica en proteasomas poseen por lo tanto un residuo nucleófilo amino terminal, y estas subunidades pertenecen a la familia de hidrolasas nucleófilas N terminales (Ntn) (en las que el residuo nucleófilo N terminal es, por ejemplo, Cys, Ser, Thr, y otros restos nucleófilos). Esta familia incluye, por ejemplo, penicilina G acilasa (PGA), penicilina V  
 40 acilasa (PVA), glutamina PRPP amidotransferasa (GAT), y glicosilasparaginasa bacteriana. Además de las subunidades  $\beta$  expresadas ubicuamente, los vertebrados superiores también poseen tres subunidades  $\beta$  inducibles por interferón  $\gamma$  (LMP7, LMP2 y MECL1), que reemplazan a sus homólogos normales,  $\beta_5$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_7$  respectivamente, alterando de esta manera las actividades catalíticas del proteasoma. Mediante el uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres actividades proteolíticas principales para el proteasoma 20S de eucariotas: actividad de tipo quimiotripsina (CT-L), que escinde después de residuos hidrófobos grandes; actividad de tipo tripsina (T-L), que escinde después de residuos básicos; y actividad hidrolizante del péptido peptidil glutamilo (PGPH), que escinde después de residuos ácidos. También se han descrito para el proteasoma dos actividades adicionales menos  
 45 caracterizadas: actividad BrAAP, que escinde después de aminoácidos de cadena ramificada; y actividad SNAAP, que escinde después de pequeños aminoácidos neutros. Parece que diferentes sitios catalíticos contribuyen a las principales actividades proteolíticas del proteasoma, ya que los inhibidores, mutaciones puntuales en las subunidades  $\beta$  y el intercambio de las subunidades  $\beta$  inducidas por el interferón  $\gamma$  modifican estas actividades en diversos grados.

Serían útiles nuevas composiciones y métodos para preparar y formular inhibidor(es) del proteasoma.

**Compendio de la invención**

En la presente memoria se proporciona un compuesto que tiene una estructura de Fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable de este,



45

con sustituyentes definidos en las reivindicaciones 1 a 10.

También se proporciona en la presente memoria una composición farmacéutica que comprende un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable y un compuesto proporcionado en la presente memoria, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Los compuestos y composiciones que se proporcionan en la presente memoria son útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos, tales como enfermedad relacionada con inmunidad, cáncer, inflamación, infección, enfermedad proliferativa y enfermedad neurodegenerativa.

- 5 A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica al que pertenece esta descripción. Los métodos y materiales se describen en la presente memoria para su uso en la presente divulgación; también pueden usarse otros métodos y materiales adecuados conocidos en la técnica. Los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitativos. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones.
- 10 Otras características y ventajas de la divulgación serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y las figuras, y a partir de las reivindicaciones.

### Descripción detallada

#### Definiciones

- 15 Para los términos "por ejemplo" y "tal como" y sus equivalencias gramaticales, se entiende que van seguidas de la expresión "y sin limitación" a menos que se indique explícitamente otra cosa. Tal como se usa en la presente memoria, el término "aproximadamente" está destinado a explicar las variaciones debidas al error experimental. Se entiende que todas las mediciones indicadas en la presente memoria se modifican con el término "aproximadamente", independientemente de que el término se use o no explícitamente, a menos que se indique explícitamente otra cosa. Tal como se usa en la presente memoria, las formas singulares "un", "una" y "el/la"
- 20 incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente otra cosa.

- Como se usa en la presente memoria, las estructuras químicas que contienen uno o más estereocentros representados con enlaces en líneas discontinuas y en negrita (es decir,  y ) pretenden indicar la estereoquímica absoluta del uno o más estereocentros presentes en la estructura química. Como se usa en la presente memoria, los enlaces simbolizados por una línea sencilla no indican una estereo-preferencia. A menos que se indique otra cosa, por el contrario, las estructuras químicas que incluyen uno o más estereocentros que se ilustran en la presente memoria sin indicar estereoquímica absoluta o relativa incluyen todas las formas estereoisoméricas posibles del compuesto (p. ej., diastereómeros, enantiómeros) y mezclas de los mismos. Las estructuras con una única línea en negrita o discontinua, y al menos una línea simple adicional, incluyen una única serie enantiomérica de todos los diastereómeros posibles.
- 25

- 30 La resolución de mezclas racémicas de compuestos se puede realizar mediante cualquiera de los numerosos métodos conocidos en la técnica. Un método ejemplar incluye recristalización fraccionada usando un ácido de resolución quiral que es un ácido orgánico ópticamente activo que forma sal. Los agentes de resolución adecuados para métodos de recristalización fraccionada son, por ejemplo, ácidos ópticamente activos, tales como las formas D y L de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico o los diversos ácidos canforsulfónicos ópticamente activos tales como ácido canforsulfónico. Otros agentes de resolución adecuados para métodos de cristalización fraccionada incluyen formas estereoisoméricamente puras de metilbencilamina (p. ej., formas S y R, o formas diastereoméricamente puras), 2-fenilglicinol, norefedrina, efedrina, N-metilefedrina, ciclohexiletilamina, 1,2-diaminociclohexano y similares.
- 35

- La resolución de mezclas racémicas también puede realizarse por elución sobre una columna empaquetada con un agente de resolución ópticamente activo (p. ej., dinitrobenzoilfenilglicina). Las composiciones de disolvente de elución adecuadas pueden determinarse por un experto en la técnica.
- 40

- Los compuestos proporcionados en la presente memoria pueden incluir también todos los isótopos de átomos que aparecen en los compuestos intermedios o finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másicos. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen hidrógeno, tritio y deuterio.
- 45

El término "compuesto", tal como se utiliza en la presente memoria, pretende incluir todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros e isótopos de las estructuras representadas. Los compuestos identificados en la presente memoria por nombre o estructura como una forma tautomérica particular están destinados a incluir otras formas tautoméricas a menos que se especifique otra cosa.

- 50 Todos los compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden encontrar junto con otras sustancias tales como agua y disolventes (p. ej., hidratos y solvatos).

- El término "alquilo C<sub>x-y</sub>" se refiere a grupos hidrocarburo saturados sustituidos o no sustituidos, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal y grupos alquilo de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena. Por ejemplo, alquilo C<sub>1-7</sub> se refiere a grupos alquilo que tienen un número de átomos de carbono que incluye todo el intervalo (es decir, de 1 a 7 átomos de carbono), así como todos los subgrupos (p. ej., 1-6, 2-7, 1-5, 3-6, 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7 átomos de carbono). Los términos "alqueno C<sub>2-y</sub>" y "alquino C<sub>2-y</sub>" se refieren a grupos alifáticos insaturados
- 55

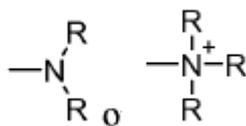
sustituídos o no sustituídos análogos en longitud, y posibles sustituciones a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble o un triple enlace, respectivamente.

5 El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que tiene un oxígeno unido al mismo. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, terc-butoxi y similares. Un "éter" es dos hidrocarburos unidos covalentemente por un oxígeno. Consecuentemente, el sustituyente de un alquilo que hace que el alquilo sea un éter es o se parece a un alcoxi.

El término, "alcoxiálquilo C<sub>x-y</sub>" se refiere a un grupo alquilo C<sub>x-y</sub>, como se ha definido previamente, sustituido con un grupo alcoxi. Por ejemplo, el término "alcoxiálquilo C<sub>1-6</sub>" se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo alcoxi, formando así un éter.

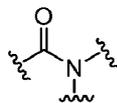
10 El término "aralquilo C<sub>x-y</sub>" se refiere a un grupo alquilo C<sub>x-y</sub>, como se ha definido previamente, sustituido con un grupo arilo. Por ejemplo, el término "aralquilo C<sub>1-6</sub>", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo arilo.

Los términos "amina" y "amino" están reconocidos en la técnica y se refieren tanto a aminas sustituidas como no sustituidas y a sales de las mismas, p. ej., un resto que puede representarse por las fórmulas generales:



15 , donde cada grupo R representa independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenoilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-T, o dos de los grupos R tomados junto con el átomo de N al que están unidos completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura anular; T representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalquenoilo, un heterociclilo o un policiclilo; y b es cero o un número entero de 1 a 8. En ciertas realizaciones, un grupo amino es básico, lo que significa que su forma protonada tiene un pKa por encima de 7,00. En algunas realizaciones, los términos "amina" y "amino" se refieren a un resto que está unido covalentemente a un átomo de nitrógeno no sustituido o sustituido.

Los términos "amida" y "amido" están reconocidos en la técnica como un carbonilo sustituido con amino e incluyen



un resto que puede representarse por la fórmula general: . En algunas realizaciones, la amida no incluirá imidas, que pueden ser inestables.

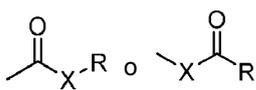
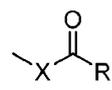
25 El término "arilo", como se usa en la presente memoria, incluye grupos aromáticos de un solo anillo, sustituidos o no sustituidos, de 5, 6 y 7 miembros, en los que cada átomo del anillo es carbono. El término "arilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos colindantes donde al menos uno de los anillos es aromático, p. ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenoilos, cicloalquinoilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina y similares. En algunas realizaciones, un anillo de arilo puede estar sustituido con un halógeno, tal como flúor.

35 Los términos "carbociclo" y "carbociclilo", como se usan en la presente memoria, se refieren a un anillo no aromático, sustituido o no sustituido, de 3 a 7 miembros en el que cada átomo del anillo es carbono. El anillo puede estar completamente saturado o puede tener uno o más enlaces insaturados de tal forma que el anillo siga siendo no aromático. Los términos "carbociclo" y "carbociclilo" también incluyen sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos colindantes donde al menos uno de los anillos es carbocíclico, p. ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenoilos, cicloalquinoilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los carbociclilos incluyen ciclopropilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexilmetilo y 4-metilciclohexilo. Los ejemplos de carbociclilos policíclicos incluyen biciclo[2.2.1]heptanilo, espiro[2.4]heptanilo, norbornilo y adamantilo.

El término "cicloalquilo" tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un anillo saturado sustituido o no sustituido de 3 a 7 miembros en el que cada átomo del anillo es carbono. El término "cicloalquilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que uno o más átomos de carbono son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es un cicloalquilo.

45 El término "cicloalquenoilo" tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un anillo sustituido o no sustituido de 3 a 7 miembros en el que cada átomo del anillo es carbono. El anillo tiene uno o más enlaces insaturados de tal forma que el anillo siga siendo no aromático. El término "cicloalquenoilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que uno o más átomos de carbono son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es un cicloalquenoilo.

50 El término "carbonilo" está reconocido en la técnica e incluye restos que contienen un grupo C=O, tales como, por

ejemplo, los representados por las fórmulas generales:  o , en donde X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre, y R representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo,  $-(CH_2)_b-T$  o una sal farmacéuticamente aceptable, R' representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o  $-(CH_2)_b-T$ , donde m y T son como se han definido anteriormente. Cuando X es un oxígeno y R o R' no es hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Cuando X es un oxígeno y R es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico".

El término "heteroalquilo  $C_{x-y}$ " se refiere a un grupo alquilo  $C_{x-y}$ , como se ha definido previamente, sustituido con un grupo heteroarilo. Por ejemplo, el término "heteroalquilo  $C_{1-6}$ ", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un grupo heteroarilo.

El término "heteroarilo" incluye estructuras anulares aromáticas sustituidas o no sustituidas de 5 a 7 miembros, por ejemplo, anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El término "heteroarilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos colindantes donde al menos uno de los anillos es heteroaromático, p. ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclicos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares. En algunas realizaciones, un anillo heteroarilo puede estar sustituido con un halógeno, tal como flúor.

El término "heteroátomo" como se usa en la presente memoria, significa un átomo de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Por ejemplo, los heteroátomos incluyen nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre.

El término "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" se refiere a estructuras anulares no aromáticas de 3 a 10 miembros sustituidas o no sustituidas, por ejemplo, anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El anillo puede estar completamente saturado (p. ej., heterocicloalquilo) o puede tener uno o más enlaces insaturados de manera que el anillo permanezca no aromático (p. ej., heterocicloalquenilo). El término "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen uno o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es heterocíclico, p. ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclicos. Los grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas y similares.

El término "hidroxialquilo  $C_{x-y}$ " se refiere a un grupo alquilo  $C_{x-y}$ , como se ha definido previamente, sustituido con un grupo hidroxilo. Por ejemplo, el término "hidroxialquilo  $C_{1-6}$ " se refiere a un grupo alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un grupo hidroxilo.

El término "tioéter" se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que tiene un resto de azufre unido al mismo. En algunas realizaciones, el "tioéter" está representado por  $-S$ -alquilo. Los grupos tioéter representativos incluyen metiltio, etiltio, y similares.

El término "sustituido" se refiere a restos que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más átomos distintos de hidrógeno de la molécula. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución es según la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución da como resultado un compuesto estable, p. ej., que no experimenta espontáneamente transformación tal como por reorganización, ciclación, eliminación, etc. Como se usa en la presente memoria, el término "sustituido" se contempla para incluir todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más e iguales o diferentes para compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de esta divulgación, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos en la presente memoria que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, un resto alquilo, alquenilo, alquinilo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un éster, un tioéster, un alcoxicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato o un tioformato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un carbociclilo (p. ej., cicloalquilo, cicloalquenilo), un heterociclilo (p. ej., heterocicloalquilo), un aralquilo, un heteroalquilo o un resto aromático (es decir, arilo) o heteroaromático (es decir, heteroarilo). Los expertos en la técnica entenderán que los restos sustituidos en la cadena hidrocarbonada pueden estar ellos mismos sustituidos, si es apropiado. En algunas realizaciones, el sustituyente es un halógeno, tal como flúor. Cuando un grupo funcional químico incluye más de un sustituyente, los sustituyentes pueden estar unidos al mismo átomo de carbono o a dos o más átomos de carbono diferentes. Un grupo funcional químico sustituido puede incluir él mismo uno o más sustituyentes.

En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados en la presente memoria, o sales de los mismos, están sustancialmente aislados o purificados. Por "sustancialmente aislado" se quiere decir que el compuesto está al

5 menos parcial o sustancialmente separado del entorno en el que se formó o se detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en los compuestos proporcionados en la presente memoria. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 97 %, o al menos aproximadamente el 99 % en peso de los compuestos, o sal de estos. Los métodos para aislar compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.

10 El término tratamiento "profiláctico o terapéutico" está reconocido en la técnica e incluye la administración al huésped de una o más de las composiciones objeto. Si la composición objeto se administra antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (p. ej., enfermedad u otro estado indeseado del animal huésped) entonces el tratamiento es profiláctico (es decir, protege al huésped contra el desarrollo de la afección no deseada), mientras que si la composición objeto se administra después de la manifestación de la afección no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, está destinado a disminuir, mejorar o estabilizar la afección no deseada existente o efectos secundarios de la misma).

15 El término "proteasoma" como se usa en la presente memoria pretende incluir proteasomas inmunitarios y constitutivos. En algunas realizaciones, un compuesto de la divulgación inhibe preferiblemente el inmunoproteasoma.

El término "i20S" como se utiliza en la presente memoria se refiere al inmunoproteasoma 20S.

El término "c20S" como se usa en la presente memoria, se refiere al proteasoma constitutivo 20S.

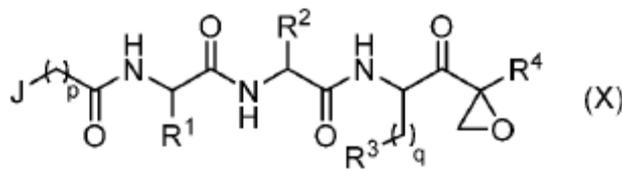
20 Como se usa en la presente memoria, el término "inhibidor" pretende describir un compuesto que bloquea o reduce una actividad de una enzima o sistema de enzimas, receptores u otro objetivo farmacológico (por ejemplo, inhibición de la escisión proteolítica de sustratos peptídicos fluorogénicos estándar, tales como succinil-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC, Boc-Leu-Leu-Arg-AMC y Z-Leu-Leu-Glu-AMC, inhibición de diversas actividades catalíticas del proteasoma 20S). Un inhibidor puede actuar con inhibición competitiva, o no competitiva. Un inhibidor puede unirse de manera reversible o irreversible y, por lo tanto, el término incluye compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios en o cerca del sitio activo de la enzima, o puede causar un cambio conformacional en otra parte de la enzima. El término inhibidor se utiliza en la presente memoria más ampliamente que en la bibliografía científica, para incluir también otras clases de agentes farmacológica o terapéuticamente útiles, tales como agonistas, antagonistas, estimulantes, cofactores y similares.

30 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto con respecto al método de tratamiento objeto, se refiere a una cantidad del compuesto o compuestos en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación deseado (a un paciente, p. ej., un ser humano) alivia un síntoma, mejora una afección, o retarda la aparición de afecciones patológicas de acuerdo con estándares clínicamente aceptables para el trastorno o afección a tratar o el fin cosmético, p. ej., con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

35 Tal como se usa en la presente memoria, el término "tratar" o "tratamiento" incluye revertir, reducir o detener los síntomas, signos clínicos y patología subyacente de una afección de manera que se mejore o establece la afección de un paciente.

#### Compuestos

40 Aunque no forma parte de la presente invención, en la presente memoria se describe un compuesto que tiene una estructura de Fórmula (X), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

p es 0 o 1;

45 q es 0, 1, o 2;

J se selecciona del grupo que consiste en alquileo  $C_{1-6}R^5$ , alquilenilo  $C_{2-6}R^5$ , Oalquilenilo  $C_{1-6}R^5$ ,  $CF_3$ , alquileo  $C_{0-6}N(R^6)_2$ , arilo, heteroarilo, poliéter $CH_3$ , y cicloalqueno  $C_{3-6}$ , en donde J está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo  $C_{1-6}$ , halo,  $CF_3$ ,  $OR^6$ ,  $SR^6$ ,  $N(R^6)_2$  y heterocicloalquilo de 3-7 miembros;

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, alquileno C<sub>1-2</sub>R<sup>7</sup>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, y heterocicloalquilo de 3-6 miembros, en donde R<sup>1</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, OR<sup>6</sup>, SR<sup>6</sup>, y N(R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>;

5 R<sup>2</sup> es alquileno C<sub>1-2</sub>-G; en donde G se selecciona del grupo que consiste en cicloalquenilo C<sub>3-7</sub>, arilo, y heteroarilo, con la condición de que cuando R<sup>2</sup> sea CH<sub>2</sub>fenilo, el fenilo esté sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OR<sup>6</sup>, halo, alquilo C<sub>1-3</sub>, y SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>;

R<sup>3</sup> se selecciona del grupo que consiste en cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, cicloalquenilo C<sub>3-7</sub>, un heterocicloalquilo de 3-7 miembros, un heterocicloalquenilo de 3-7 miembros y arilo, en donde R<sup>3</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OR<sup>6</sup> y alquilo C<sub>1-6</sub>;

10 R<sup>4</sup> es H o alquilo C<sub>1-3</sub>;

R<sup>5</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, CF<sub>3</sub>, OR<sup>6</sup>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, y arilo;

cada R<sup>6</sup> es independientemente H o alquilo C<sub>1-6</sub>; y,

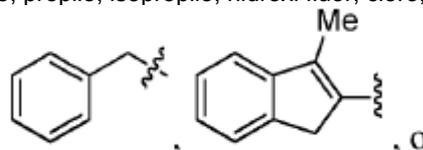
R<sup>7</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, OR<sup>6</sup>, COOR<sup>6</sup>, CN, y heterocicloalquilo de 3-6 miembros.

En algunos ejemplos, p es 0. En otros ejemplos, p es 1.

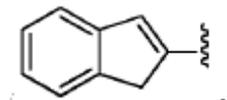
15 En algunos ejemplos, q es 0. En otros ejemplos q es 1. En varios ejemplos, q es 2.

En algunos ejemplos, J es alquileno C<sub>1-6</sub>R<sup>5</sup>, alquenileno C<sub>2-6</sub>R<sup>5</sup>, Oalquileno C<sub>1-6</sub>R<sup>5</sup>, poliéterCH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub> o N(R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>. En ejemplos ejemplares, J se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, difluorometilo, 2,2-difluoroetilo, hidroximetilo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, trifluorometilo, hidroxietilo, MeOCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, MeOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-, metoxietilo, etoximetilo, 2-hidroxi-2-metilpropilo, 2-hidroxipropilo, 2-hidroxi-2-metilbutilo, 2-hidroxi-2-metil-3-trifluoropropilo, 1-triclorometil-2-hidroxietilo, NH<sub>2</sub>, NH(CH<sub>3</sub>), NH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

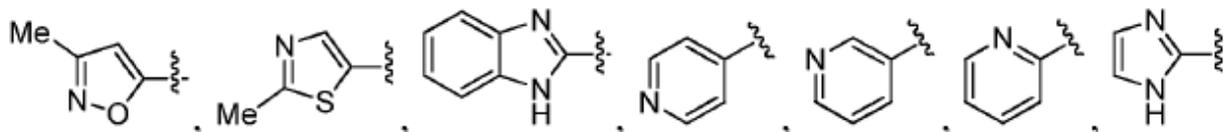
En otros ejemplos, J es arilo, tal como fenilo o indenilo. En algunos de estos ejemplos, el arilo está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, isopropilo, hidróxido, flúor, cloro,

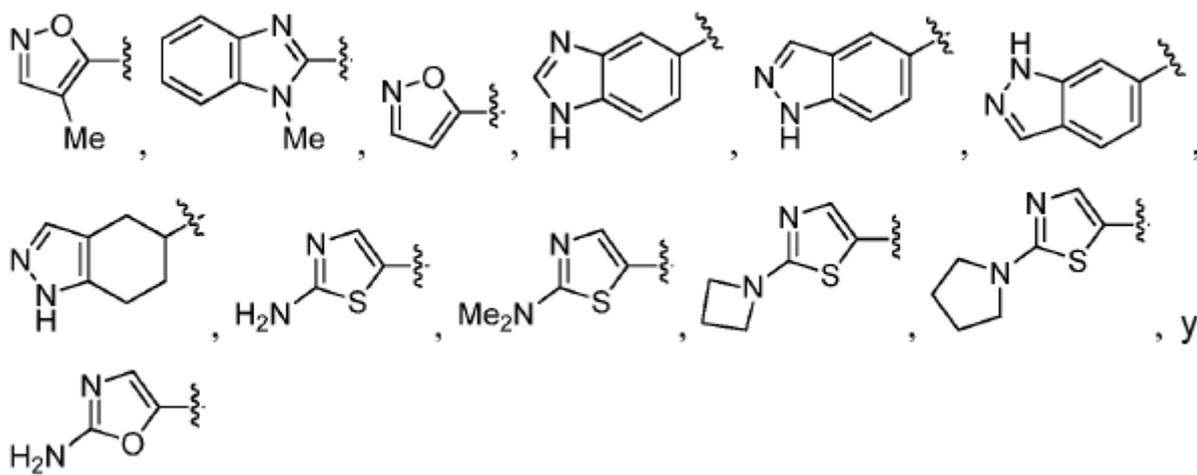


metoxi, etoxi, trifluorometilo y amino. Por ejemplo, J puede incluir



25 En algunos ejemplos, J es heteroarilo. Por ejemplo, J puede incluir oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, bencimidazolilo, piridilo, imidazolilo, indazolilo, tetrahydroindazolilo, pirrolilo o pirazinilo. Opcionalmente, el heteroarilo puede estar sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en metilo, etilo, amino, dimetilamino, azetidino y piperidino. En algunos ejemplos ejemplares, J se selecciona del grupo que consiste en





En varios ejemplos, J es cicloalqueno  $C_{3-6}$ , tal como ciclohexeno o ciclopenteno.

En algunos ejemplos,  $R^1$  es metilo. En otros ejemplos,  $R^1$  es hidroximetilo. En otros ejemplos más,  $R^1$  es  $CH_2CO_2R^6$ . En varios ejemplos,  $R^1$  es H,  $CH_2$ morfolinilo, oxetanilo o 1-hidroxil-ciclopropilo. En varios ejemplos, el carbono al que está unido  $R^1$  está en la configuración (S).

En algunos ejemplos,  $R^2$  es  $CH_2-G$ . En otros ejemplos,  $R^2$  es  $CH_2CH_2-G$ . En varios ejemplos, G es arilo. En otros ejemplos, G es cicloalqueno  $C_{3-7}$ . En otros ejemplos más, G es un heteroarilo. En ejemplos, G se selecciona del grupo que consiste en 4-metoxifenilo, 3-hidroxi-4-metoxifenilo, indolilo y 4-metilsulfonilfenilo. En algunos ejemplos ejemplares, G comprende 4-metoxifenilo. En otros ejemplos ejemplares, G es 3-hidroxi-4-metoxifenilo. En otros ejemplos ejemplares más, G es indolilo. En ejemplos, G puede incluir 4-metilsulfonilfenilo.

En algunos ejemplos,  $R^3$  es cicloalquilo  $C_{3-7}$ . En otros ejemplos,  $R^3$  es cicloalqueno  $C_{3-7}$ . En otros ejemplos más,  $R^3$  es un heterocicloalquilo de 3-7 miembros. En varios ejemplos,  $R^3$  es un heterocicloalqueno de 3-7 miembros. En ejemplos,  $R^3$  es arilo. En algunos ejemplos ejemplares,  $R^3$  se selecciona del grupo que consiste en fenilo, ciclopentilo, 4-metilfenilo y ciclopenteno.

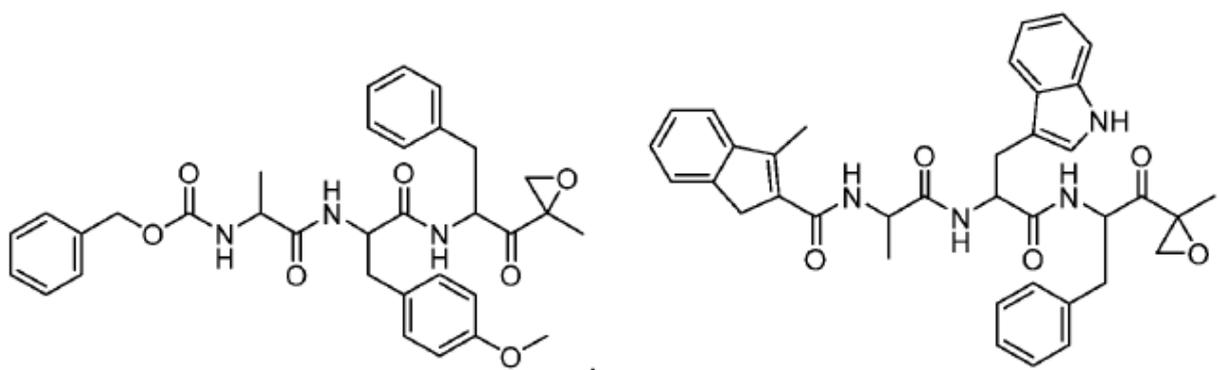
En ejemplos, q es 1 y  $R^3$  es cicloalquilo  $C_{3-7}$ . En otros ejemplos, q es 1 y  $R^3$  es cicloalqueno  $C_{3-7}$ . En varios ejemplos, q es 1 y  $R^3$  es un heterocicloalquilo de 3-7 miembros. En otros ejemplos más, q es 1 y  $R^3$  es un heterocicloalqueno de 3-7 miembros. En algunos ejemplos, q es 1 y  $R^3$  es arilo. En algunos ejemplos ejemplares, q es 1 y  $R^3$  se selecciona del grupo que consiste en fenilo, ciclopentilo, 4-metilfenilo y ciclopenteno.

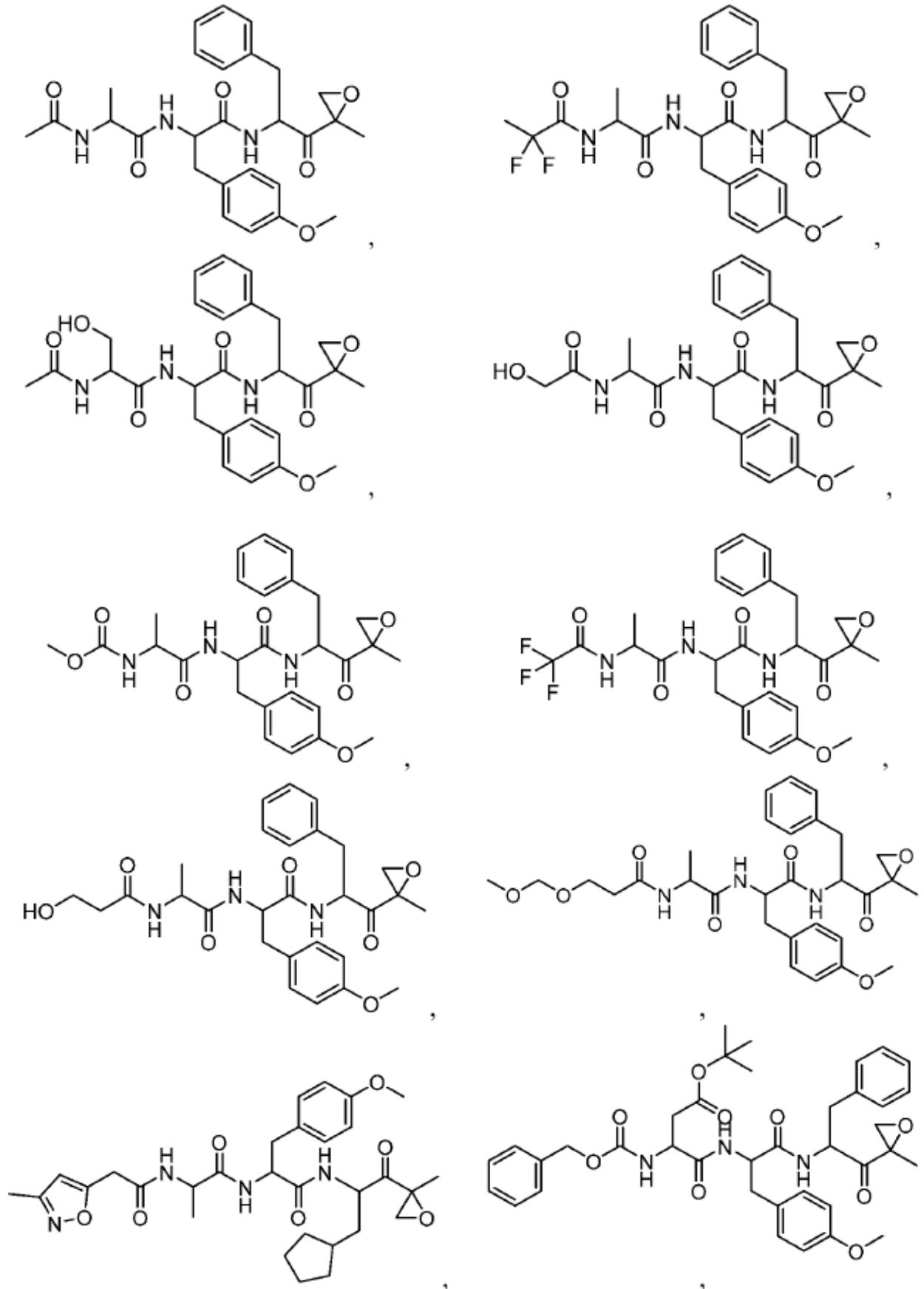
En algunos ejemplos,  $R^4$  es alquilo  $C_{1-3}$ , tal como metilo o etilo. En varios ejemplos,  $R^4$  es H. En algunos casos,  $R^4$  es metilo.

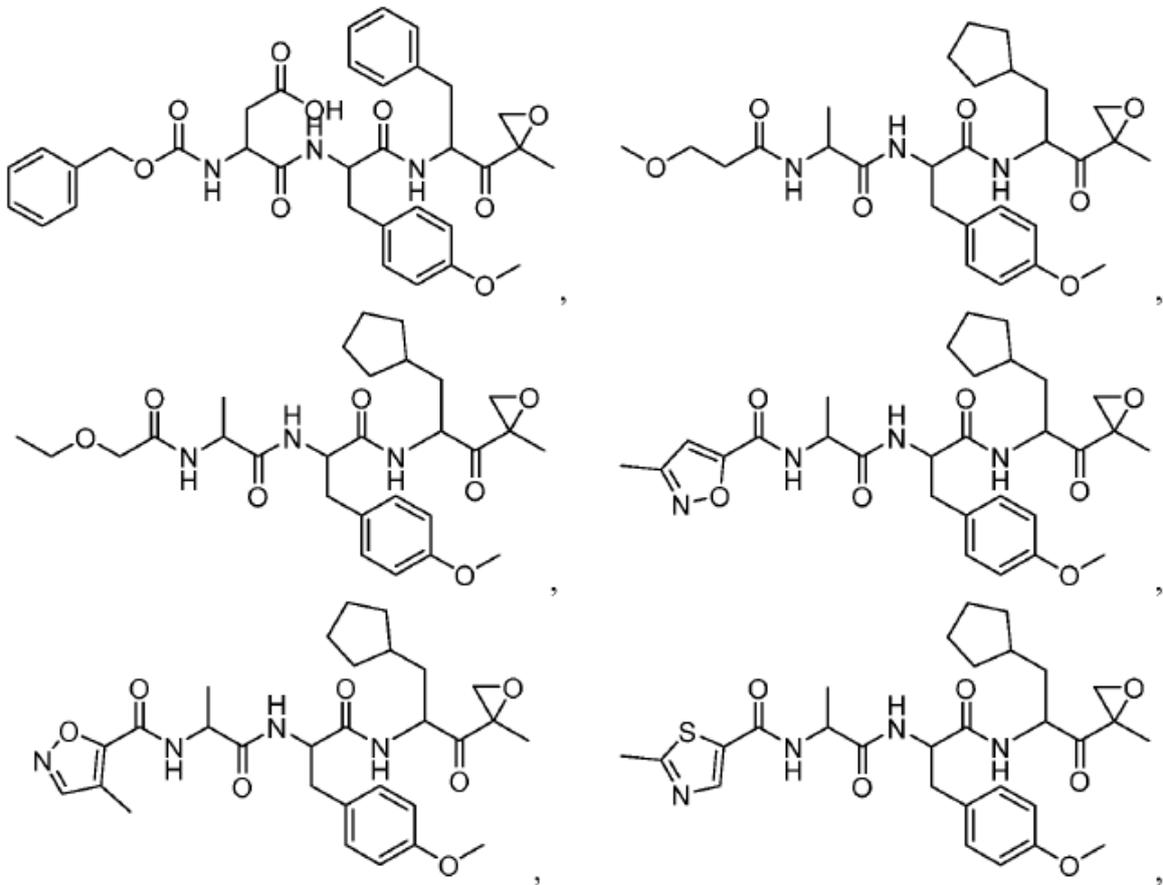
En algunos ejemplos, q es 1;  $R^1$  es H, metilo o hidroximetilo;  $R^2$  se selecciona del grupo que consiste en  $CH_2$ -(4-metoxifenilo),  $CH_2$ -indolilo,  $CH_2$ -(4-metilsulfonilfenilo), y  $CH_2$ -(3-hidroxi-4-metoxifenilo);  $R^3$  se selecciona del grupo que consiste en fenilo, ciclopentilo, 4-metilfenilo y ciclopenteno; y  $R^4$  es metilo.

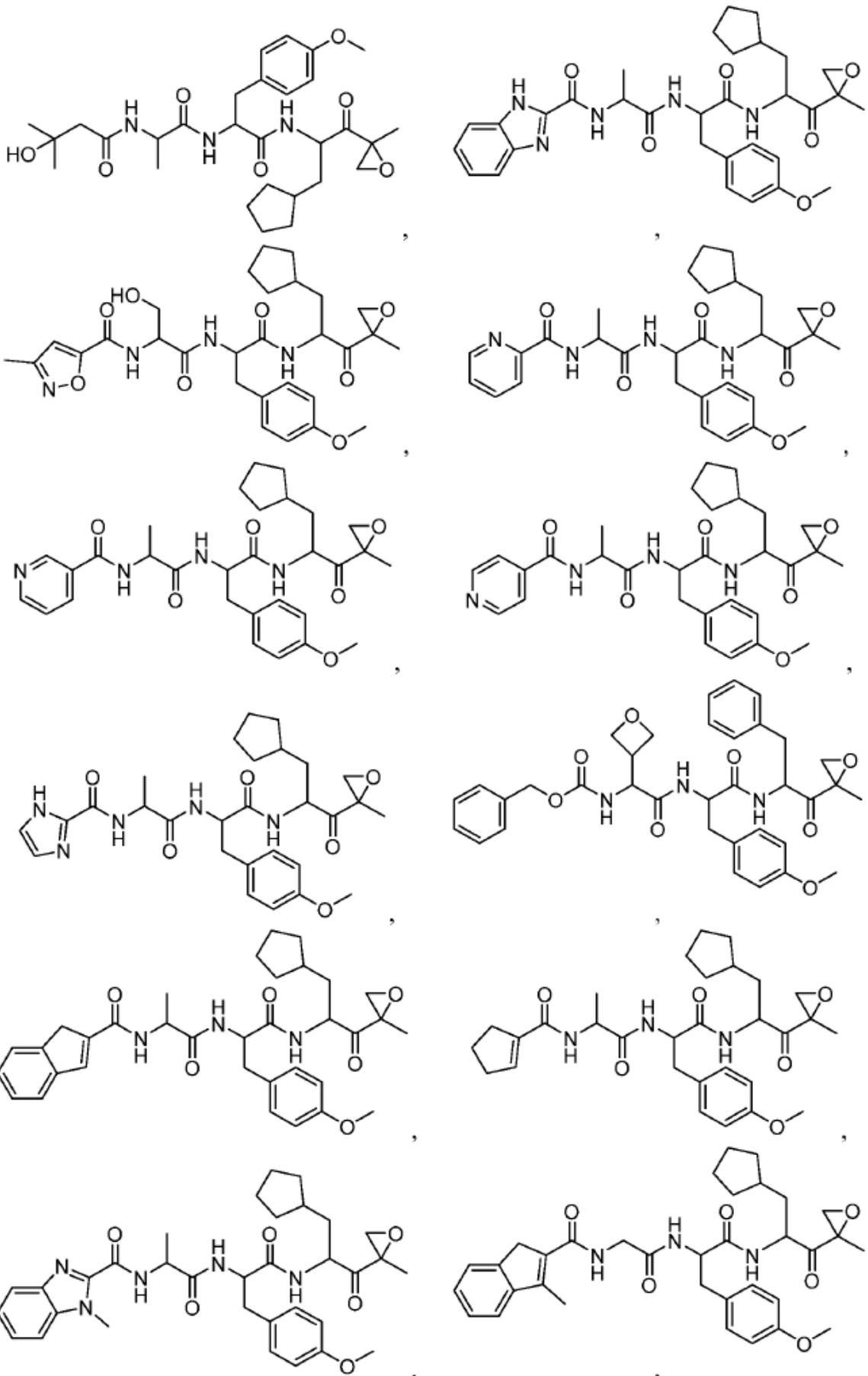
Se contempla específicamente un compuesto de Fórmula X incluyendo J, como se describe en los párrafos [0047]-[0050],  $R^1$  como se describe en el párrafo [0051],  $R^2$  como se describe en el párrafo [0052],  $R^3$  como se describe en el párrafo [0053], y  $R^4$  como se describe en el párrafo [0054].

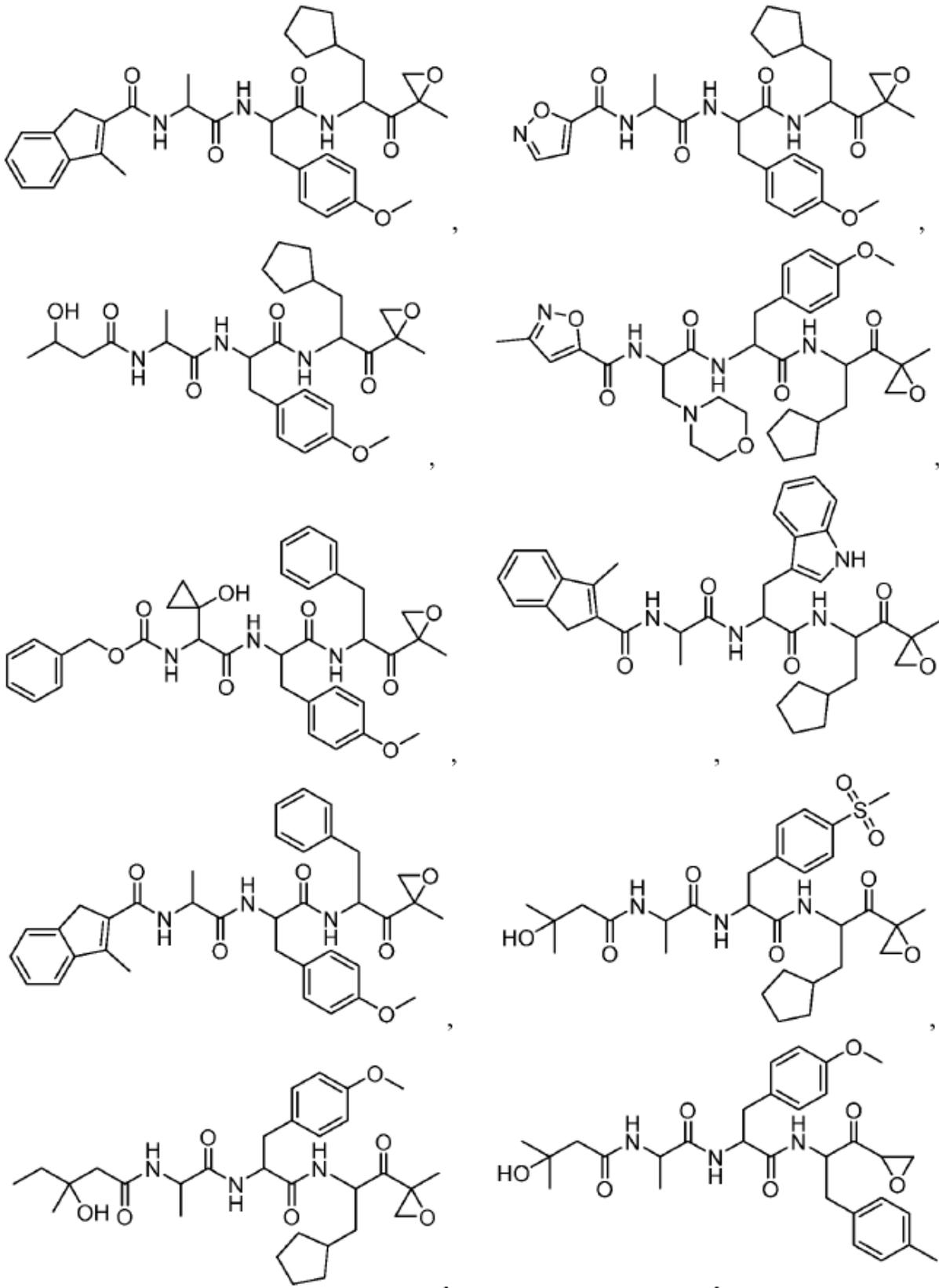
En algunos ejemplos, un compuesto de Fórmula (X) se selecciona de:



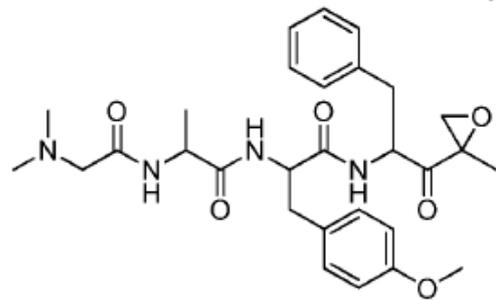
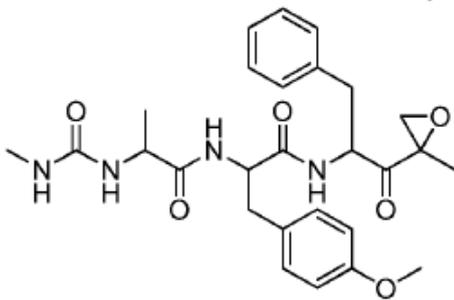
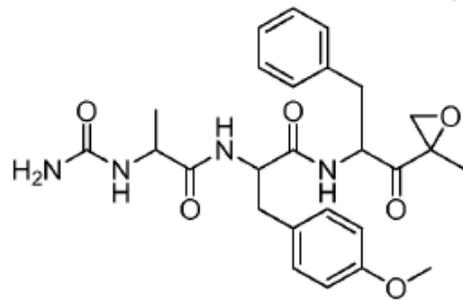
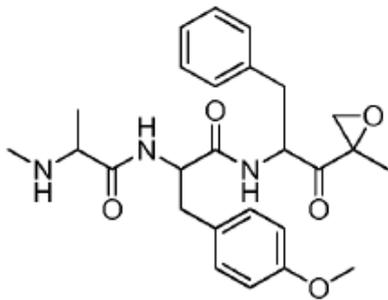
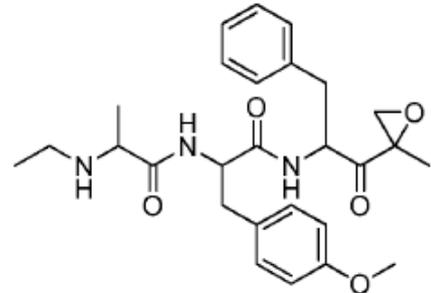
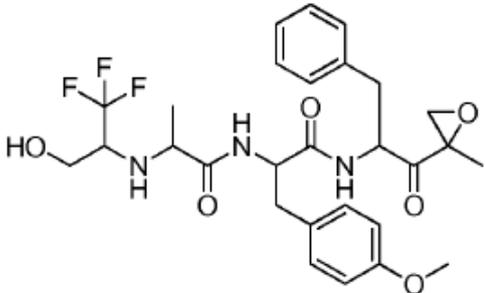
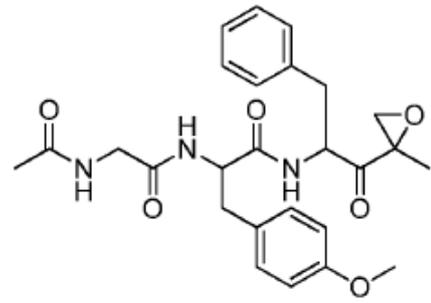
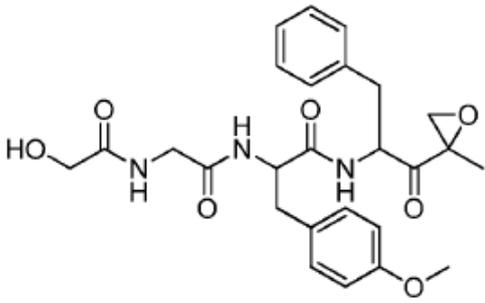
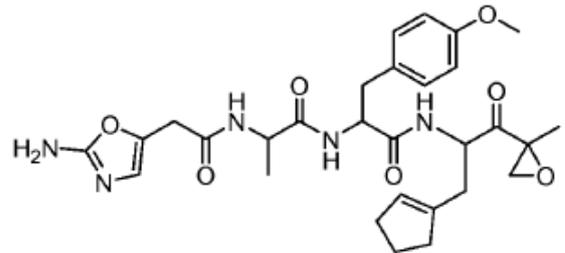
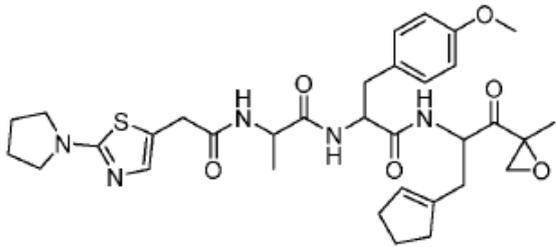
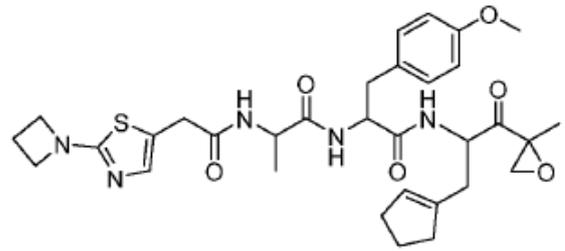
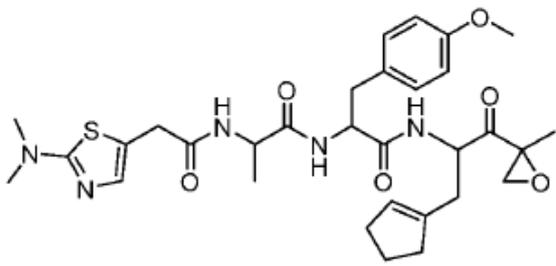


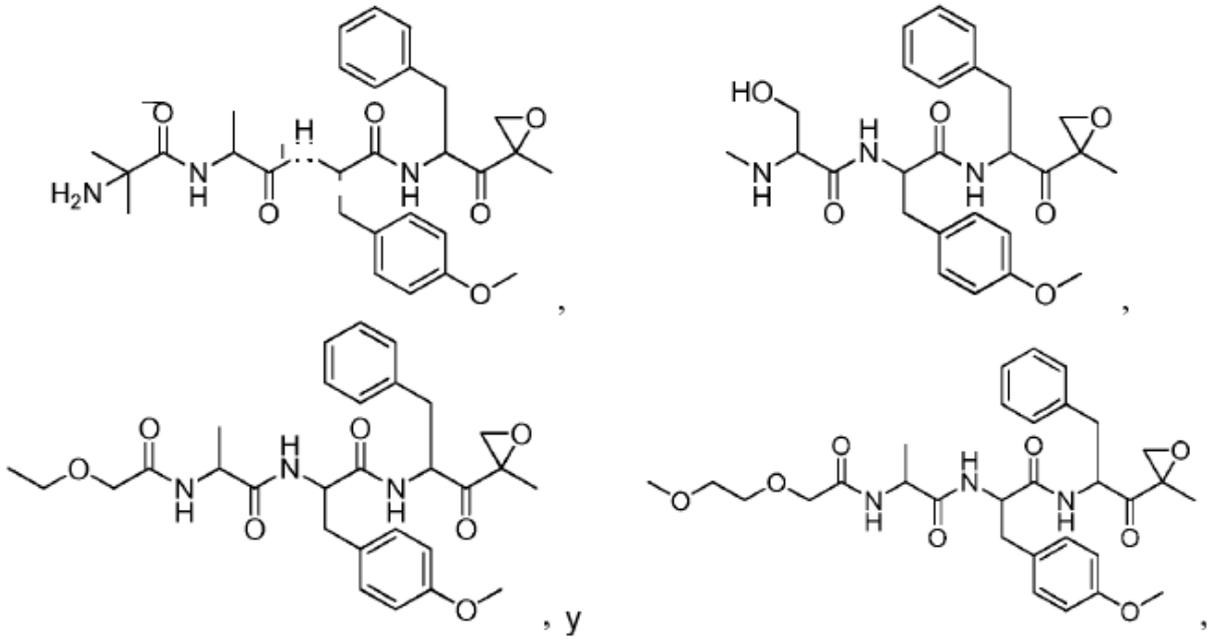






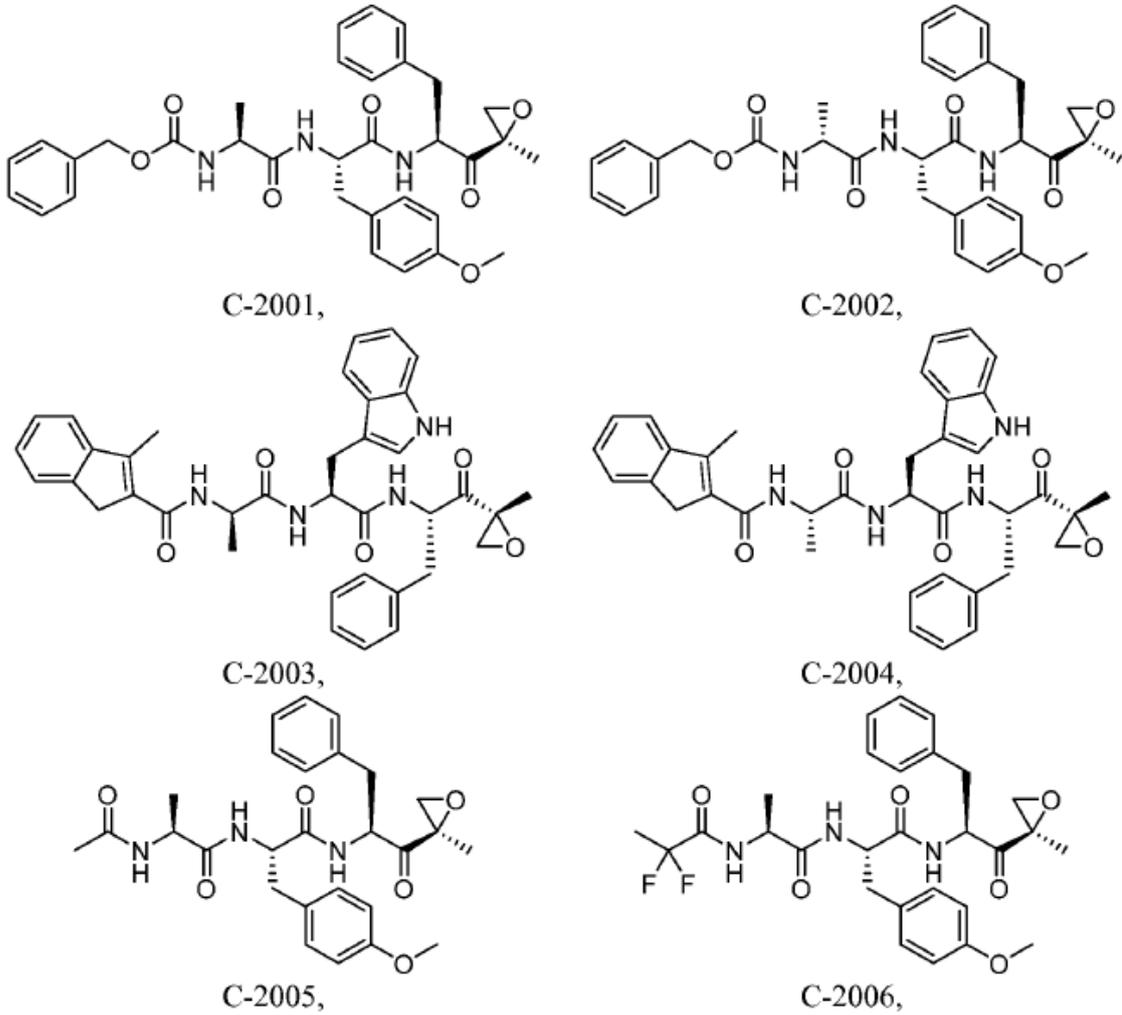


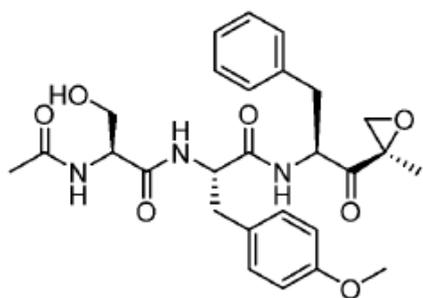




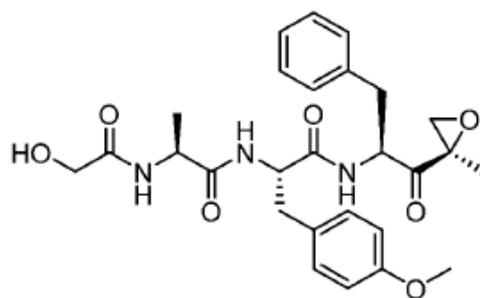
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunos ejemplos ejemplares, un compuesto de Fórmula (X) se selecciona del grupo que consiste en:

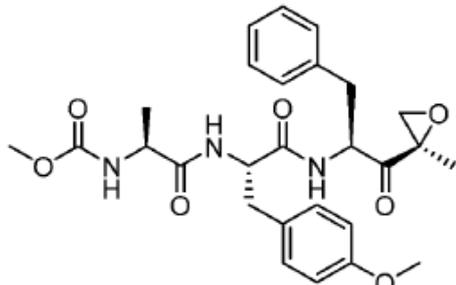




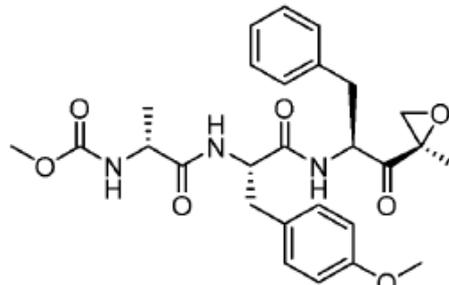
C-2007,



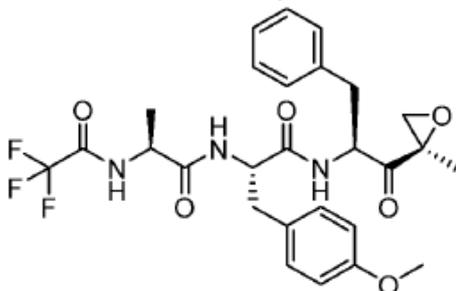
C-2008,



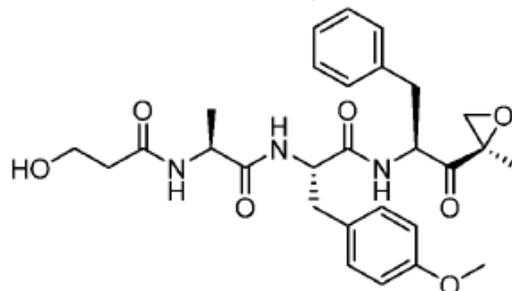
C-2009,



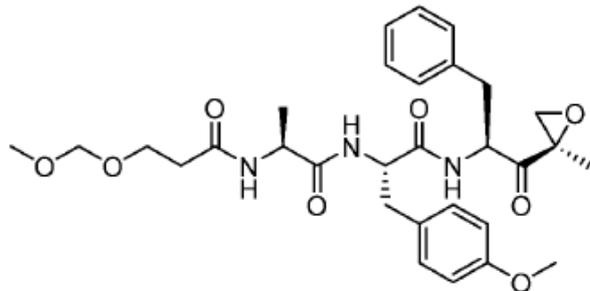
C-2010,



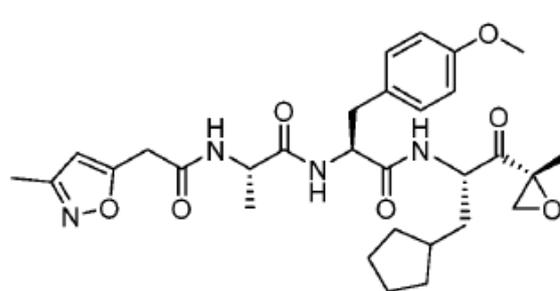
C-2011,



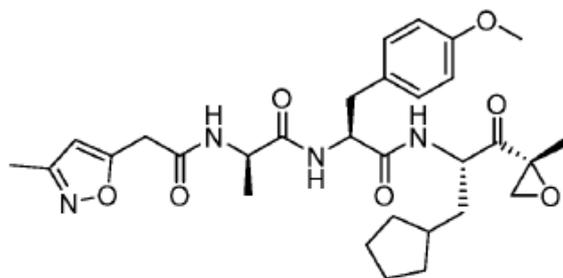
C-2012,



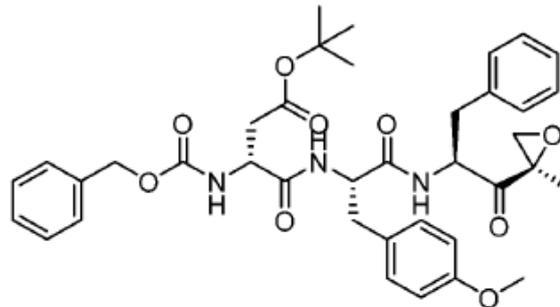
C-2013,



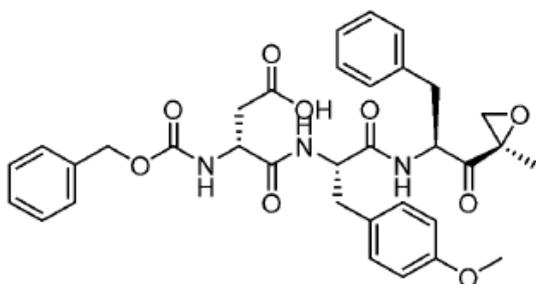
C-2014,



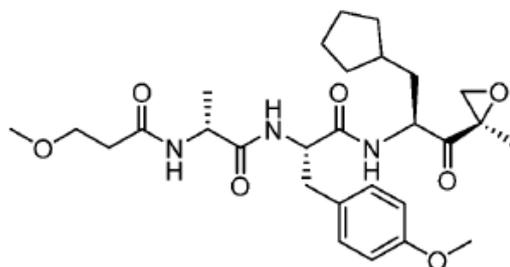
C-2015,



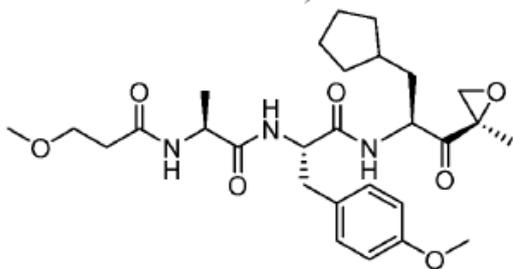
C-2016,



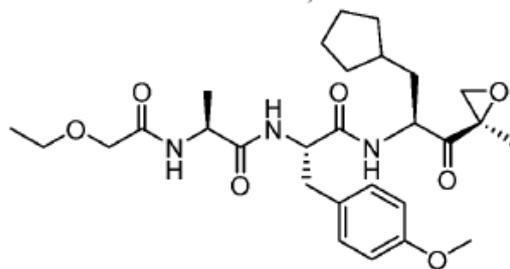
C-2017,



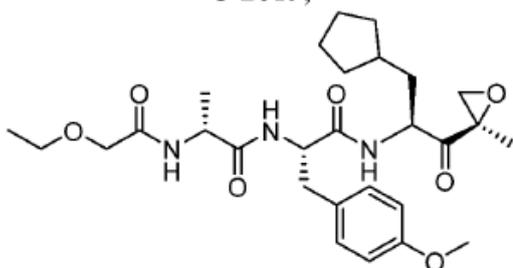
C-2018,



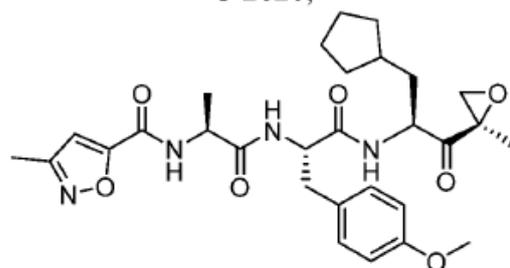
C-2019,



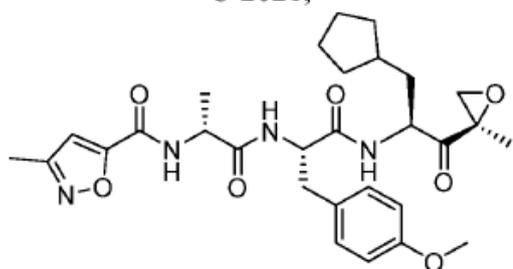
C-2020,



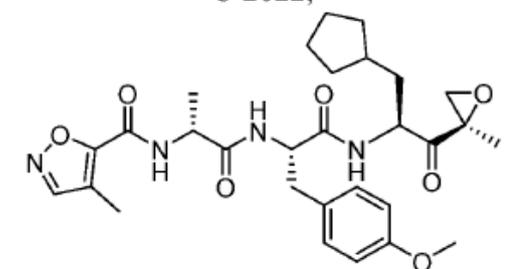
C-2021,



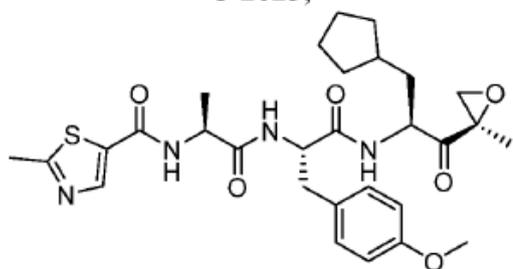
C-2022,



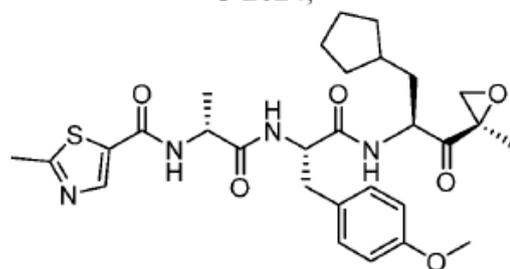
C-2023,



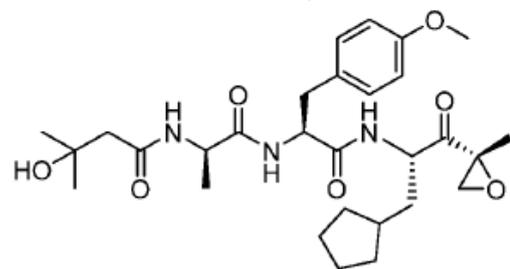
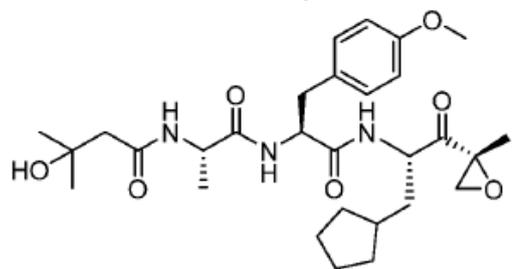
C-2024,



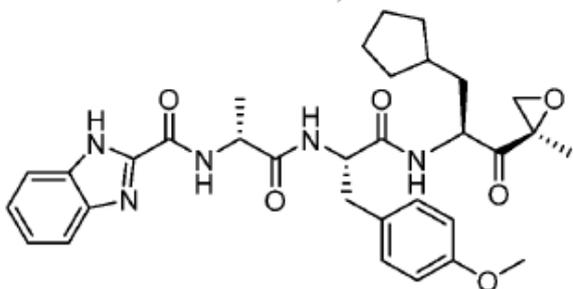
C-2025,



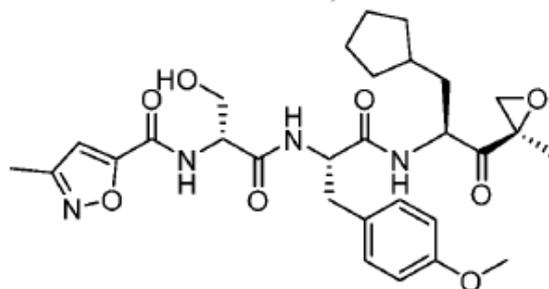
C-2026,



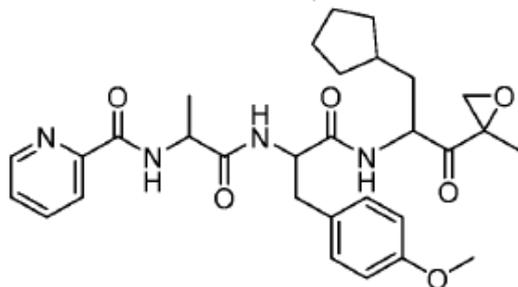
C-2027,



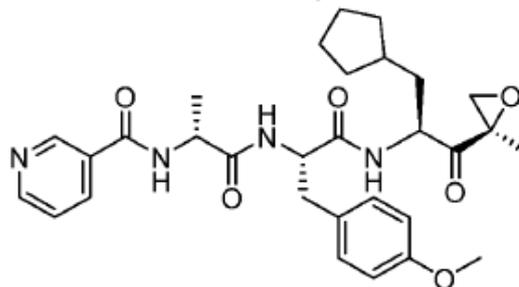
C-2028,



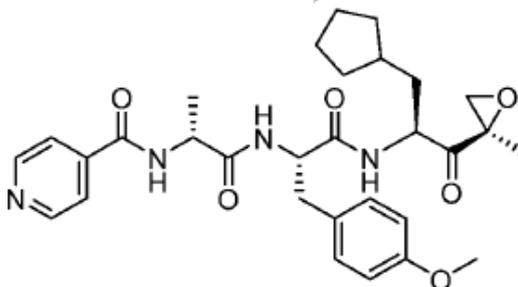
C-2029,



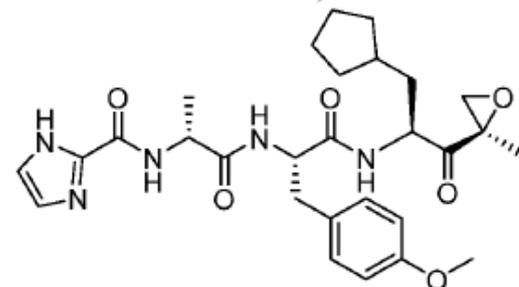
C-2030,



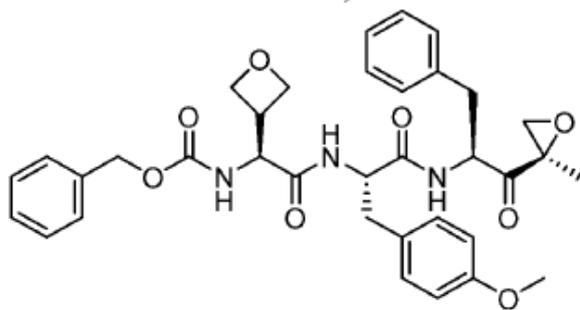
C-2031,



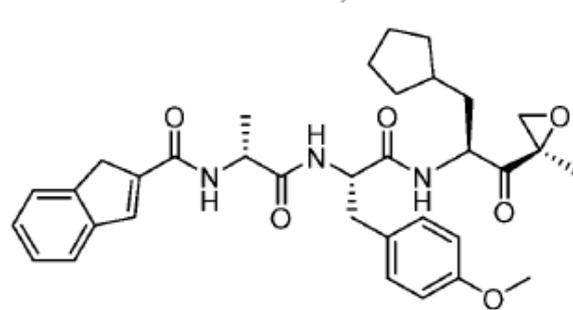
C-2032,



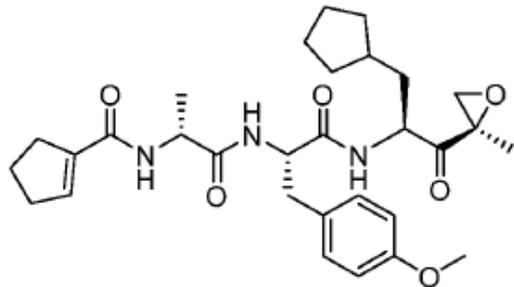
C-2033,



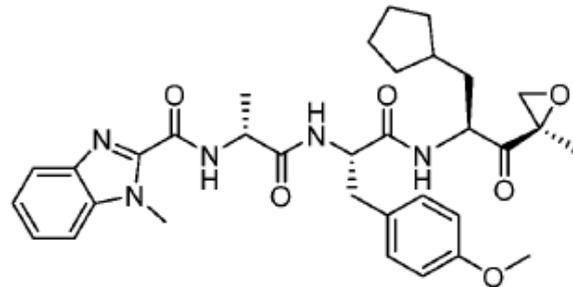
C-2034,



C-2035,

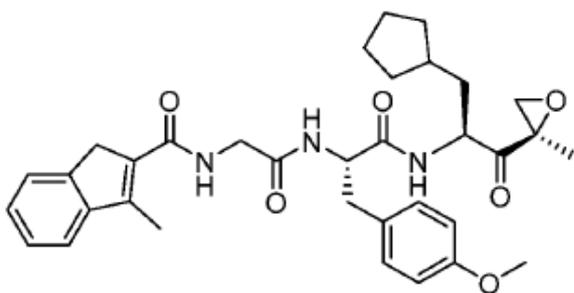


C-2036,

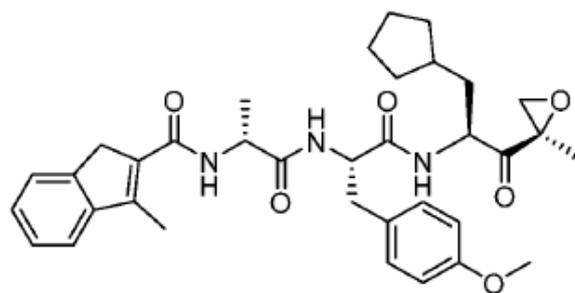


C-2037,

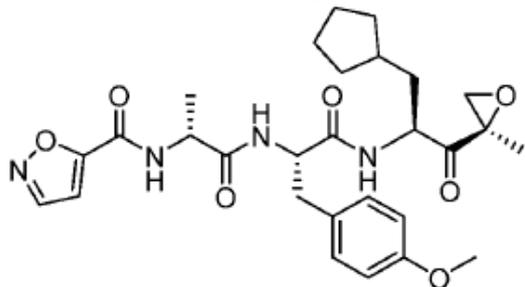
C-2038,



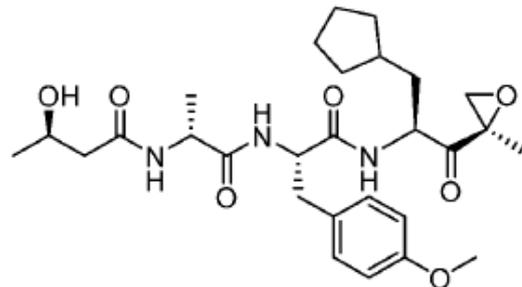
C-2039,



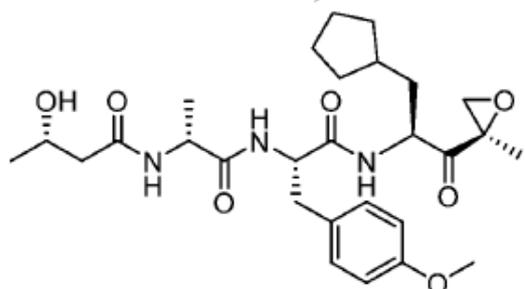
C-2040,



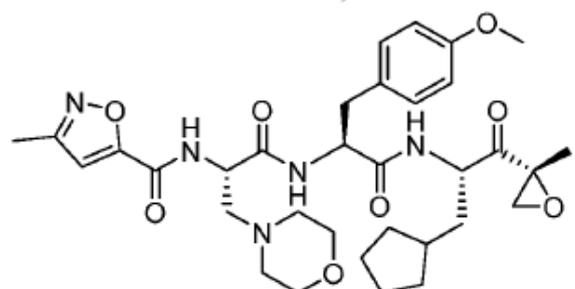
C-2041,



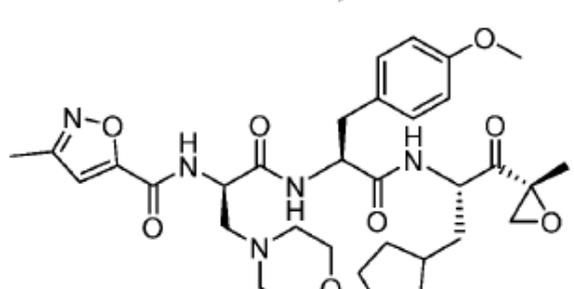
C-2042,



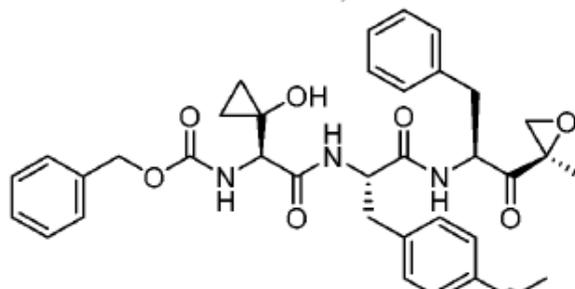
C-2043,



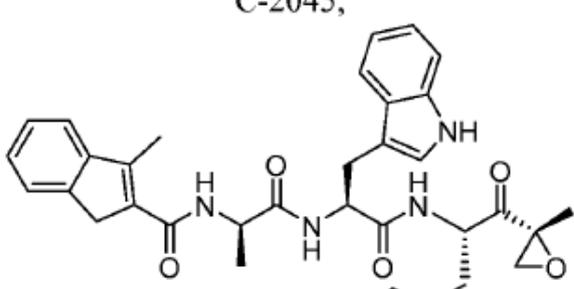
C-2044,



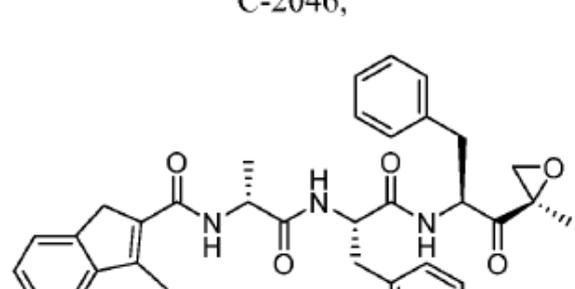
C-2045,



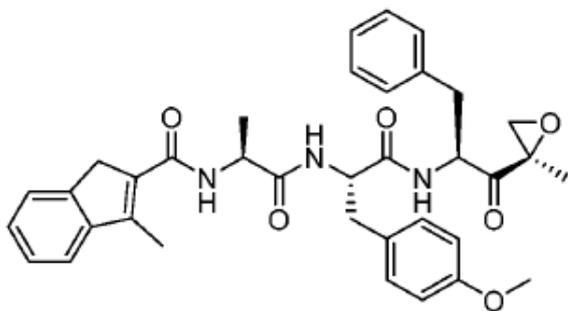
C-2046,



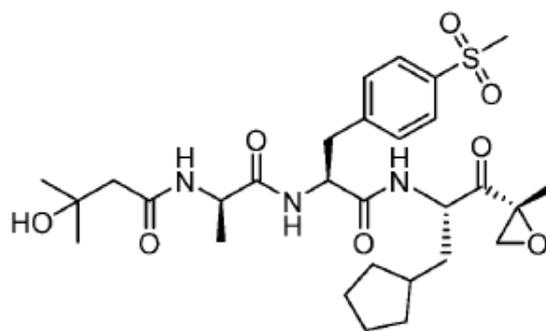
C-2047,



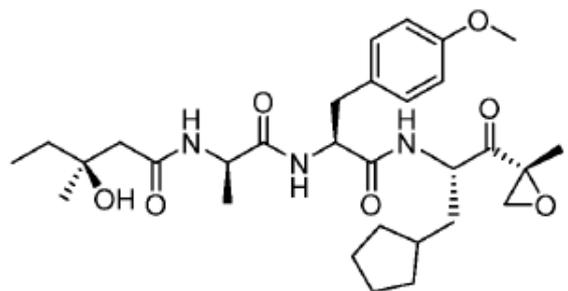
C-2048,



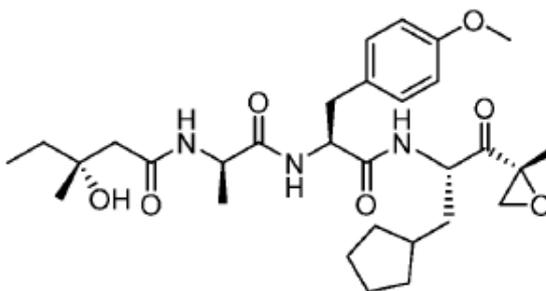
C-2049,



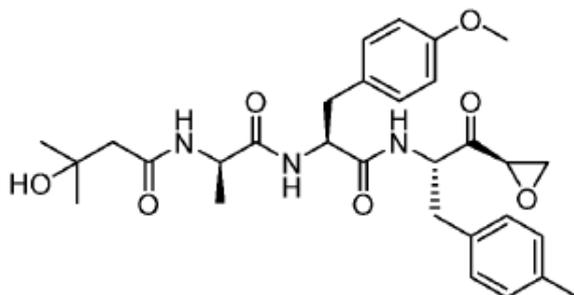
C-2050,



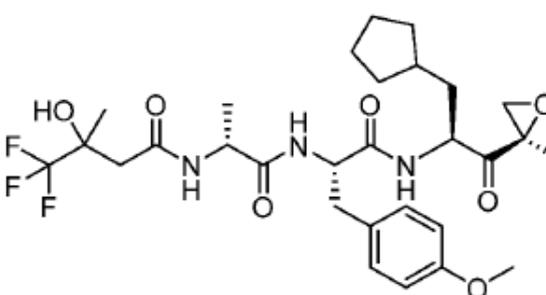
C-2051,



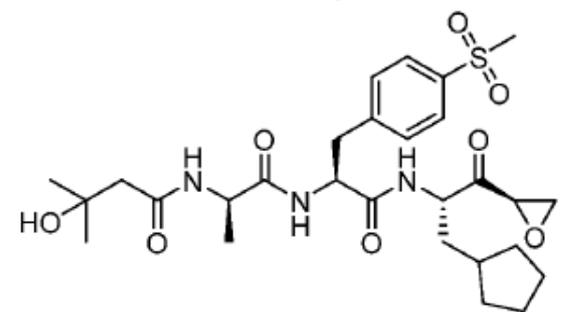
C-2052,



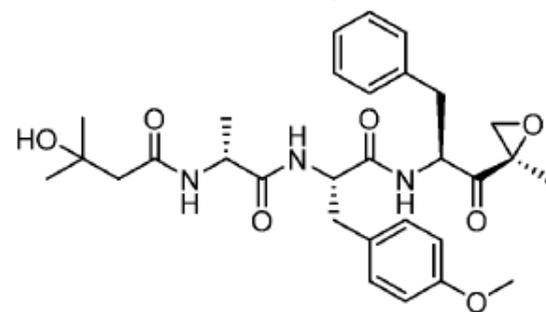
C-2053,



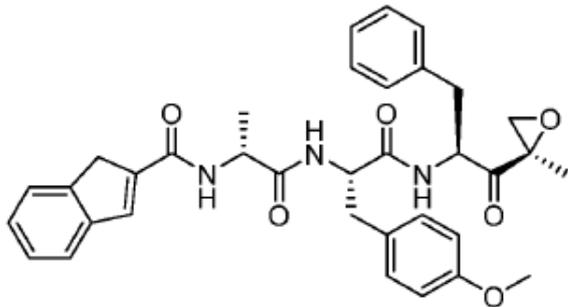
C-2054,



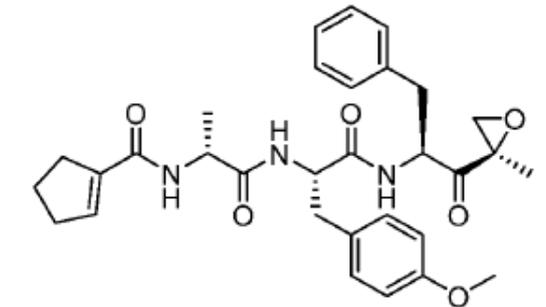
C-2055,



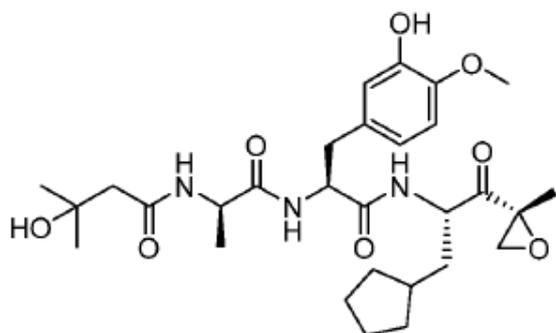
C-2056,



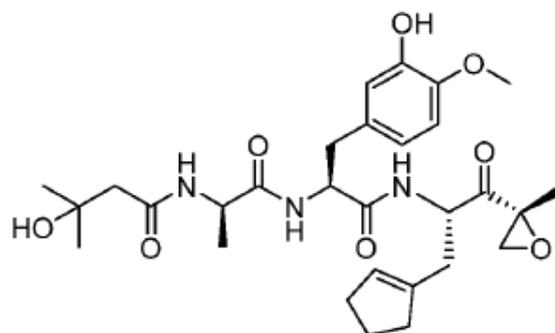
C-2057,



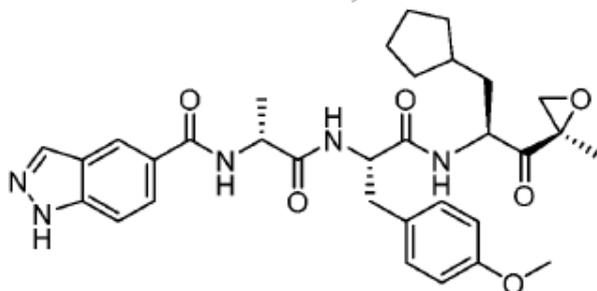
C-2058,



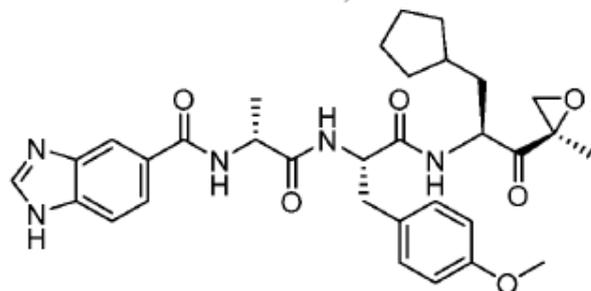
C-2059,



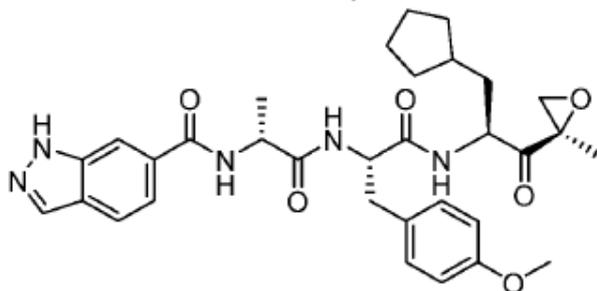
C-2060,



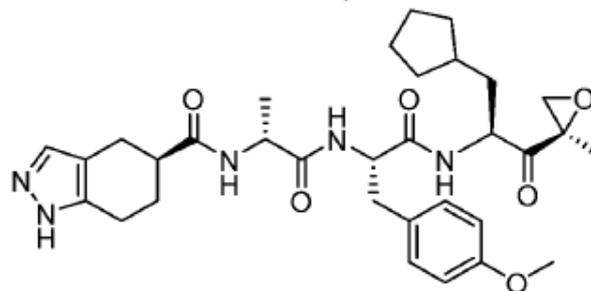
C-2061,



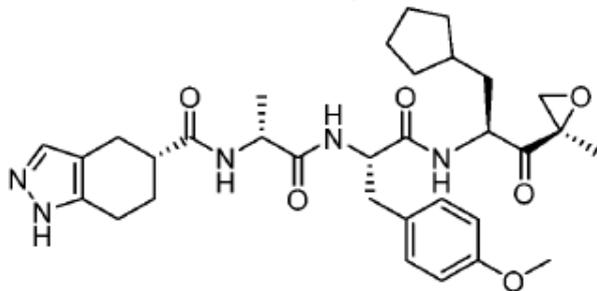
C-2062,



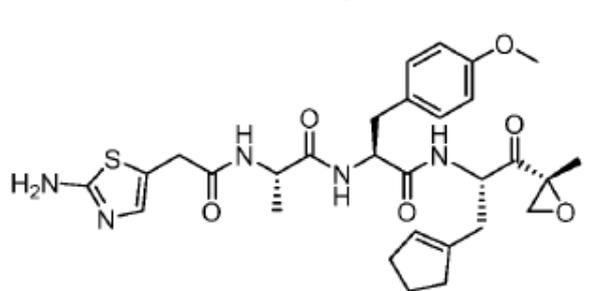
C-2063,



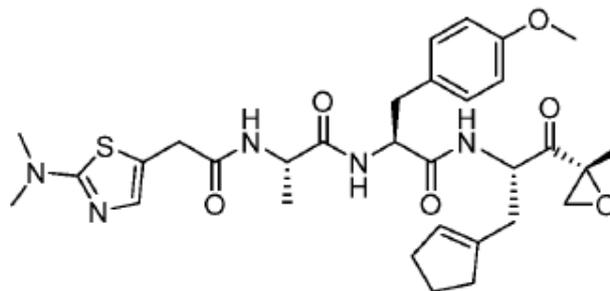
C-2064,



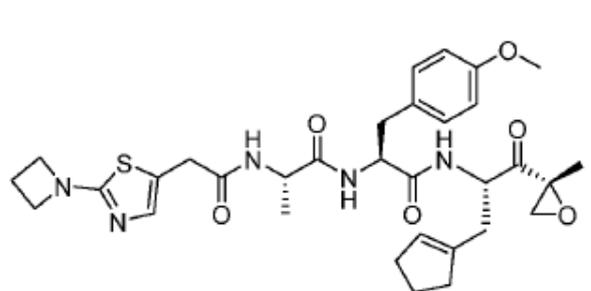
C-2065,



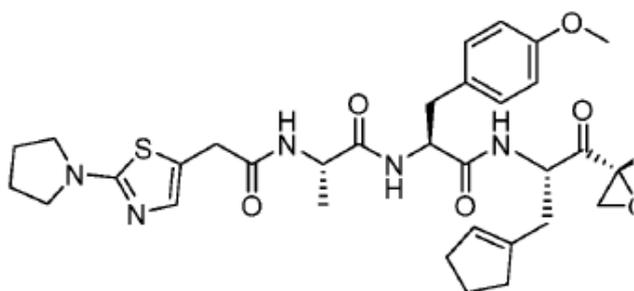
C-2066,



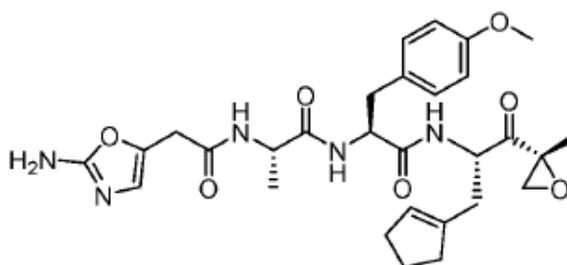
C-2067,



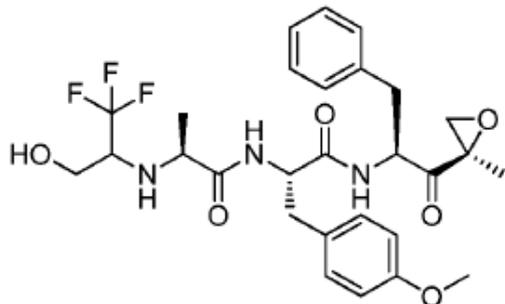
C-2068,



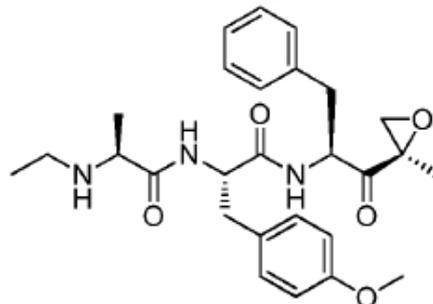
C-2069,



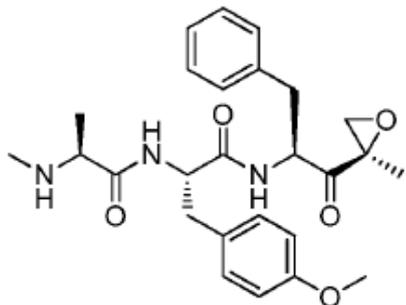
C-2070,



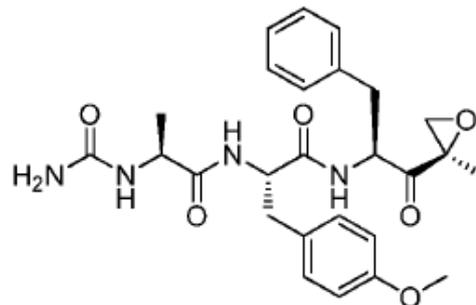
C-2071,



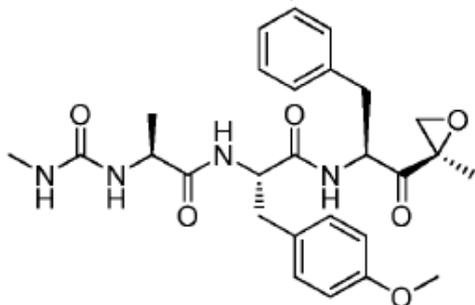
C-2072,



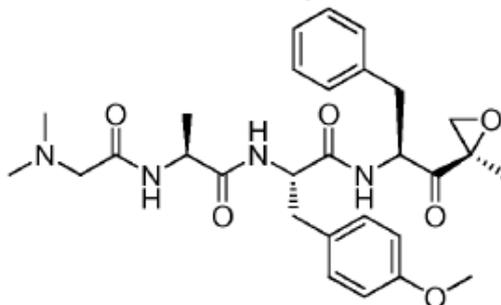
C-2073,



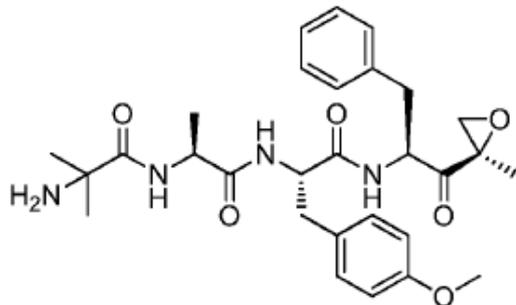
C-2074,



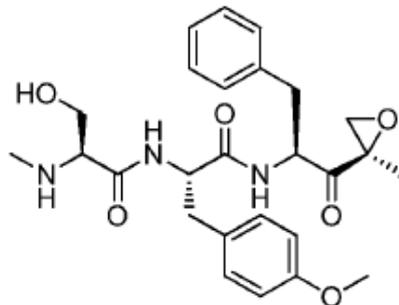
C-2075,



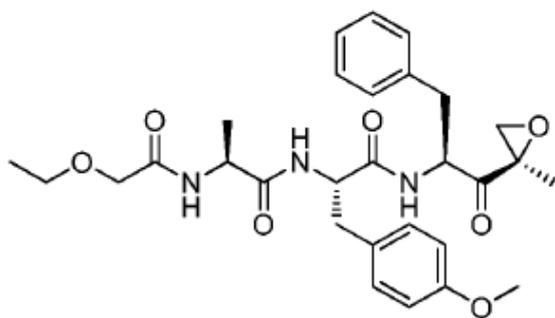
C-2076,



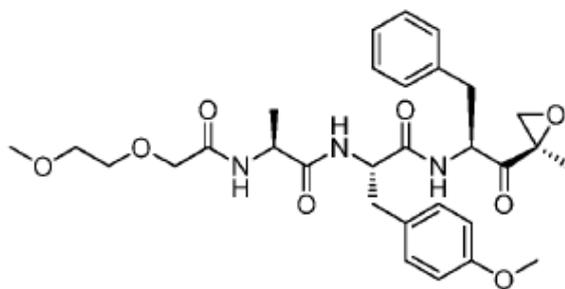
C-2077,



C-2078,



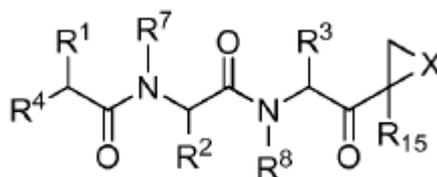
C-2079, y



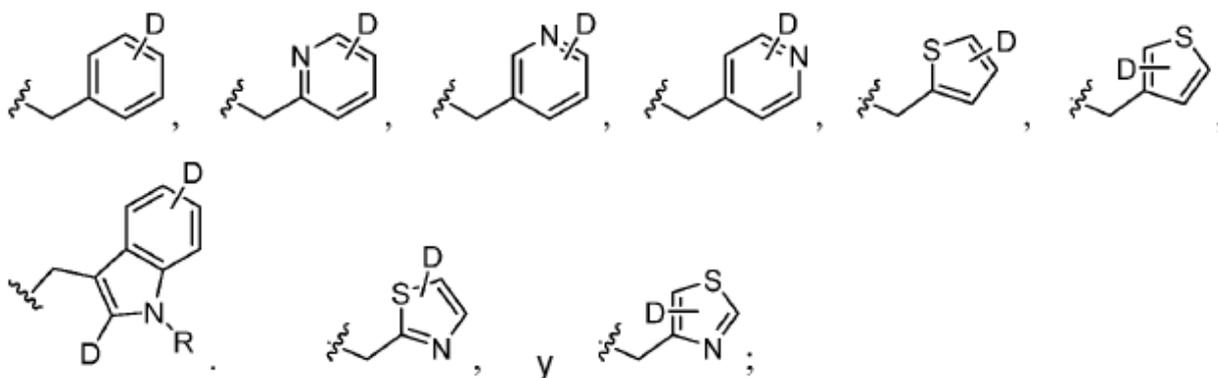
C-2080,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se describe en la presente memoria un compuesto que tiene una estructura de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

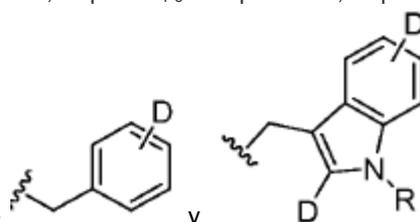


- 5 en donde:
- B está ausente o es  $N(R^9)R^{10}$ ;
- L está ausente o se selecciona de C=O, C=S, y  $SO_2$ ;
- Q está ausente o se selecciona de O, NH, y N-alquilo  $C_{1-6}$ ;
- 10 X se selecciona de O, S, NH, y N-alquilo  $C_{1-6}$ ;
- M está ausente o es alquilo  $C_{1-12}$ ;
- cada uno de  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo  $C_{1-6}$ -B, alqueno  $C_{2-6}$ , alquino  $C_{2-6}$ , hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxialquilo  $C_{1-6}$ , carbocicilo, carbocicliiM-, heterocicilo, heterocicliiM-, arilo, aralquilo  $C_{1-6}$ , heteroarilo y heteroaralquilo  $C_{1-6}$ ;
- 15  $R^4$  es  $N(R^5)L-Q-R^6$ ;
- $R^5$  se selecciona de hidrógeno, OH, aralquilo  $C_{1-6}$  y alquilo  $C_{1-6}$ ;
- $R^6$  se selecciona de hidrógeno, y alquilo  $C_{1-6}$ ;
- $R^7$  y  $R^8$  se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , y aralquilo  $C_{1-6}$ ;
- $R^9$  se selecciona de hidrógeno, OH, y alquilo  $C_{1-6}$ ; y
- 20  $R^{10}$  es un grupo protector N-terminal; y
- $R^{15}$  se selecciona de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ ,  $-C(O)O$ alquilo  $C_{1-6}$ ,  $-C(O)NH$ alquilo  $C_{1-6}$ , y aralquilo  $C_{1-6}$ .
- En algunos compuestos,  $R^7$  y  $R^8$  se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ . Por ejemplo,  $R^7$  y  $R^8$  pueden ser ambos hidrógeno.
- 25 En algunos compuestos,  $R^{15}$  se selecciona de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  e hidroxialquilo  $C_{1-6}$ . Por ejemplo,  $R^{15}$  puede seleccionarse de hidrógeno, metilo, etilo, hidroximetilo, y 2-hidroxietilo.
- En algunos ejemplos,  $R^5$  es hidrógeno.
- En algunos compuestos,  $R^2$  se selecciona de aralquilo  $C_{1-6}$  y heteroaralquilo  $C_{1-6}$ . Por ejemplo,  $R^2$  puede seleccionarse de alquilo  $C_{1-6}$ -fenilo, alquilo  $C_{1-6}$ -indolilo, alquilo  $C_{1-6}$ -tienilo, alquilo  $C_{1-6}$ -tiazolilo, y alquilo  $C_{1-6}$ -isotiazolilo. En algunos ejemplos,  $R^2$  se selecciona de
- 30



en donde D se selecciona de hidrógeno, metoxi, *t*-butoxi, hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometilo, y alquilo C<sub>1-4</sub>; y R es hidrógeno o un grupo protector adecuado.

- 5 En algunos compuestos, R<sup>3</sup> se selecciona de carbocicliilM-, aralquilo C<sub>1-6</sub> y heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>. Por ejemplo, R<sup>3</sup> puede seleccionarse de alquilo C<sub>1-6</sub>-ciclopentilo, alquilo C<sub>1-6</sub>-ciclopentenilo, alquilo C<sub>1-6</sub>-fenilo y alquilo C<sub>1-6</sub>-indolilo.



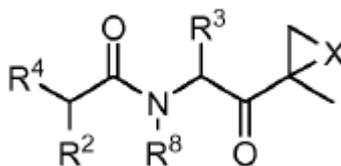
En algunos ejemplos, R<sup>3</sup> se selecciona de hidrógeno, metoxi, *t*-butoxi, hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometilo, y alquilo C<sub>1-4</sub>; y R es hidrógeno o un grupo protector adecuado.

- 10 En algunos ejemplos, R<sup>6</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>. En algunos ejemplos, R<sup>1</sup> está sustituido con uno o más halógenos, tal como flúor.

En algunos compuestos, R<sup>1</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1-6</sub>-B, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>, arilo y aralquilo C<sub>1-6</sub>. Por ejemplo, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de -alquilo C<sub>1-6</sub>B y aralquilo C<sub>1-6</sub>. Los ejemplos no limitativos de R<sup>1</sup> incluyen metilo, etilo, isopropilo, carboximetilo y bencilo. En algunos ejemplos, R<sup>1</sup> está sustituido con uno o más halógenos tal como flúor.

- 15 En algunos ejemplos, L es C=O, Q está ausente y R<sup>6</sup> es -alquilo C<sub>1-6</sub>. En algunos ejemplos, R<sup>6</sup> está sustituido con uno o más halógenos, tal como flúor. En otros ejemplos, L es C=O, Q está ausente, y R<sup>6</sup> es hidrógeno.

En la presente memoria también se describe un compuesto de Fórmula (IIa) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



- 20 (IIa)

L está ausente o se selecciona de C=O, C=S, y SO<sub>2</sub>;

M está ausente o es alquilo C<sub>1-12</sub>;

Q está ausente o se selecciona de O, NH, y N-alquilo C<sub>1-6</sub>;

X se selecciona de O, S, NH, N-alquilo C<sub>1-6</sub>;

- 25 cada Z se selecciona independientemente de O, S, NH, y N-alquilo C<sub>1-6</sub>; o

Z es opcionalmente un enlace covalente cuando está adyacente a una aparición de A;

R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> se seleccionan cada uno independientemente de arilo, aralquilo C<sub>1-6</sub>, heteroarilo, y heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sub>4</sub> es N(R<sup>5</sup>)L-Q-R<sup>6</sup>;

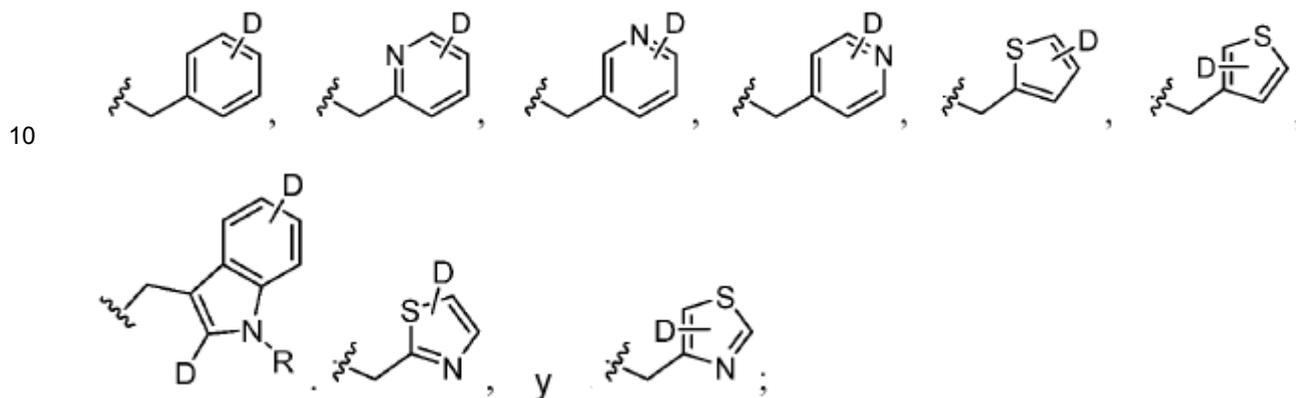
R<sup>5</sup> se selecciona de hidrógeno, OH, aralquilo C<sub>1-6</sub>, y alquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>6</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1-6</sub>, heterociclilo, heteroarilo, heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>, heterocicliM-, carbocicliM; y

5 R<sup>8</sup> se selecciona de hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> y aralquilo C<sub>1-6</sub>. En los compuestos de la presente invención R<sup>8</sup> es hidrógeno.

En los compuestos de la presente invención R<sup>5</sup> es hidrógeno.

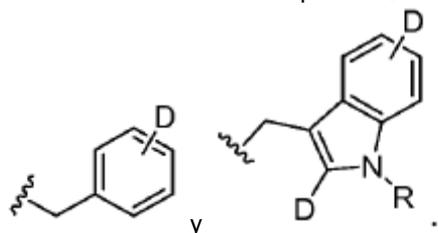
En los compuestos de la presente invención R<sup>2</sup> se selecciona de aralquilo C<sub>1-6</sub> y heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>. Por ejemplo, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de alquilo C<sub>1-6</sub>-fenilo, alquilo C<sub>1-6</sub>-indolilo, alquilo C<sub>1-6</sub>-tienilo, alquilo C<sub>1-6</sub>-tiazolilo, y alquilo C<sub>1-6</sub>-isotiazolilo. En algunos ejemplos, R<sup>2</sup> se selecciona de



en donde D se selecciona de hidrógeno, metoxi, t-butoxi, hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometilo, y alquilo C<sub>1-4</sub>; y

R es hidrógeno o un grupo protector adecuado.

15 En compuestos de la presente invención, R<sup>3</sup> se selecciona de aralquilo C<sub>1-6</sub> y heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>. Por ejemplo, R<sup>3</sup> puede seleccionarse de alquilo C<sub>1-6</sub>-fenilo y alquilo C<sub>1-6</sub>-indolilo. En algunas realizaciones, R<sup>3</sup> se selecciona de



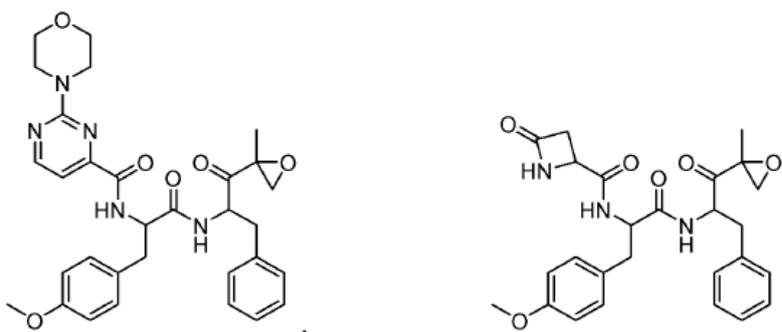
en donde D se selecciona de hidrógeno, metoxi, t-butoxi, hidroxilo, ciano, trifluorometilo, y alquilo C<sub>1-4</sub>; y

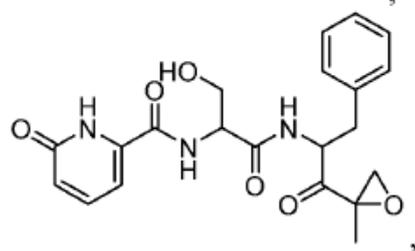
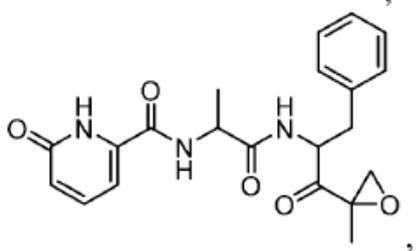
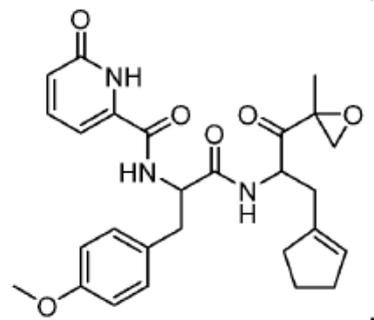
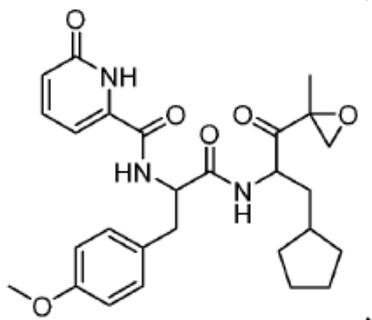
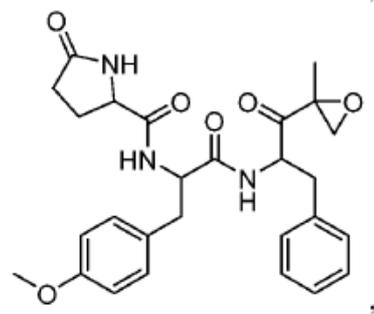
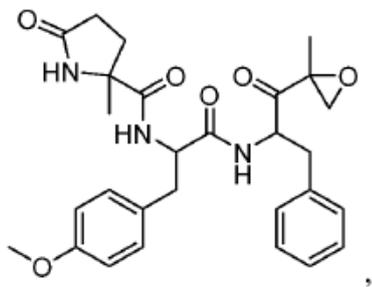
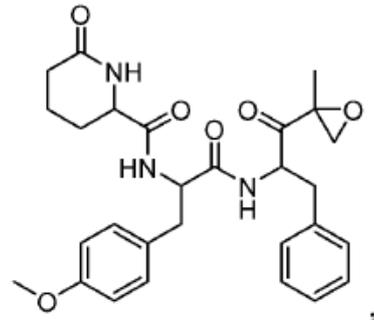
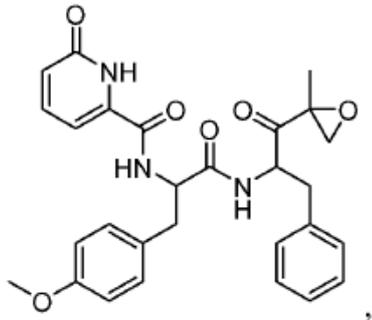
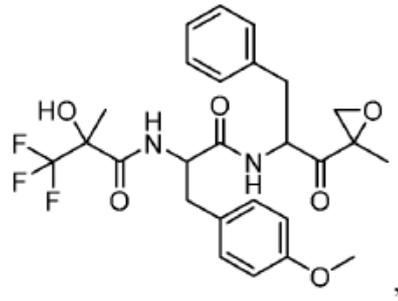
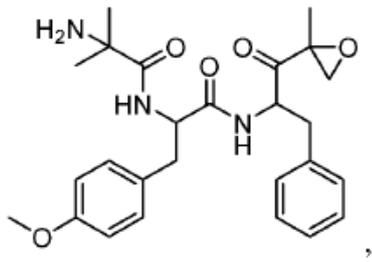
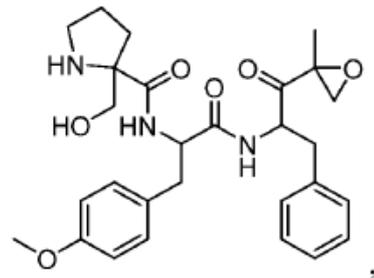
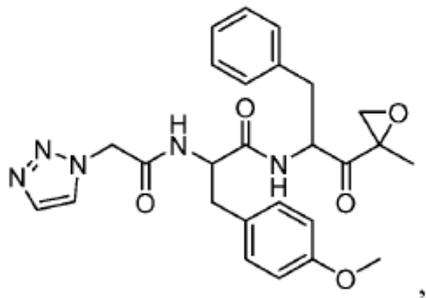
R es hidrógeno o un grupo protector adecuado

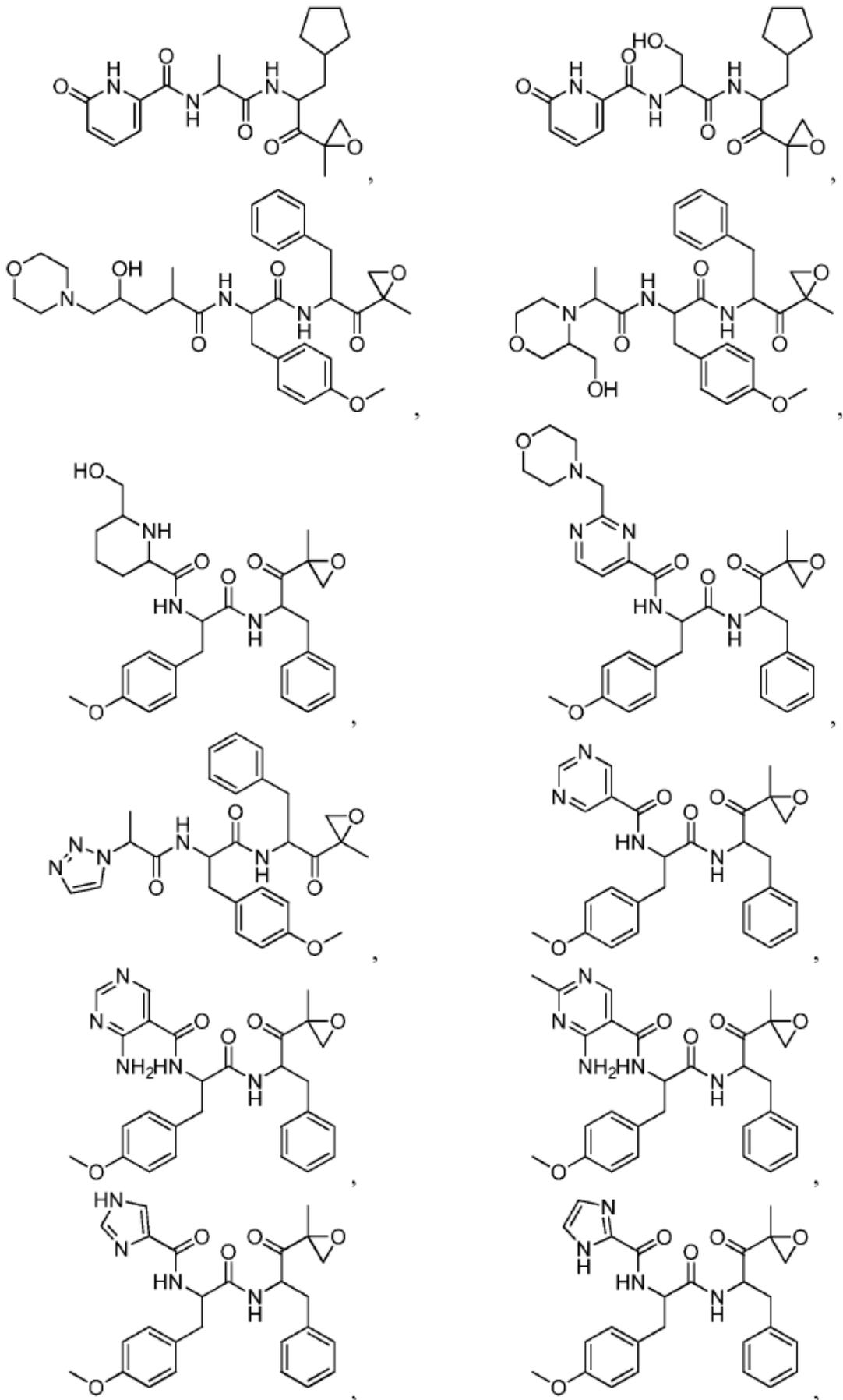
En algunos ejemplos, R<sup>6</sup> se selecciona de heterociclilo, heteroarilo, y heterocicliM-.

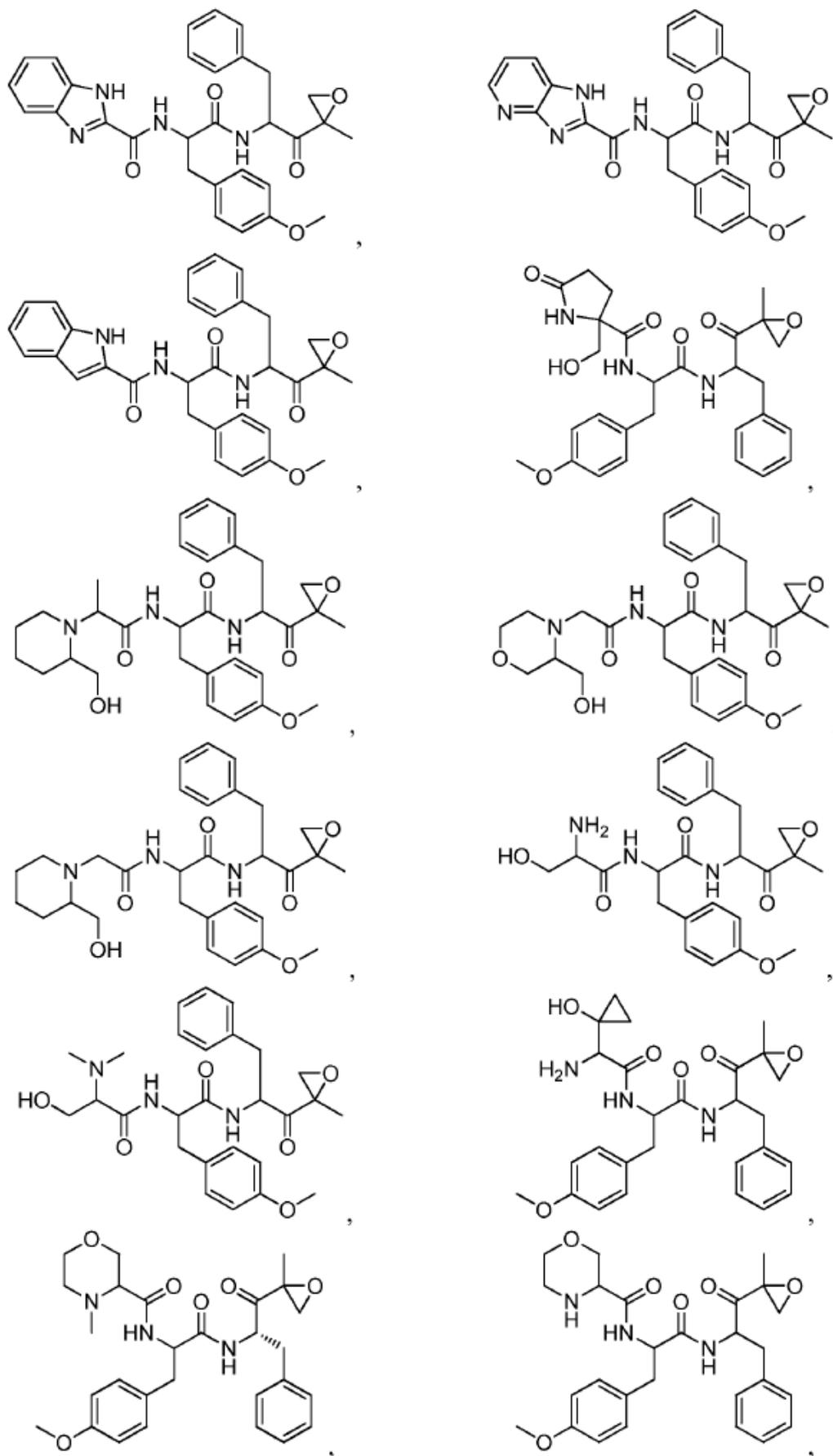
20 En compuestos de la presente invención L es C=O, Q está ausente, y R<sup>6</sup> es heterociclilo o heteroarilo.

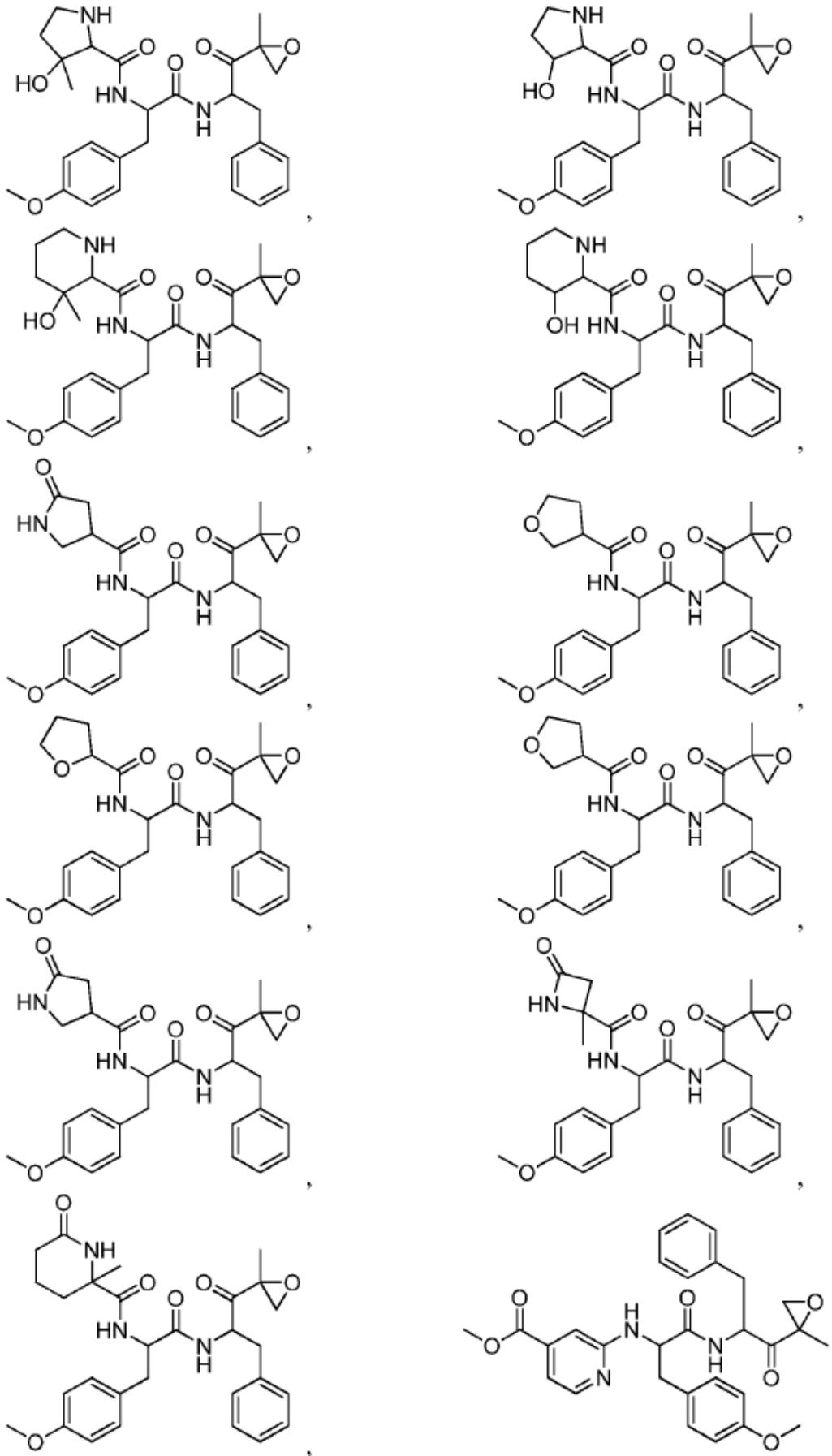
Los ejemplos no limitativos de un compuesto de Fórmula (IIa) incluyen:

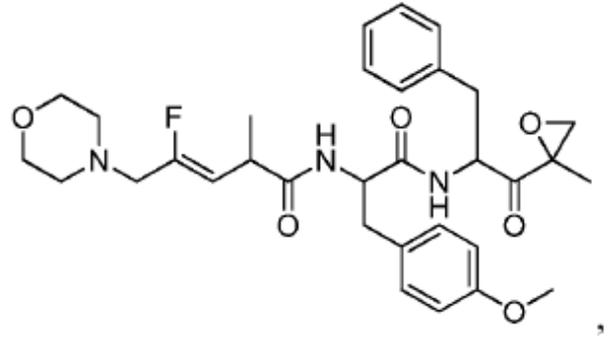
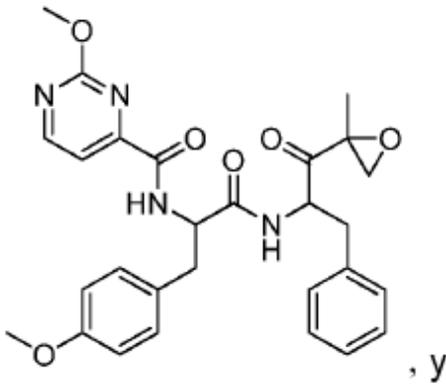






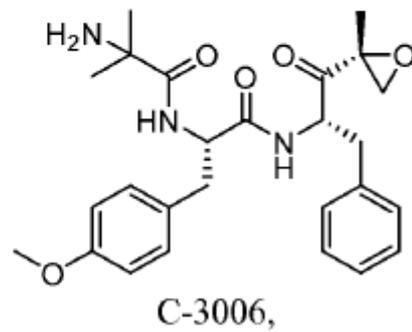
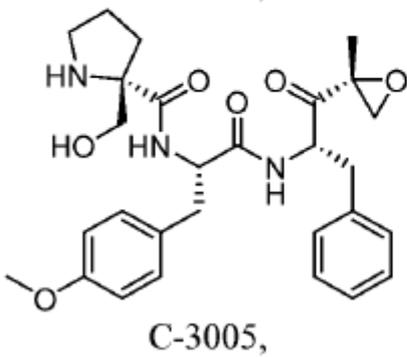
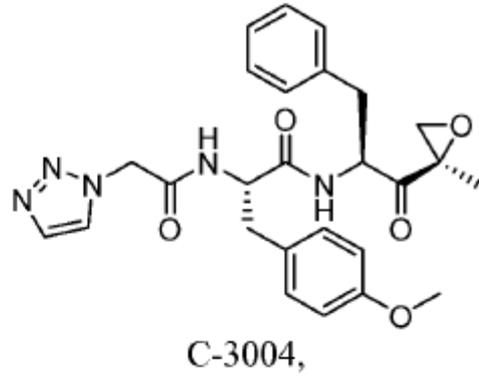
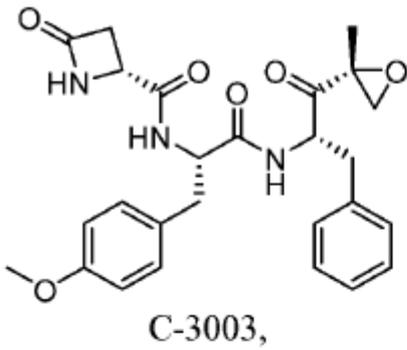
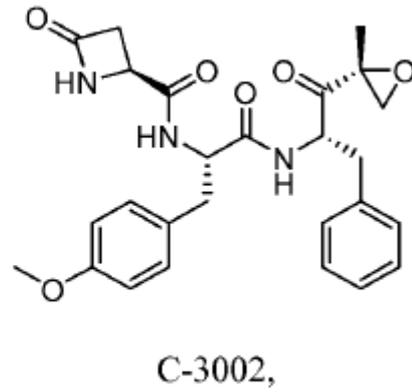
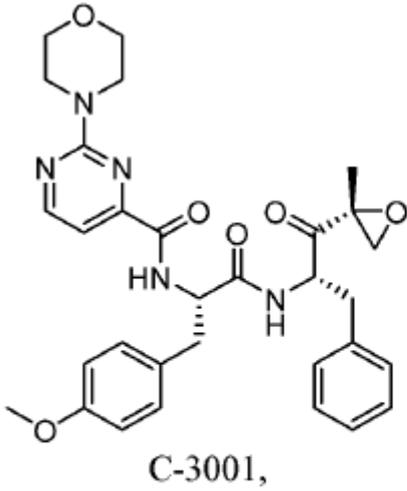


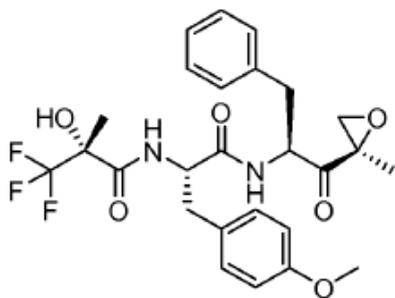




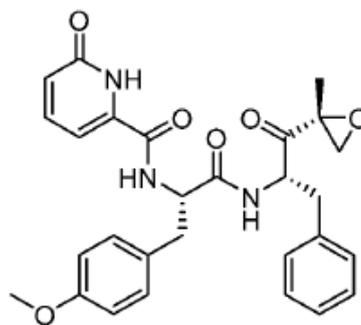
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (IIa) puede seleccionarse del grupo que consiste en:

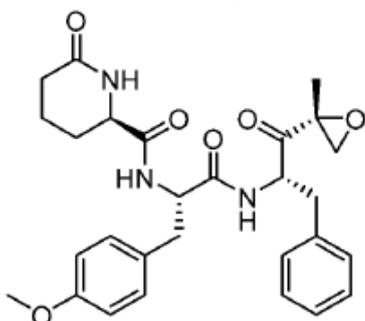




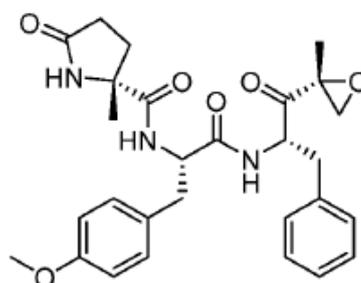
C-3007,



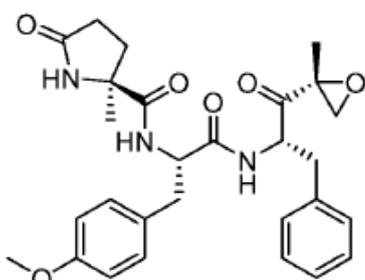
C-3008,



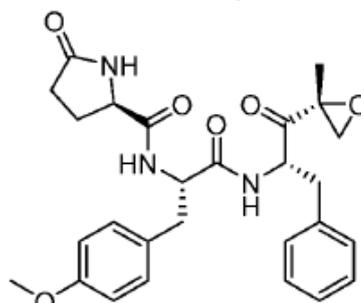
C-3009,



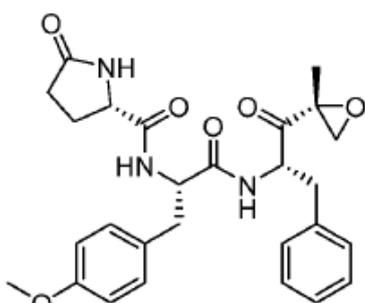
C-3010,



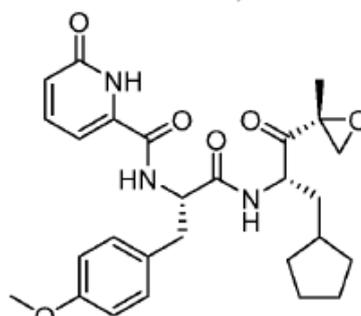
C-3011,



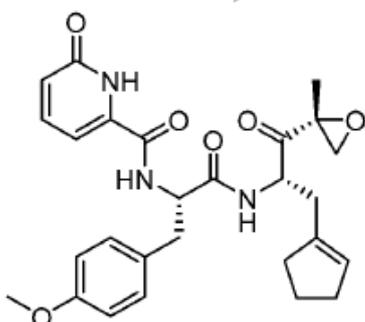
C-3012,



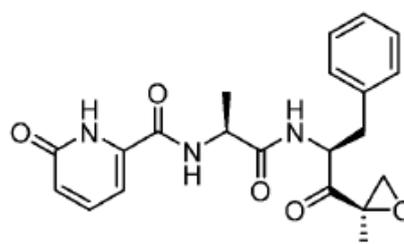
C-3013,



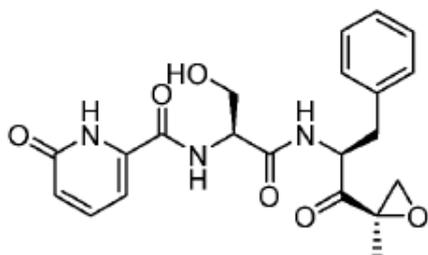
C-3014,



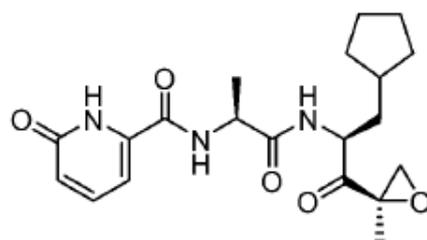
C-3015,



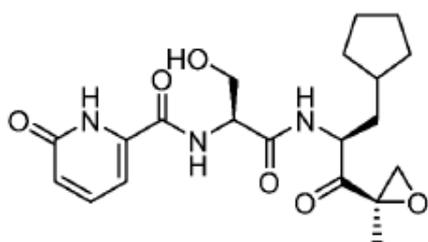
C-3016,



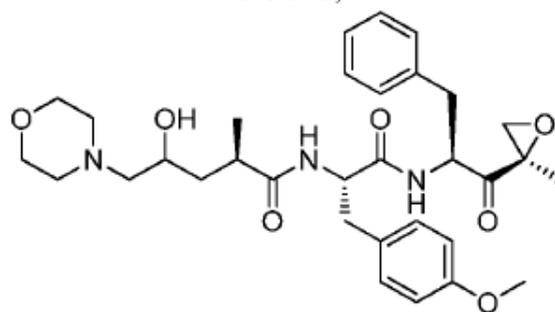
C-3017,



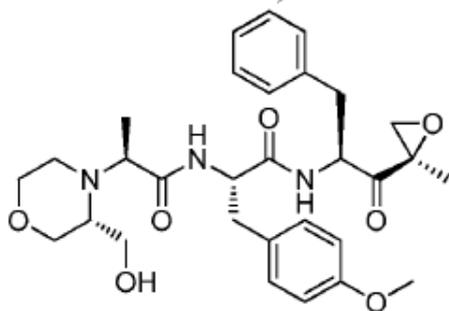
C-3018,



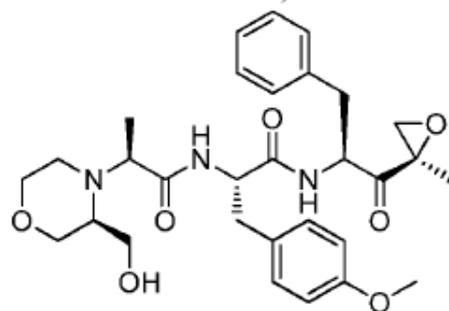
C-3019,



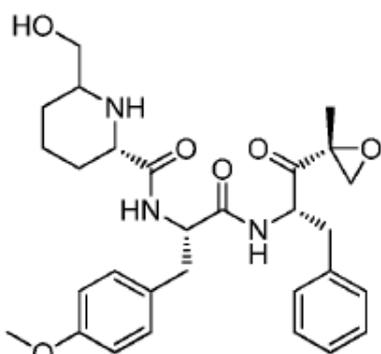
C-3020,



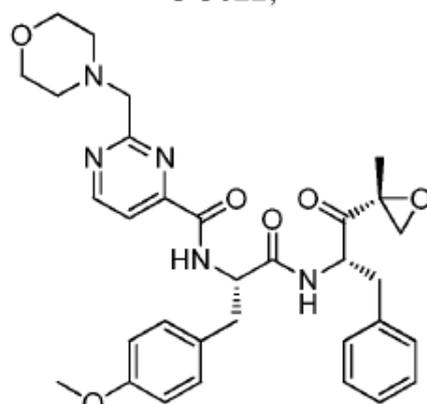
C-3021,



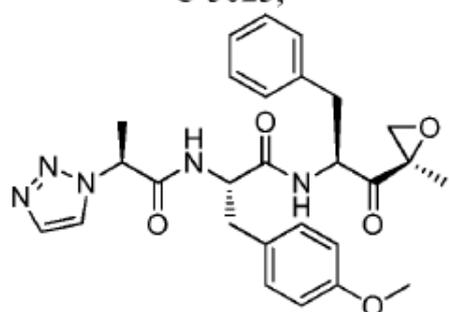
C-3022,



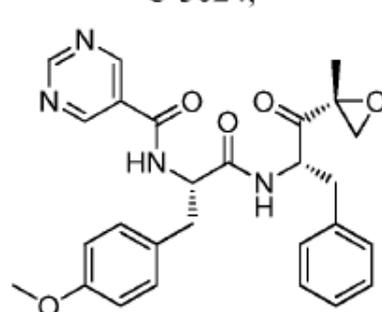
C-3023,



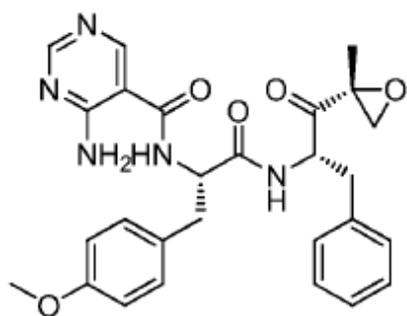
C-3024,



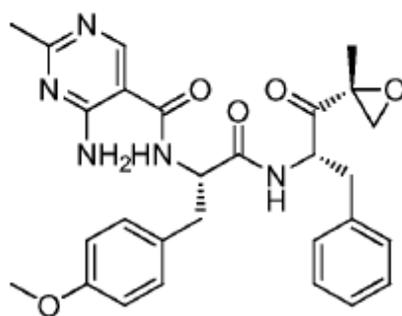
C-3025,



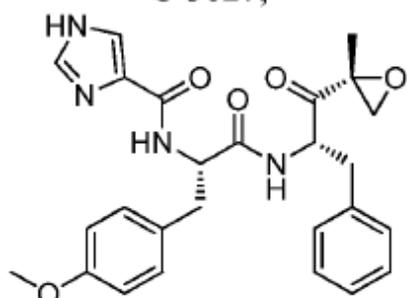
C-3026,



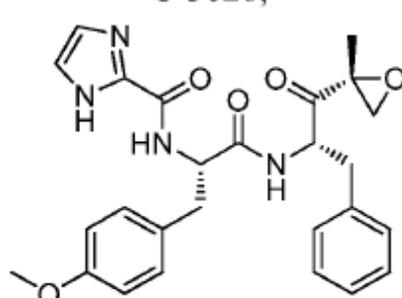
C-3027,



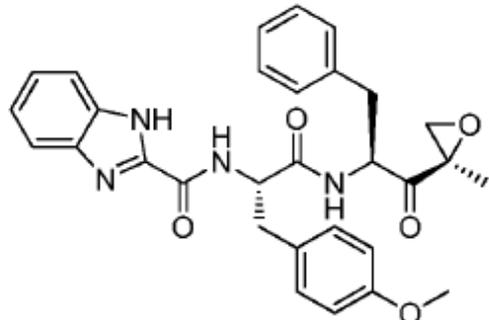
C-3028,



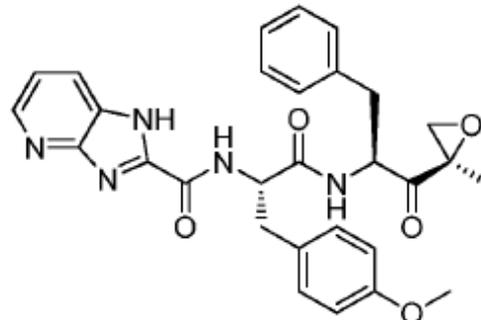
C-3029,



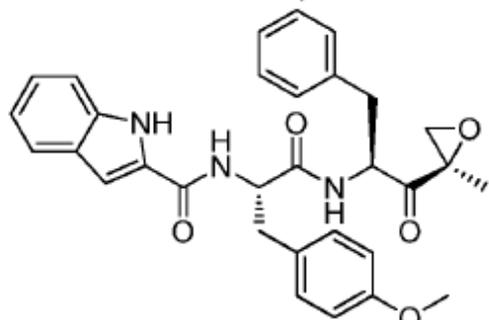
C-3030,



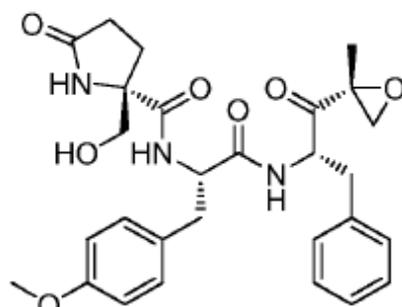
C-3031,



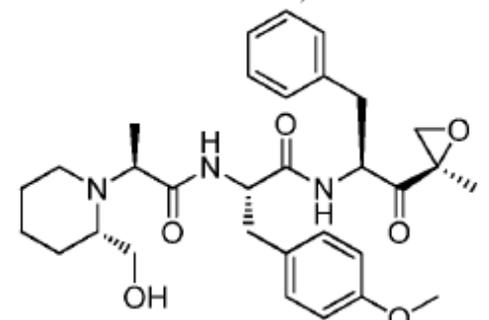
C-3032,



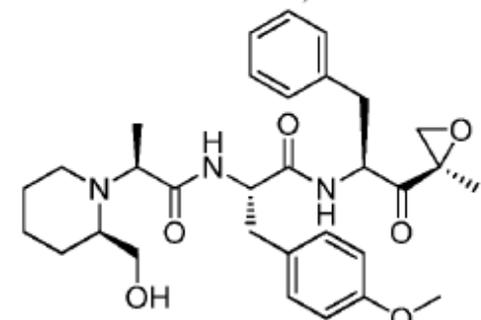
C-3033,



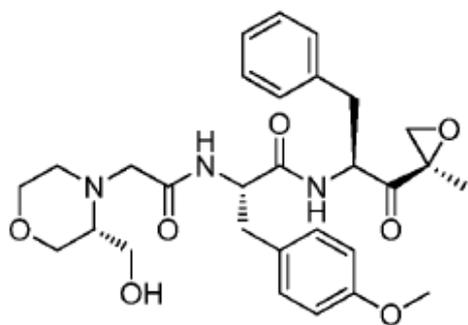
C-3034,



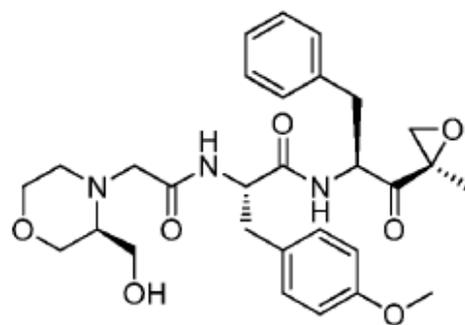
C-3035,



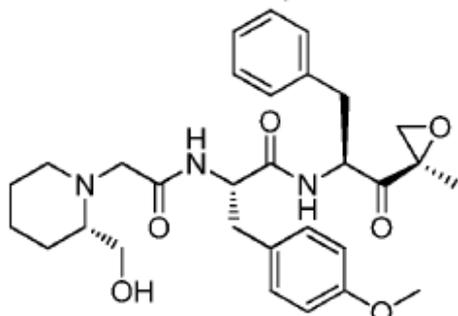
C-3036,



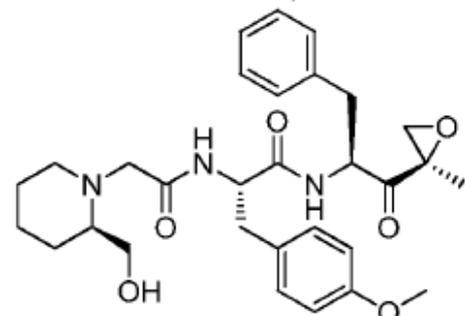
C-3037,



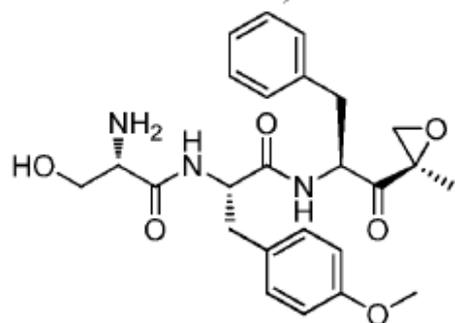
C-3038,



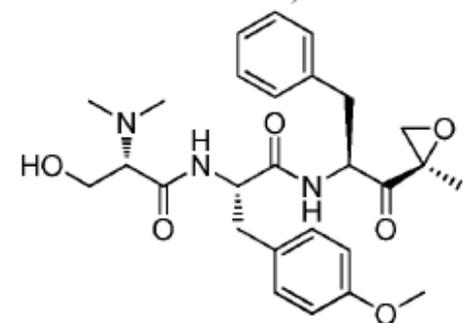
C-3039,



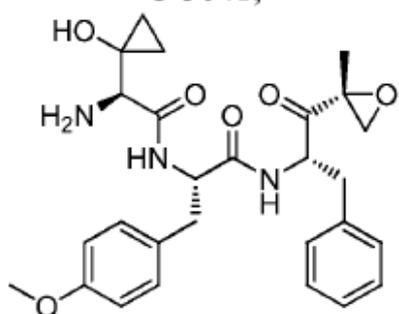
C-3040,



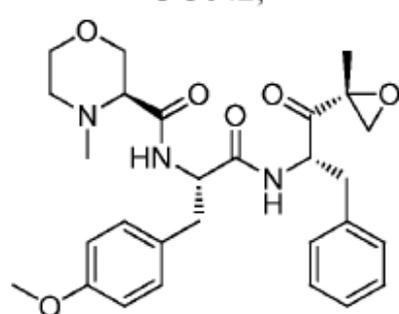
C-3041,



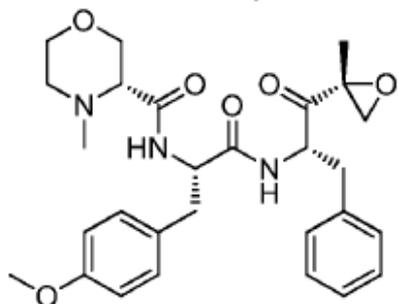
C-3042,



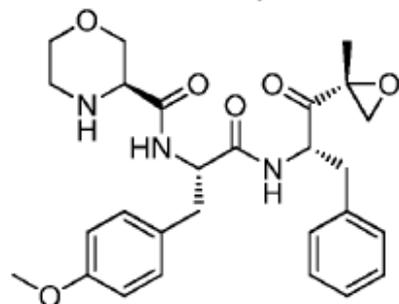
C-3043,



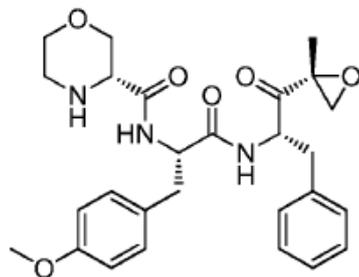
C-3044,



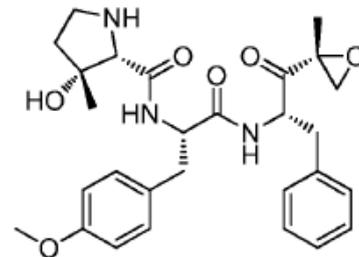
C-3045,



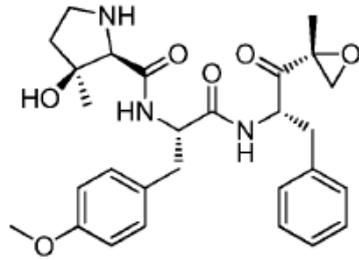
C-3046,



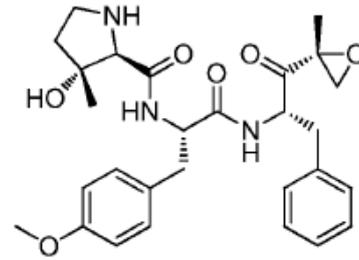
C-3047,



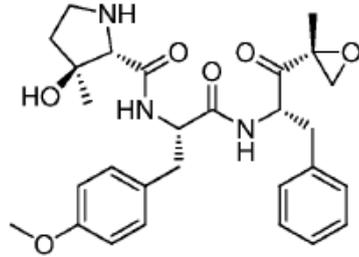
C-3048,



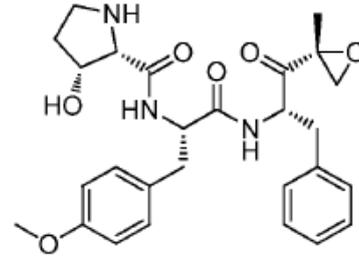
C-3049,



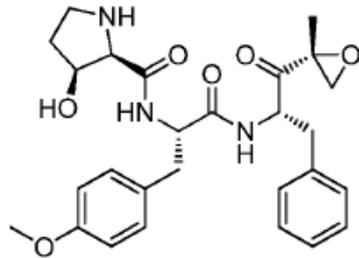
C-3050,



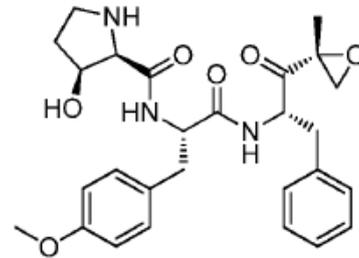
C-3051,



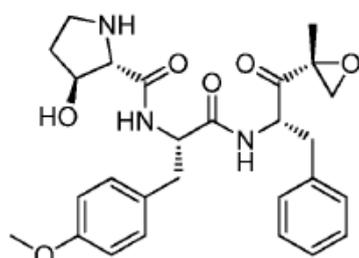
C-3052,



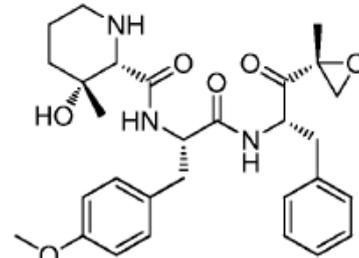
C-3053,



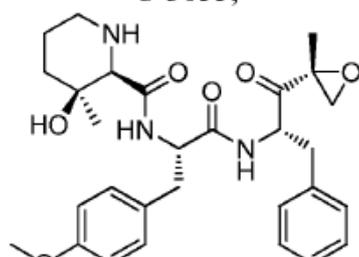
C-3054,



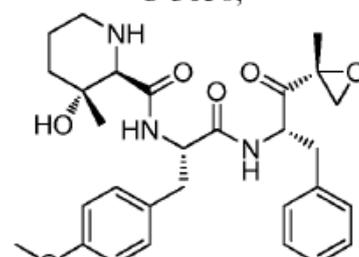
C-3055,



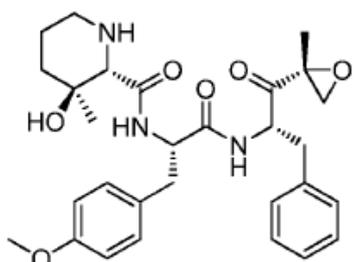
C-3056,



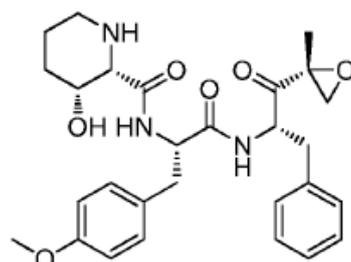
C-3057,



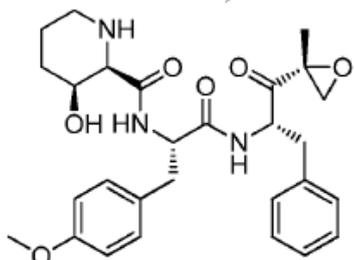
C-3058,



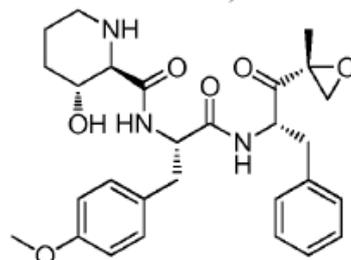
C-3059,



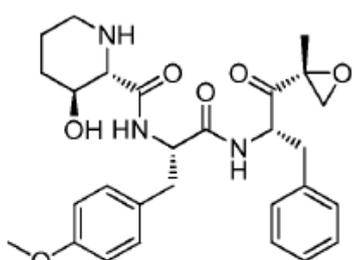
C-3060,



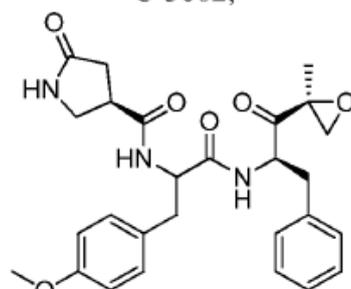
C-3061,



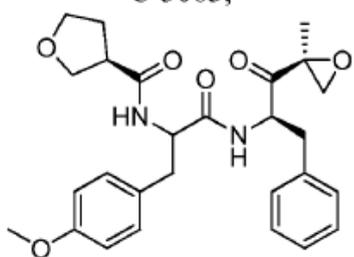
C-3062,



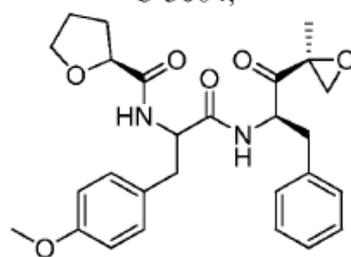
C-3063,



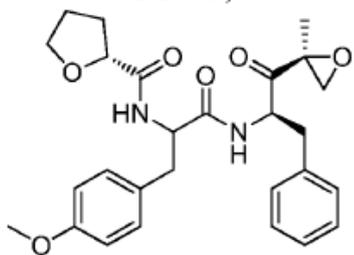
C-3064,



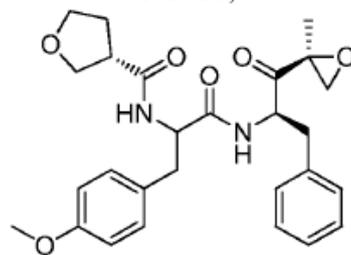
C-3065,



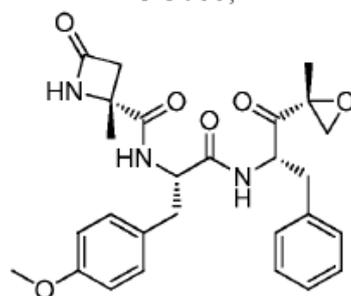
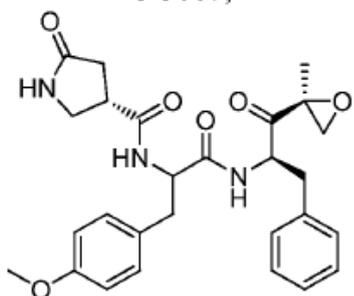
C-3066,

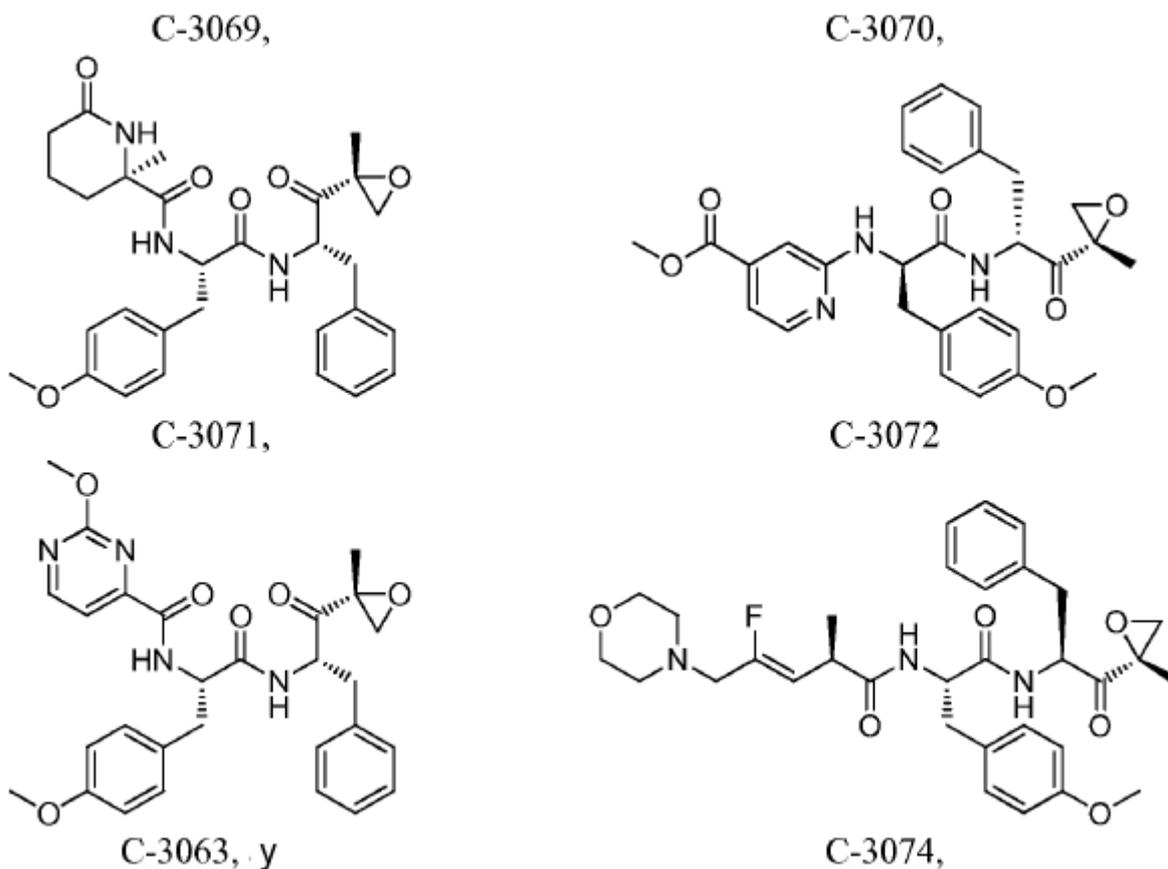


C-3067,



C-3068,





o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos proporcionados en la presente memoria pueden sintetizarse usando técnicas convencionales usando materiales de partida fácilmente disponibles. En general, los compuestos proporcionados en la presente memoria se obtienen convenientemente mediante métodos de síntesis de química orgánica estándar. Por ejemplo, los compuestos proporcionados en la presente memoria pueden prepararse usando los métodos descritos en la presente memoria o utilizando los métodos sintéticos descritos en las Patentes U.S. Nos. 7.232.818; 7.417.042; 7.687.456; 7.691.852; y 8.088.741.

#### Métodos de uso

Los compuestos descritos en la presente memoria pueden usarse para inhibir el inmunoproteasoma (iP). En algunos casos, los compuestos descritos en la presente memoria inhiben LMP2 de iP. LMP2 se ha implicado en la regulación del crecimiento celular de varios tumores y puede estar implicado en el cáncer de próstata. Véase Wehenkel et al., *Brit. J Cancer*, 107:53-62 (2012) y Ho et al., *Chem & Biol.*, 14: 419-430 (2007).

Las consecuencias biológicas de la inhibición del proteasoma son numerosas. Se ha sugerido la inhibición del proteasoma como una prevención y/o un tratamiento de multitud de enfermedades que incluyen, pero sin limitación, enfermedades proliferativas, enfermedades neurotóxicas/degenerativas, enfermedad de Alzheimer, afecciones isquémicas, inflamación, enfermedades autoinmunes, VIH, cánceres, rechazo tras el trasplante de órganos, choque séptico, inhibición de la presentación del antígeno, disminución de la expresión génica viral, infecciones parasitarias, afecciones asociadas con acidosis, degeneración macular, afecciones pulmonares, enfermedades de atrofia muscular, enfermedades fibróticas, y enfermedades óseas y del crecimiento del cabello. Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas para compuestos específicos de proteasoma, tales como las moléculas de la clase epoxi cetona, proporcionan un medio para administrar un fármaco a un paciente y tratar estas afecciones.

A nivel celular, se ha reportado la acumulación de proteínas poliubiquitinadas, cambios morfológicos celulares, y apoptosis después del tratamiento de las células con varios inhibidores del proteasoma. La inhibición del proteasoma también se ha sugerido como una posible estrategia terapéutica antitumoral. El hecho de que la epoxomicina se identificara inicialmente en un cribado para compuestos antitumorales valida al proteasoma como una diana quimioterapéutica antitumoral. De acuerdo con esto, estas composiciones son útiles para tratar el cáncer.

Tanto los modelos *in vitro* como *in vivo* han mostrado que las células malignas, en general, son susceptibles a la inhibición del proteasoma. De hecho, la inhibición del proteasoma ya se ha validado como una estrategia terapéutica

para el tratamiento de mieloma múltiple. Esto podría deberse, en parte, a la dependencia de las células malignas altamente proliferativas del sistema del proteasoma para eliminar rápidamente proteínas (Rolfe et al., *J. Mol. Med.* (1997) 75-5-17; Adams, *Nature* (2004) 4: 349-360). Por lo tanto, en la presente memoria se proporciona un método para tratar un cáncer que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o composición como se proporciona en la presente memoria.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "cáncer" incluye, pero no está limitado a, tumores transportados por la sangre y sólidos. Cáncer se refiere a una enfermedad de la sangre, hueso, órganos, tejido cutáneo y el sistema vascular, incluyendo, pero no limitado a, cánceres de la vejiga, sangre, hueso, cerebro, mama, cuello uterino, pecho, colon, endometrio, esófago, ojo, cabeza, riñón, hígado, pulmón, nodos linfáticos, boca, cuello, ovarios, páncreas, próstata, recto, renal, de la piel, estómago, testículos, garganta y útero. Los cánceres específicos incluyen, pero no están limitados a, leucemia (leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia de células pilosas), neoplasmas de células B maduras (linfoma linfocítico pequeño, leucemia prolinfocítica de células B, linfoma linfoplasmacítico (tal como macroglobulinemia de Waldenström), linfoma de la zona marginal esplénica, mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma, enfermedades de deposición de inmunoglobulina monoclonal, enfermedades de cadena pesada, linfoma de células B de la zona marginal extranodal (linfoma MALT), linfoma de células B de la zona marginal nodal (NMZL), linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma de células B difuso, linfoma de células B grandes difuso (DLBCL), linfoma de células B grandes mediastinal (tímico), linfoma de células B grandes intravascular, linfoma de efusión primaria y linfoma/leucemia de Burkitt), neoplasmas de células T maduras y células asesinas naturales (NK) (leucemia prolinfocítica de células T, leucemia linfocítica granular grande de células T, leucemia de células NK agresiva, leucemia/linfoma de células T de adulto, linfoma de células NK/T extranodal, linfoma de células T de tipo enteropatía, linfoma de células T hepatoesplénico, linfoma de células NK blástico, micosis fungoides (síndrome de Sezary), linfoma de células grandes anaplásico cutáneo primario, papulosis linfomatoide, linfoma de células T angioinmunoblástico, linfoma de células T periféricas no especificado y linfoma de células grandes anaplásico), linfoma de Hodgkin (esclerosis nodular, celularidad mixta, rico en linfocitos, deplecionado o no deplecionado de linfocitos, predominante linfocito nodular), mieloma (mieloma múltiple, mieloma indolente, mieloma quiescente), enfermedad mieloproliferativa crónica, enfermedad mielodisplásica/mieloproliferativa, síndromes mielodisplásicos, trastornos linfoproliferativos asociados a inmunodeficiencia, neoplasmas histiocíticos y de células dendríticas, mastocitosis, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, fibrosarcoma, tumor de células gigantes maligno, enfermedad de mieloma óseo, osteosarcoma, cáncer de mama (dependiente de hormonas, independiente de hormonas), cánceres ginecológicos (de cuello uterino, endometrial, de las trompas de falopio, enfermedad trofoblástica gestacional, de ovario, peritoneo, uterino, vaginal y vulvar), carcinoma de células basales (BCC), carcinoma de células escamosas (SCC), melanoma maligno, dermatofibrosarcoma protuberante, carcinoma de células de Merkel, sarcoma de Kaposi, astrocitoma, astrocitoma pilocítico, tumor neuroepitelial disembioplásico, oligodendrogliomas, ependimoma, glioblastoma multiforme, gliomas mixtos, oligoastrocitomas, meduloblastoma, retinoblastoma, neuroblastoma, germinoma, teratoma, mesotelioma maligno (mesotelioma peritoneal, mesotelioma pericárdico, mesotelioma pleural), tumor neuroendocrino gastro-entero-pancreático o gastroenteropancreático (GEP-NET), carcinóide, tumor endocrino pancreático (PET), adenocarcinoma pancreático, adenocarcinoma colorrectal, carcinoma colorrectal, tumor neuroendocrino agresivo, adenocarcinoma leiomiomasarcomamucinoso, adenocarcinoma de células en Anillo de Sello, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, hepatoblastoma, hemangioma, adenoma hepático, hiperplasia nodular focal (hiperplasia regenerativa nodular, hamartoma), carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) (carcinoma de pulmón de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de pulmón de células grandes), carcinoma de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón, carcinoma de tiroides, cáncer de próstata (refractario a hormonas, independiente de andrógenos, dependiente de andrógenos, insensible a hormonas), y sarcomas de tejidos blandos (fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, dermatofibrosarcoma, liposarcoma, rhabdomyosarcoma leiomiomasarcoma, hemangiosarcoma, sarcoma sinovial, tumor/neurofibrosarcoma de la vaina de nervios periféricos maligno, osteosarcoma extraesquelético).

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, o una composición farmacéutica que comprende el mismo, puede administrarse para tratar mieloma múltiple en un paciente. Por ejemplo, el mieloma múltiple puede incluir mieloma múltiple recidivante y/o refractario.

Muchos tumores de los tejidos hematopoyéticos y linfoides se caracterizan por un incremento en la proliferación celular, un tipo de célula particular. Las enfermedades mieloproliferativas crónicas (CMPD) son trastornos de células madre hematopoyéticas clonales caracterizados por la proliferación en la médula ósea de uno o más de los linajes mieloides, dando como resultado números incrementados de granulocitos, células sanguíneas rojas y/o plaquetas en la sangre periférica. Como tal, el uso de un compuesto proporcionado en la presente memoria para el tratamiento de dichas enfermedades es atractivo y se está examinando (Cilloni et al., *Haematologica* (2007) 92: 1124-1229). CMPD puede incluir leucemia mielógena crónica, leucemia neutrofílica crónica, leucemia eosinofílica crónica, policitemia vera, mielofibrosis idiopática crónica, trombocitemia esencial y enfermedad mieloproliferativa crónica in clasificable. En la presente memoria se proporciona un método para tratar CMPD que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto proporcionado en la presente memoria.

Las enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, tales como leucemia mielomonocítica crónica, leucemia mielóide crónica atípica, leucemia mielomonocítica juvenil y enfermedad mielodisplásica/mieloproliferativa

inclasificable, se caracterizan por hiperplasia de la médula ósea debido a la proliferación de uno o más de los linajes mieloides. La inhibición del proteasoma con una composición descrita en la presente memoria, puede servir para tratar estas enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas proporcionando a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición.

5 Los síndromes mielodisplásicos (MDS) se refieren a un grupo de trastornos de las células madre hematopoyéticas caracterizado por displasia y hematopoyesis inefectiva en una o más de las líneas celulares mieloides principales. El tomar como diana NF- $\kappa$ B con un inhibidor del proteasoma en estas malignidades hematológicas induce apoptosis, matando de esta manera a la célula maligna (Braun *et al. Cell Death and Differentiation* (2006) 13: 748-758). En la presente memoria se proporciona además un método para tratar MDS que comprende administrar a un paciente que  
10 necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto proporcionado en la presente memoria. MDS incluye anemia refractaria, anemia refractaria con sideroblastos en anillo, citopenia refractaria con displasia multilineaje, anemia refractaria con exceso de blastos, síndrome mielodisplásico inclasificable y síndrome mielodisplásico asociado con anomalía cromosómica aislada del (5q).

15 La mastocitosis es una proliferación de mastocitos y su acumulación posterior en uno o más sistemas orgánicos. La mastocitosis incluye, pero no está limitada a, mastocitosis cutánea, mastocitosis sistémica indolente (ISM), mastocitosis sistémica con enfermedad de linaje de células distintas de mastocitos hematológica clonal (SM-AHNMD) asociada, mastocitosis sistémica agresiva (ASM), leucemia de mastocitos (MCL), sarcoma de mastocitos (MCS) y mastocitoma extracutáneo. En la presente memoria se proporciona además un método para tratar mastocitosis que comprende administrar una cantidad efectiva del compuesto descrito en la presente memoria a un  
20 paciente diagnosticado con mastocitosis.

El proteasoma regula NF- $\kappa$ B, que a su vez regula los genes implicados en la respuesta inmune e inflamatoria. Por ejemplo, NF- $\kappa$ B es necesario para la expresión del gen de la cadena ligera  $\kappa$  de inmunoglobulina, el gen de la cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2, el gen del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I, y una serie de genes de  
25 citocinas que codifican, por ejemplo, IL-2, IL6, factor estimulante de colonias granulocíticas, e IFN- $\beta$  (Palombella *et al., Cell* (1994) 78: 773-785). Por lo tanto, en la presente memoria se proporcionan métodos para afectar el nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF $\alpha$ , IFN- $\beta$  o cualquiera de las otras proteínas mencionadas anteriormente, comprendiendo cada método la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o composición descrita en la presente memoria.

También se describe en la presente memoria un método para tratar una enfermedad autoinmune en un paciente que  
30 comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto descrito en la presente memoria. Una "enfermedad autoinmune", como se usa en la presente memoria, es una enfermedad o trastorno que surge de y se dirige contra tejidos del propio individuo. Los ejemplos de enfermedades autoinmunes incluyen, pero sin limitación, respuestas inflamatorias tales como enfermedades inflamatorias de la piel que incluyen psoriasis y dermatitis (p. ej., dermatitis atópica); escleroderma sistémico y esclerosis; respuestas asociadas con enfermedad inflamatoria  
35 intestinal (tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); síndrome de dificultad respiratoria (incluyendo síndrome de dificultad respiratoria del adulto, (ARDS)); dermatitis; meningitis; encefalitis; uveítis; colitis; glomerulonefritis; afecciones alérgicas tales como eccema y asma y otras afecciones que implican la infiltración de células T y respuestas crónicas inflamatorias; aterosclerosis; deficiencia en la adhesión leucocitaria; artritis reumatoide; lupus eritematoso sistémico (SLE); diabetes mellitus (p. ej., diabetes mellitus de Tipo I o diabetes  
40 mellitus dependiente de insulina); esclerosis múltiple; síndrome de Reynaud; tiroiditis autoinmune; encefalomielitis alérgica; síndrome de Sjorgen; diabetes de aparición juvenil; y respuestas inmunes asociadas con hipersensibilidad aguda y retardada mediada por citocinas y linfocitos T encontrada típicamente en tuberculosis, sarcoidosis, polimiositis, granulomatosis y vasculitis; anemia perniciosa (enfermedad de Addison); enfermedades que implican diapedesis leucocitaria; trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC); síndrome de lesión de órganos  
45 múltiples; anemia hemolítica (incluyendo, pero sin limitación, crioglobulinemia o anemia con Coombs positiva); miastenia grave; enfermedades mediadas por complejos antígeno-anticuerpo; enfermedad de la membrana basal antiglomerular; síndrome antifosfolipídico; neuritis alérgica; enfermedad de Graves; síndrome miasténico de Lambert-Eaton; penfigoide ampolloso; pénfigo; poliendocrinopatías autoinmunes; enfermedad de Reiter; síndrome de la persona rígida; enfermedad de Beheet; arteritis de células gigantes; nefritis del complejo inmune; nefropatía de  
50 IgA; polineuropatías por IgM; púrpura trombocitopénica inmune (ITP) o trombocitopenia autoinmune.

El sistema inmune explora para detectar células autólogas que están infectadas víricamente, que han experimentado transformación oncogénica o presentan péptidos no conocidos en su superficie. La proteólisis intracelular genera pequeños péptidos para la presentación a linfocitos T para inducir repuestas inmunes mediadas por MHC de clase I. Por lo tanto, se describe en la presente memoria un método para usar un compuesto o composición proporcionado  
55 en la presente memoria como un agente inmunomodulador para inhibir o alterar la presentación de antígenos en una célula, comprendiendo exponer a la célula (o administrar a un paciente) al compuesto descrito en la presente memoria. Los ejemplos específicos incluyen un método para tratar enfermedades relacionadas con trasplantes o injertos, tales como enfermedad del injerto contra el huésped o enfermedad del huésped contra injerto en un paciente, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto descrito en la presente memoria. El término "injerto" como se usa en la presente memoria se refiere a un material biológico derivado de un  
60 donante para un trasplante en un receptor. Los injertos incluyen dichos materiales diversos tales como, por ejemplo, células aisladas tales como células de los islotes; tejido tal como la membrana amniótica de un recién nacido;

médula ósea; células precursoras hematopoyéticas; tejido ocular, tal como tejido de la córnea; y órganos tales como piel, corazón, hígado, bazo, páncreas, lóbulo tiroideo, pulmón, riñón y órganos tubulares (p. ej., intestino, vasos sanguíneos o esófago). Los órganos tubulares pueden usarse para reemplazar partes dañadas del esófago, vasos sanguíneos o conductos biliares. Los injertos de piel pueden usarse no solamente para quemaduras, sino también como un apósito para el intestino dañado o para cerrar determinados defectos tales como hernia diafragmática. El injerto se obtiene a partir de cualquier fuente de mamífero, incluyendo ser humano, tanto de cadáveres como de donantes vivos. En algunos casos, el donante y el receptor son el mismo paciente. En algunas realizaciones, el injerto es médula ósea o un órgano tal como corazón y el donante del injerto y el huésped concuerdan para antígenos HLA de clase II.

- 5
- 10 Los neoplasmas histiocíticos y de células dendríticas se derivan de fagocitos y células auxiliares, que tienen papeles principales en el procesamiento y presentación de antígenos a linfocitos. Se ha mostrado que la depleción del contenido del proteasoma en las células dendríticas altera sus respuestas inducidas por antígenos (Chapatte *et al. Cancer Res.* (2006) 66: 5461-5468). En algunos ejemplos, una composición proporcionada en la presente memoria puede administrarse a un paciente con neoplasma histiocítico o de células dendríticas. Los neoplasmas histiocíticos o de células dendríticas incluyen sarcoma histiocítico, histiocitosis de células de Langerhans, sarcoma de células de Langerhans, sarcoma/tumor de células dendríticas interdigitantes, sarcoma/tumor de células dendríticas foliculares y sarcoma de células dendríticas no especificado.

La inhibición del proteasoma también se ha mostrado que es beneficiosa para tratar enfermedades mediante las cuales un tipo celular prolifera y trastornos inmunes; así, en algunos ejemplos, se proporciona el tratamiento de las enfermedades linfoproliferativas (LPD) asociadas con trastornos inmunes primarios (PID) que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto descrito a un paciente que lo necesita. Los entornos clínicos más comunes de inmunodeficiencia asociada con una incidencia incrementada de trastornos linfoproliferativos, incluyendo neoplasmas y linfomas de células B y células T, son síndromes de inmunodeficiencia primaria y otros trastornos inmunes primarios, infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), inmunosupresión iatrogénica en pacientes que han recibido aloinjertos de órgano sólido o médula ósea e inmunosupresión iatrogénica asociada con el tratamiento con metotrexato. Otros PID asociados comúnmente con LPD, pero no limitado a, son ataxia telangiectasia (AT), síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS), inmunodeficiencia variable común (CVID), inmunodeficiencia combinada grave (SCID), trastorno linfoproliferativo ligado a X (XLP), síndrome de rotura de Nijmegen (NBS), síndrome de hiper IgM y síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS).

- 20
- 25
- 30 La inhibición del proteasoma también se ha asociado con la inhibición de la activación de NF- $\kappa$ B y la estabilización de los niveles de p53. Por lo tanto, pueden usarse también las composiciones proporcionadas en la presente memoria para inhibir la activación de NF- $\kappa$ B y estabilizar los niveles de p53 en cultivo celular. Dado que NF- $\kappa$ B es un regulador clave de la inflamación, es un objetivo atractivo para la intervención terapéutica antiinflamatoria. Por lo tanto, las composiciones proporcionadas en la presente memoria pueden ser útiles para el tratamiento de afecciones asociadas con la inflamación, incluyendo, pero sin limitación, EPOC, psoriasis, asma, bronquitis, enfisema y fibrosis quística.

Las composiciones descritas pueden usarse para tratar afecciones mediadas directamente por la función proteolítica del proteasoma tales como la pérdida de músculo, o mediadas indirectamente a través de proteínas que son procesadas por el proteasoma tal como NF- $\kappa$ B. El proteasoma participa en la eliminación rápida y el procesamiento posterior a la traducción de proteínas (p. ej., enzimas) implicadas en la regulación celular (p. ej., ciclo celular, transcripción génica y rutas metabólicas), la comunicación intercelular y la respuesta inmune (p. ej., presentación de antígenos). Los ejemplos específicos analizados a continuación incluyen proteína  $\beta$ -amiloide y proteínas reguladoras tales como ciclinas y factor de transcripción NF- $\kappa$ B.

- 40
- 45 En algunas realizaciones, una composición proporcionada en la presente memoria es útil para el tratamiento de enfermedades y afecciones neurodegenerativas, incluyendo, pero sin limitación, ictus, daño isquémico al sistema nervioso, trauma neural (p. ej., lesión cerebral por percusión, lesión de la médula espinal y lesión traumática al sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías mediadas por el sistema inmune (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal aguda motora, polineuropatía aguda desmielinizante inflamatoria, y síndrome de Fisher), complejo de demencia del VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, meningitis bacteriana, parasitaria, fúngica y vírica, encefalitis, demencia vascular, demencia multi-infarto, demencia con cuerpos de Lewy, demencia del lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tales como parálisis supranuclear progresiva o Huntington), síndromes de atrofia cortical focal (tales como afasia primaria), demencias tóxicas metabólicas (tales como hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12) y demencias causas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por depósitos extracelulares de la proteína  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ -AP) en placas y vasos cerebrales seniles. La  $\beta$ -AP es un fragmento peptídico de 39 a 42 aminoácidos derivado de un precursor de la proteína amiloide (APP). Se conocen al menos tres isoformas de APP (695, 751 y 770 aminoácidos). El corte y empalme alternativo del ARNm genera las isoformas; el procesamiento normal afecta a una parte de la secuencia de  $\beta$ -AP, impidiendo así la generación de  $\beta$ -AP. Se piensa que el procesamiento anómalo de la proteína por el proteasoma contribuye a la abundancia de  $\beta$ -AP en el cerebro con Alzheimer. La enzima procesadora de APP en

- 60

ratas contiene aproximadamente diez subunidades diferentes (22 kDa-32 kDa). La subunidad de 25 kDa tiene una secuencia N terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que es idéntica a la subunidad  $\beta$  de la macropaina humana (Kojima, S. et al., Fed. Eur. Biochem. Soc., (1992) 304:57-60). La enzima que procesa el APP escinde en el enlace Gln15-Lys 16; en presencia de ion calcio, la enzima también escinde en el enlace Met-1-Asp1, y los enlaces Asp1-Ala2 para liberar el dominio extracelular de  $\beta$ -AP.

Por lo tanto, una realización es un método para tratar la enfermedad de Alzheimer, incluyendo administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición proporcionada en la presente memoria. Dicho tratamiento incluye reducir la velocidad de procesamiento de  $\beta$ -AP, reducir la velocidad de la formación de placas de  $\beta$ -AP, reducir la velocidad de la generación de  $\beta$ -AP y reducir los signos clínicos de la enfermedad de Alzheimer.

También se describen en la presente memoria métodos para tratar la caquexia y las enfermedades de desgaste muscular. El proteasoma degrada muchas proteínas en reticulocitos en maduración y fibroblastos en crecimiento. En las células privadas de insulina o suero, la tasa de proteólisis casi se duplica. La inhibición del proteasoma reduce la proteólisis, reduciendo así la pérdida de proteínas musculares y la carga nitrogenada en los riñones o en el hígado. Los inhibidores de proteasomas peptídicos (p. ej., un compuesto o composición proporcionado en la presente memoria) son útiles para tratar afecciones tales como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, desuso muscular (atrofia) y denervación, lesión nerviosa, ayuno, insuficiencia renal asociada con acidosis, enfermedad renal e insuficiencia hepática. Véase, p. ej., Goldberg, Pat. U.S. No. 5.340.736. Los métodos de tratamiento incluyen: reducir la tasa de degradación de proteínas musculares en una célula; reducir la tasa de degradación de proteínas intracelulares; reducir la tasa de degradación de la proteína p53 en una célula; e inhibir el crecimiento de cánceres relacionados con p53. Cada uno de estos métodos incluye poner en contacto una célula (*in vivo* o *in vitro*, p. ej., un músculo en un paciente) con una cantidad efectiva de una composición farmacéutica descrita en la presente memoria para reducir la tasa de degradación de proteínas musculares en la célula; reducir la tasa de degradación de proteínas intracelulares en la célula; y/o reducir la tasa de degradación de la proteína p53 en la célula. En algunos ejemplos, los métodos incluyen administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica descrita en la presente memoria.

La fibrosis es la formación excesiva y persistente de tejido cicatricial que se produce por el crecimiento hiperproliferativo de fibroblastos y está asociada con la activación de la ruta de señalización de TGF- $\beta$ . La fibrosis implica una deposición abundante de la matriz extracelular y puede ocurrir prácticamente dentro de cualquier tejido o a través de diversos tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteína de señalización intracelular (Smad) que activa la transcripción de genes diana después de la estimulación con TGF- $\beta$  se regula por la actividad del proteasoma. Sin embargo, la degradación acelerada de los componentes de señalización de TGF- $\beta$  se ha observado en cánceres y otras afecciones hiperproliferativas. Por lo tanto, en ciertos ejemplos, se describe un método para tratar afecciones hiperproliferativas tales como retinopatía diabética, degeneración macular, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, nefropatía por IgA, cirrosis, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congestiva, esclerodermia, fibrosis inducida por radiación y fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad vascular de colágeno, sarcoidosis, enfermedades pulmonares intersticiales y alteraciones pulmonares extrínsecas). El tratamiento de las víctimas de quemaduras se ve a menudo dificultado por la fibrosis, por lo tanto, en algunos ejemplos, puede administrarse un compuesto descrito en la presente memoria por administración tópica o sistémica para tratar quemaduras. El cierre de la herida después de la cirugía a menudo está asociado con cicatrices desfigurantes, que pueden evitarse inhibiendo la fibrosis. Por tanto, en ciertos ejemplos, en la presente memoria se describe un método para la prevención o reducción de cicatrices.

Otra proteína procesada por el proteasoma es NF- $\kappa$ B, un miembro de la familia de proteínas Rel. La familia Rel de proteínas activadoras transcripcionales puede dividirse en dos grupos. El primer grupo requiere un procesamiento proteolítico, e incluye p50 (NF- $\kappa$ B1, 105 kDa) y p52 (NF- $\kappa$ 2, 100 kDa). El segundo grupo no requiere un procesamiento proteolítico, e incluye p65 (RelA, Rel (c-Rel), y RelB). Los miembros de la familia Rel pueden formar tanto homo como heterodímeros; NF- $\kappa$ B, por ejemplo, es un heterodímero p50-p65. Después de la fosforilación y ubiquitinación de  $\kappa$ B y p105, las dos proteínas se degradan y se procesan, respectivamente, para producir NF- $\kappa$ B activo que se transloca desde el citoplasma al núcleo. La p105 ubiquitinada es procesada también por proteasomas purificados (Palombella *et al.*, *Cell* (1994) 78:773-785). El NF- $\kappa$ B activo forma un complejo potenciador estereoespecífico con otros activadores transcripcionales y, p. ej., HMG I(Y), induciendo una expresión selectiva de un gen particular.

NF- $\kappa$ B regula genes implicados en la respuesta inmune e inflamatoria y en eventos mitóticos. Por ejemplo, NF- $\kappa$ B es necesario para la expresión del gen de la cadena ligera  $\kappa$  de inmunoglobulina, el gen de la cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2, el gen del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I, y una serie de genes de citocinas que codifican, por ejemplo, IL-2, IL6, factor estimulante de colonias granulocíticas, e IFN- $\beta$  (Palombella *et al.*, *Cell* (1994) 78: 773-785). Algunas realizaciones incluyen métodos para afectar el nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF $\alpha$ , IFN- $\beta$  o cualquiera de las otras proteínas mencionadas anteriormente, incluyendo cada método la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición descrita en la presente memoria. Los complejos que incluyen p50 son mediadores rápidos de respuestas inflamatorias e inmunes agudas (Thanos, D. y Maniatis, T., *Cell* (1995) 80: 529-532).

NF- $\kappa$ B participa también en la expresión de los genes de adhesión celular que codifican E-selectina, P-selectina,

ICAM y VCAM-1 (Collins, T., *Lab. Invest.* (1993) 68:499-508). En algunas realizaciones se proporciona un método para inhibir la adhesión celular (p. ej., la adhesión celular mediada por E-selectina, P-selectina, ICAM o VCAM-1), que incluye poner en contacto una célula con una cantidad efectiva de una composición farmacéutica descrita en la presente memoria. En algunos ejemplos, se describe un método para inhibir la adhesión celular (p. ej., la adhesión celular mediada por E-selectina, P-selectina, ICAM o VCAM-1), que incluye administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica descrita en la presente memoria.

El daño por isquemia y reperfusión da como resultado hipoxia, una afección en la que hay una deficiencia de oxígeno que llega a los tejidos del cuerpo. Esta afección causa un aumento de la degradación de I $\kappa$ -B $\alpha$ , dando como resultado de esta manera la activación de NF- $\kappa$ B. Se ha demostrado que la gravedad de la lesión que resulta en hipoxia puede reducirse con la administración de un inhibidor del proteasoma. Por lo tanto, se describe en la presente memoria un método de tratamiento de una afección isquémica o lesión por reperfusión que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto descrito en la presente memoria. Los ejemplos de dichas afecciones o lesiones incluyen, pero sin limitación, síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad oclusiva arterial (oclusiones cardíacas, cerebrales, arteriales periféricas y vasculares), aterosclerosis (esclerosis coronaria, enfermedad arterial coronaria), infartos, insuficiencia cardíaca, pancreatitis, hipertrofia miocárdica, estenosis y restenosis.

NF- $\kappa$ B se une también específicamente al potenciador/promotor del VIH. Cuando se compara con el Nef de mac239, la proteína Nef de pbj14 reguladora de VIH difiere en dos aminoácidos en la región que controla la unión a la proteína cinasa. Se cree que la proteína cinasa señala la fosforilación de I $\kappa$ B, provocando la degradación de I $\kappa$ B a través de la ruta de ubiquitina-proteasoma. Después de la degradación, se libera NF- $\kappa$ B en el núcleo, aumentando, de esta manera, la transcripción del VIH (Cohen, J., *Science*, (1995) 267:960). Se describe en la presente memoria un método para inhibir o reducir la infección por VIH en un paciente, y un método para reducir el nivel de expresión de genes víricos, incluyendo cada método la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición descrita en la presente memoria.

Las infecciones virales contribuyen a la patología de muchas enfermedades. Las afecciones cardíacas tales como miocarditis en curso y cardiomiopatía dilatada se han asociado al virus coxsackie B3. En un análisis comparativo en micromatriz de genoma completo de corazones de ratón infectados, las subunidades de proteasoma específicas se regularon al alza de manera uniforme en corazones de ratones que desarrollaron miocarditis crónica (Szalay *et al*, *Am J Pathol* 168:1542-52, 2006). Algunos virus utilizan el sistema ubiquitina-proteasoma en la etapa de entrada viral cuando el virus se libera del endosoma hacia el citosol. El virus de la hepatitis de ratón (MHV) pertenece a la familia Coronaviridae, que también incluye el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS). Yu y Lai (*J Virol* 79:644-648, 2005) demostraron que el tratamiento de células infectadas con MHV con un inhibidor de proteasoma dio como resultado una disminución en la replicación vírica, que se correlaciona con una titulación vírica reducida en comparación con la de las células no tratadas. El virus de la hepatitis B humana (VHB), un miembro de la familia del virus Hepadnaviridae, también necesita para propagarse proteínas de envoltura codificadas viralmente. La inhibición de la ruta de degradación de proteasoma causa una reducción significativa en la cantidad de proteínas de envoltura secretadas (Simsek *et al*, *J Virol* 79:12914-12920, 2005). Además del VHB, otros virus de la hepatitis (A, C, D y E) también pueden utilizar la ruta de degradación ubiquitina-proteasoma para la secreción, morfogénesis y patogénesis. Por consiguiente, en la presente memoria se describe un método para tratar la infección vírica, tal como SARS o hepatitis A, B, C, D y E, que comprende poner en contacto una célula con una cantidad efectiva del compuesto descrito en la presente memoria. En algunos ejemplos, se proporciona un método para tratar una infección vírica, tal como SARS o hepatitis A, B, C, D y E, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto descrito en la presente memoria.

La sobreproducción de citocinas inducidas por lipopolisacáridos (LPS) tales como TNF $\alpha$  se considera como fundamental en los procesos asociados con el choque séptico. Además, generalmente se acepta que la primera etapa en la activación de las células por LPS es la unión de LPS a receptores de membrana específicos. Las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  del complejo del proteasoma 20S se han identificado como proteínas de unión a LPS, sugiriendo que la transducción de la señal inducida por LPS puede ser una diana terapéutica importante en el tratamiento o prevención de la sepsis (Qureshi, N. *et al.*, *J. Immun.* (2003) 171: 1515-1525). Por lo tanto, en determinados ejemplos, las composiciones como se proporcionan en la presente memoria, pueden usarse para la inhibición de TNF $\alpha$  para prevenir y/o tratar el choque séptico.

La proteólisis intracelular genera pequeños péptidos para la presentación a linfocitos T para inducir repuestas inmunes mediadas por MHC de clase I. El sistema inmune realiza un cribado de células autólogas que están infectadas por virus o han experimentado una transformación oncogénica. Un ejemplo es un método para inhibir la presentación del antígeno en una célula, incluyendo la exposición de la célula a una composición descrita en la presente memoria. En algunos ejemplos, la célula se pone en contacto con una cantidad efectiva de un compuesto o composición que se proporciona en la presente memoria para inhibir la presentación de antígeno en la célula. Un ejemplo adicional es un método para suprimir el sistema inmune de un paciente (p. ej., inhibir el rechazo a un trasplante, alergia, asma), incluyendo la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición descrita en la presente memoria. Las composiciones proporcionadas en la presente memoria pueden usarse también para tratar enfermedades autoinmunes, tales como lupus, artritis reumatoide, esclerosis múltiple y enfermedades inflamatorias del intestino, tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.

Otro ejemplo es un método para alterar el repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma u otra Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si se inhibe selectivamente la actividad PGPH del proteasoma 20S, se producirá un conjunto diferente de péptidos antigénicos por parte del proteasoma y se presentarán a las moléculas del MHC en las superficies de las células, del que se produciría y presentaría bien sin una inhibición enzimática, o por ejemplo, con una inhibición selectiva de la actividad de tipo quimotripsina del proteasoma.

Ciertos inhibidores del proteasoma bloquean tanto la degradación como el procesamiento de NF- $\kappa$ B ubiquitinado *in vitro* e *in vivo*. Los inhibidores del proteasoma bloquean también la degradación de I $\kappa$ B- $\alpha$  y la activación de NF- $\kappa$ B (Palombella, et al. *Cell* (1994) 78:773-785; y Traenckner, et al., *EMBO J.* (1994) 13:5433-5441). En algunos ejemplos se proporciona un método para inhibir la degradación de I $\kappa$ B- $\alpha$ , que incluye poner en contacto una célula con una composición descrita en la presente memoria. En algunos ejemplos, una célula se pone en contacto con una cantidad efectiva de la composición para inhibir la degradación de I $\kappa$ B- $\alpha$ . Una realización adicional es un método para reducir el contenido celular de NF- $\kappa$ B en una célula, músculo, órgano o paciente, que incluye poner en contacto la célula, músculo, órgano o paciente con una composición descrita en la presente memoria. En algunos ejemplos, una célula se pone en contacto con una cantidad efectiva de la composición para reducir el contenido celular de NF- $\kappa$ B en una célula.

Otros factores de transcripción eucariotas que requieren procesamiento proteolítico incluyen el factor de transcripción general TFIIA, la proteína auxiliar VP16 (factor de célula huésped) del virus del herpes simple, la proteína 2 del factor regulador del IFN inducible por virus, y la proteína 1 de unión al elemento regulador de esterol unido a membrana.

Se describen también en la presente memoria métodos para afectar a los ciclos de células eucariotas dependientes de ciclina, que incluyen la exposición de una célula (*in vitro* o *in vivo*) a una composición descrita en la presente memoria. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteasoma participa en la degradación de ciclinas. Los ejemplos de ciclinas incluyen ciclinas mitóticas, ciclinas G1 y ciclina B. La degradación de las ciclinas permite a una célula salir de una fase del ciclo celular (p. ej., mitosis) y entrar en otra (p. ej., división). Se cree que todas las ciclinas están asociadas con la proteína cinasa p34cdc2 o cinasas relacionadas. La señal dirigida a proteólisis está localizada en los aminoácidos 42-RAALGNISEN-50 (caja de destrucción). Hay evidencia de que la ciclina se convierte en una forma vulnerable a una ubiquitina ligasa o de que una ligasa específica de ciclina es activada durante la mitosis (Ciechanover, A., *Cell*, (1994) 79:13-21). La inhibición del proteasoma inhibe la degradación de la ciclina y, por lo tanto, inhibe la proliferación celular, por ejemplo, en cánceres relacionados con ciclina (Kumatori et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1990) 87:7071-7075). Se describe en la presente memoria un método para tratar una enfermedad proliferativa en un paciente (p. ej., cáncer, psoriasis o restenosis), que incluye la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición descrita en la presente memoria. También se describe en la presente memoria un método para tratar la inflamación relacionada con ciclina en un paciente, que incluye la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición descrita en la presente memoria.

Los ejemplos adicionales incluyen métodos para afectar la regulación dependiente de proteasoma de oncoproteínas y métodos para tratar o inhibir el crecimiento del cáncer, incluyendo cada método exponer una célula (*in vivo*, p. ej., en un paciente o *in vitro*) a una composición descrita en la presente memoria. Las proteínas E6 derivadas de HPV-16 y HPV-18 estimulan la conjugación y degradación dependiente de ATP y ubiquitina de p53 en lisados de reticulocitos brutos. Se ha mostrado que el oncogén recesivo p53 se acumula a la temperatura no permisiva en una línea celular con una E1 termolábil mutada. Los niveles elevados de p53 pueden dar lugar a apoptosis. Los ejemplos de proto-oncoproteínas degradadas por el sistema de ubiquitina incluyen c-Mos, c-Fos y c-Jun. Un ejemplo es un método para tratar la apoptosis relacionada con p53, que incluye la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición descrita en la presente memoria.

En otra realización, las composiciones descritas son útiles para el tratamiento de una infección parasitaria, tal como infecciones causadas por parásitos protozoarios. Se considera que el proteasoma de estos parásitos está implicado principalmente en las actividades de diferenciación y replicación celular (Paugam et al., *Trends Parasitol.* 2003 19(2): 55-59). Además, se ha demostrado que las especies de Entamoeba pierden capacidad de enquistamiento cuando se exponen a inhibidores del proteasoma (Gonzales, et al., *Arch. Med. Res.* 1997, 28, Spec No: 139-140). En algunas de dichas realizaciones, las composiciones descritas son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en seres humanos causadas por un parásito protozoario seleccionado de entre Plasmodium sps. (incluyendo P. falciparum, P. vivax, P. malariae, y P. ovale, que causan malaria), Trypanosoma sps. (incluyendo T. cruzi, que causa la enfermedad de Chagas, y T. brucei que causa la enfermedad del sueño africana), Leishmania sps. (incluyendo L. amazonensis, L. donovani, L. infantum, L. mexicana, etc.), Pneumocystis carinii (un protozoo que se sabe que causa neumonía en pacientes con SIDA y otros pacientes inmunodeprimidos), Toxoplasma gondii, Entamoeba histolytica, Entamoeba invadens, y Giardia lamblia. En ciertas realizaciones, las composiciones descritas son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en animales y ganado causadas por un parásito protozoario seleccionado de entre Plasmodium hermani, Cryptosporidium sps., Echinococcus granulosus, Eimeria tenella, Sarcocystis neurona, y Neurospora crassa. Otros compuestos útiles como inhibidores del proteasoma en el tratamiento de enfermedades parasitarias se describen en el documento WO 98/10779.

En ciertas realizaciones, las composiciones descritas inhiben irreversiblemente la actividad del proteasoma en un

parásito. Se ha demostrado que dicha inhibición irreversible induce la parada de la actividad enzimática sin recuperación en las células sanguíneas rojas y células sanguíneas blancas. En algunas de dichas realizaciones, la prolongada semivida de las células sanguíneas puede proporcionar una protección prolongada con respecto a la terapia contra exposiciones recurrentes a parásitos. En ciertas realizaciones, la prolongada semivida de las células sanguíneas puede proporcionar una protección prolongada con respecto a la quimioprofilaxis frente a una infección futura.

Los procariotas tienen lo que es el equivalente a las partículas de proteasoma 20S en eucariotas. Aunque la composición de la subunidad de la partícula 20S de procariotas es más simple que la de los eucariotas, tiene la capacidad de hidrolizar enlaces peptídicos de una manera similar. Por ejemplo, el ataque nucleófilo en el enlace peptídico ocurre a través del residuo de treonina en el extremo N de las subunidades  $\beta$ . En algunos ejemplos se describe un método para tratar infecciones procariotas, que comprenden administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o composición proporcionada en la presente memoria. Las infecciones procariotas pueden incluir enfermedades causadas bien por micobacterias (tales como tuberculosis, lepra o úlcera de Buruli) o arqueobacterias.

También se ha demostrado que los inhibidores que se unen al proteasoma 20S estimulan la formación ósea en cultivos de órganos de hueso. Además, cuando dichos inhibidores se administraron sistémicamente a ratones, determinados inhibidores de proteasoma aumentaron el volumen óseo y la velocidad de la formación ósea por encima de un 70 % (Garrett, I. R. et al., *J. Clin. Invest.* (2003) 111:1771-1782), sugiriendo por lo tanto que la maquinaria ubiquitina-proteasoma regula la diferenciación osteoblástica y la formación ósea. Por lo tanto, las composiciones descritas pueden ser útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas con la pérdida de hueso, tales como osteoporosis.

Se describe en la presente memoria un método para tratar una enfermedad o afección seleccionada de cáncer, enfermedad autoinmune, afección relacionada con trasplante o injerto, enfermedad neurodegenerativa, afección asociada con fibrosis, afecciones relacionadas con isquemia, infección (viral, parasitaria o procariota), y enfermedades asociadas con pérdida de hueso, que comprende administrar un compuesto como se proporciona en la presente memoria.

El tejido óseo es una excelente fuente de factores que tienen la capacidad de estimular las células óseas. Por lo tanto, los extractos de tejido óseo bovino contienen no solo proteínas estructurales que son responsables de mantener la integridad estructural del hueso, sino también factores de crecimiento óseo biológicamente activos que pueden estimular la proliferación de las células óseas. Entre estos últimos factores hay una familia de proteínas descritas recientemente denominadas proteínas morfogenéticas óseas (BMP). Todos estos factores de crecimiento tienen efectos sobre otros tipos de células, así como sobre las células óseas, incluyendo Hardy, M. H., et al., *Trans Genet* (1992) 8:55-61 describe la evidencia de que las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) se expresan diferencialmente en los folículos pilosos durante el desarrollo. Harris, S. E., et al., *J Bone Miner Res* (1994) 9:855-863 describe los efectos de TGF- $\beta$  sobre la expresión de BMP-2 y otras sustancias en las células óseas. La expresión de BMP-2 en folículos maduros ocurre también durante la maduración y después del período de proliferación celular (Hardy, et al. (1992, anteriormente). De esta manera, los compuestos proporcionados en la presente memoria pueden ser útiles también para la estimulación del crecimiento del folículo piloso.

También se describe en la presente memoria un método para tratar un trastorno de almacenamiento lisosomal. Los trastornos de almacenamiento lisosomal son un grupo de enfermedades que resultan del metabolismo anormal de diversos sustratos, incluyendo glucoesfingolípidos, glucógeno, mucopolisacáridos y glicoproteínas. El metabolismo de los compuestos exo y endógenos de alto peso molecular se produce normalmente en los lisosomas, y el proceso se regula normalmente en un proceso por etapas por enzimas de degradación. Por lo tanto, una actividad deficiente en una enzima puede perjudicar el proceso, dando como resultado una acumulación de sustratos particulares. Se ha mostrado que la inhibición del proteasoma puede mejorar la función de ciertos sustratos en pacientes que padecen un trastorno de almacenamiento lisosomal (Y. Shimada et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2011) 415(2):274-8). La mayoría de estas enfermedades pueden clasificarse clínicamente en subtipos: i) inicio infantil; ii) inicio juvenil; o iii) inicio tardío. Las formas de inicio infantil son a menudo las más graves normalmente sin actividad enzimática residual. Las formas de inicio tardío son a menudo más suaves con actividad enzimática residual baja, pero a menudo detectable. La gravedad de las formas de inicio juvenil se encuentra entre las formas de inicio infantil y de inicio tardío. Los ejemplos no limitativos de tales trastornos incluyen: enfermedad de Pompe, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Fabry, gangliosidosis GM1, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Krabbe, enfermedad de Farber, leucodistrofia metacromática, enfermedad de Hurler-Scheie, enfermedad de Hunter, enfermedad de Sanfilippo A, enfermedad de Sanfilippo B, enfermedad de Sanfilippo C, enfermedad de Sanfilippo D, enfermedad de Morquio A, enfermedad de Morquio B, enfermedad de Maroteaux-Lamy, enfermedad de Sly,  $\alpha$ -manosidosis,  $\beta$ -manosidosis, fucosidosis, sialidosis, y enfermedad de Schindler-Kanzaki. Por lo tanto, un ejemplo es un método para tratar la enfermedad de Pompe, que incluye la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición proporcionada en la presente memoria.

Las composiciones descritas también son útiles como agentes de diagnóstico (p. ej., en kits de diagnóstico o para su uso en laboratorios clínicos) para el cribado de proteínas (p. ej., enzimas, factores de transcripción) procesadas por

hidrolasas Ntn, incluyendo el proteasoma. Las composiciones descritas son útiles también como reactivos de investigación para unirse específicamente a la subunidad X/MB1 o cadena  $\alpha$  y para inhibir las actividades proteolíticas asociadas con la misma. Por ejemplo, puede determinarse la actividad de (y los inhibidores específicos de) otras subunidades del proteasoma.

- 5 La mayoría de las proteínas celulares están sometidas a un procesamiento proteolítico durante la maduración o activación. Los inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria pueden usarse para determinar si un proceso o resultado celular, de desarrollo o fisiológico está regulado por la actividad proteolítica de una hidrolasa Ntn particular. Uno de dichos métodos incluye la obtención de un organismo, una preparación de célula intacta o un extracto celular; exponer el organismo, la preparación celular o el extracto celular a una composición descrita en la presente memoria; exponer el organismo expuesto al compuesto, la preparación celular, o el extracto celular a una señal; y monitorizar el proceso o resultado. La alta selectividad de los compuestos descritos en la presente memoria permite la eliminación o la implicación rápida y precisa de Ntn (por ejemplo, el proteasoma 20S) en un proceso celular, de desarrollo o fisiológico determinado.

### Composiciones farmacéuticas y administración

- 15 Los métodos proporcionados en la presente memoria incluyen la fabricación y uso de composiciones farmacéuticas, que incluyen uno o más de los compuestos proporcionados en la presente memoria. También se incluyen las composiciones farmacéuticas por sí mismas.

En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados en la presente memoria pueden formularse como se describe en la Patente U.S. No. 7.737.112 y Solicitud U.S. No. de Serie 13/614.829. Las composiciones farmacéuticas incluyen típicamente un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente memoria para hacer referencia a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una proporción beneficio/riesgo razonable.

- 25 La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en la presente memoria, significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye tampón, agua estéril para inyección, disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retardo de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata, y  $\beta$ -ciclodextrina sustituida o no sustituida; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) disolución salina isotónica; (18) disolución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) disoluciones de tampón de fosfato; y (21) otras sustancias no tóxicas compatibles empleadas en formulaciones farmacéuticas. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria son no pirógenas, es decir, no inducen elevaciones de temperatura significativas cuando se administran a un paciente.

45 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición de ácidos inorgánicos y orgánicos, relativamente no tóxicas, de un compuesto proporcionado en la presente memoria. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación final de un compuesto proporcionado en la presente memoria, o haciendo reaccionar por separado el compuesto en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal formada de esta manera. Las sales representativas incluyen las sales hidrobromuro, hidrocloreuro, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato y sales de aminoácidos, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66: 1-19.)

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria puede contener uno o más grupos ácidos funcionales y, por lo tanto, es capaz de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables", en estos casos, se refiere a las sales de adición de bases inorgánicas y orgánicas, relativamente no tóxicas, de un compuesto proporcionado en la presente memoria. Asimismo, estas sales pueden ser preparadas *in situ* durante el aislamiento y purificación finales del compuesto, o haciendo reaccionar, por separado, el compuesto purificado en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable,

con amoniaco, o con una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérricas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares (véase, por ejemplo, Berge et al., anteriormente).

También pueden estar presentes en las composiciones agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, edulcorantes, saporíferos y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes.

Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, hidrocloreuro de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Una composición farmacéutica puede contener también adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos puede ser asegurada mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes de ajuste de tonicidad, tales como azúcares y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de uno o más compuestos proporcionados en la presente memoria, es deseable ralentizar la absorción del compuesto desde una inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, la absorción retardada de un compuesto administrado parenteralmente puede conseguirse disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso.

Las composiciones preparadas según se describe en la presente memoria pueden administrarse de diversas formas, dependiendo del trastorno a tratar y la edad, la condición y el peso corporal del paciente, tal como es bien conocido en la técnica. Por ejemplo, cuando las composiciones deben administrarse por vía oral, pueden formularse en forma de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes; o para la administración parenteral, pueden formularse como inyecciones (intravenosa, intramuscular o subcutánea), preparaciones de infusión por gotas o supositorios. Para la aplicación por la ruta de la membrana mucosa oftálmica, pueden formularse como gotas oculares o ungüentos oculares. Estas formulaciones pueden prepararse por medios convencionales junto con los métodos descritos en la presente memoria y, si se desea, el ingrediente activo puede mezclarse con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un corrector, un agente solubilizante, un auxiliar de suspensión, un agente emulsionante o un agente de revestimiento.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden estar en la forma de cápsulas (p. ej., cápsulas de gelatina), obleas, píldoras, comprimidos, pastillas (usando una base aromatizada, normalmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, trociscos, gránulos o, como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión de aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una matriz inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia) y/o elixires bucales y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto proporcionado en la presente memoria como un ingrediente activo. Una composición también puede administrarse como un bolo, electuario o pasta. Las composiciones orales incluyen generalmente un diluyente inerte o un vehículo comestible.

Los agentes de unión farmacéuticamente compatibles, y/o materiales adyuvantes pueden incluirse como parte de una composición oral. En formas de dosificación sólidas para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo puede mezclarse con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o extensores, tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, sacarina, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, celulosa microcristalina, goma de tragacanto, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como, agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata maíz o tapioca, ácido alginico, Primogel, ciertos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de disolución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol de acetilo y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, Sterotes, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos; (10) un emoliente, tal como dióxido de silicio coloidal; (11) agentes colorantes; y (12) un agente saporífero, tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas pueden comprender también agentes tamponantes. Las composiciones sólidas de un tipo similar pueden emplearse también como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras rellenas, usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto de peso molecular, y similares.

Un comprimido puede fabricarse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos comprimidos pueden ser preparados usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato sódico de almidón o carboximetilcelulosa sódica reticulada), tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla de un compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ser opcionalmente marcados o preparados con revestimientos y cubiertas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en ellas usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas, microesferas y/o nanopartículas. Se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones pueden contener también, opcionalmente, agentes opacificantes y pueden ser de una composición tal que liberen el ingrediente o los ingredientes activos solamente, o preferiblemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de incorporación que pueden ser usadas incluyen sustancias y ceras poliméricas. El ingrediente activo puede estar también en forma micro-encapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saporíferos, colorantes, perfumantes y conservantes.

Las suspensiones, además del compuesto o compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de polioxietileno sorbitol y sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración parenteral pueden incluir uno o más compuestos proporcionados en la presente memoria en combinación con una o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden ser reconstituídos en disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que convierten la formulación en isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes de suspensión o espesantes.

Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden ser empleados en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria incluyen agua para inyección (p. ej., agua estéril para inyección), agua bacteriostática, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol tal como polietilenglicol líquido y similares), tampón estéril (tal como tampón citrato), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tal como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo, y Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una fácil jeringabilidad. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

La composición debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. La prevención de la acción de microorganismos puede conseguirse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol y cloruro sódico en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede llevarse a cabo incluyendo en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las disoluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril, que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones

inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son secado por congelación (liofilización), lo que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una disolución filtrada previamente estéril del mismo.

5 Las formas de depósito inyectables pueden prepararse formando matrices microencapsuladas o nanoencapsuladas de un compuesto proporcionado en la presente memoria en polímeros biodegradables, tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la proporción de fármaco con respecto al polímero, y de la naturaleza del polímero particular empleado, la tasa de liberación del fármaco puede ser controlada. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones de depósito inyectables se preparan también atrapando el fármaco en liposomas, microemulsiones o nanoemulsiones, que son compatibles con el tejido corporal.

10 Para la administración por inhalación, los compuestos se pueden administrar en la forma de una pulverización en aerosol desde un contenedor o dispensador presurizado que contiene un propelente adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador. Dichos métodos incluyen los descritos en la Patente U.S. No. 6.468.798. Además, se puede conseguir la administración intranasal, como se describe, entre otros, en Hamajima et al., *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 88(2), 205-10 (1998). También se pueden usar liposomas (p. ej., como se describe en la Patente U.S. No. 6.472.375), microencapsulación y nanoencapsulación. También se pueden usar sistemas de administración de micropartículas biodegradables dirigibles o sistemas de administración de nanopartículas biodegradables dirigibles (p. ej., como se describe en la Patente U.S. No. 6.471.996).

15 La administración sistémica de un compuesto terapéutico como se describe en la presente memoria también puede ser por medios transmucosales o transdérmicos. Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto proporcionado en la presente memoria incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches e inhalantes. El componente activo puede mezclarse en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquiera de los conservantes, tampones o propelentes que pueden necesitarse. Para la administración transmucosal o transdérmica, se utilizan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera a permear. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosal, detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosal puede lograrse mediante el uso de aerosoles nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, ungüentos, geles o cremas, como se conoce generalmente en la técnica.

20 Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de uno o más compuestos proporcionados en la presente memoria, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc o mezclas de los mismos.

25 Los polvos y pulverizadores pueden contener, además de un compuesto proporcionado en la presente memoria, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los pulverizadores pueden contener además propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

30 Un compuesto proporcionado en la presente memoria puede administrarse mediante aerosol. Esto se consigue preparando un aerosol acuoso, preparación liposomal, o partículas sólidas que contienen un compuesto o composición proporcionada en la presente memoria. Puede usarse una suspensión no acuosa (p. ej., propelente de fluorocarbono). En algunas realizaciones, se prefieren los nebulizadores sónicos debido a que minimizan la exposición del agente a cizallamiento, lo que puede resultar en la degradación del compuesto.

35 Normalmente, un aerosol acuoso puede hacerse formulando una disolución o suspensión acuosa del agente junto con vehículos y estabilizantes farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizantes varían con los requisitos de la composición particular, pero típicamente incluyen tensioactivos no iónicos (TWEEN® (polisorbatos), PLURONIC® (poloxámeros), ésteres de sorbitán, lecitina, CREMOPHOR® (polietoxilatos)), co-disolventes farmacéuticamente aceptables, tales como polietilenglicol, proteínas inocuas como albúmina de suero, ésteres de sorbitán, ácido oleico, lecitina, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares o alcoholes de azúcar. Los aerosoles se preparan, generalmente, a partir de disoluciones isotónicas.

40 Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar una administración controlada de un compuesto proporcionado en la presente memoria al cuerpo. Dichas formas de dosificación pueden realizarse disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. Pueden usarse también potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de dicho flujo puede controlarse bien proporcionando una membrana controladora de velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

45 Las composiciones farmacéuticas también se pueden preparar en la forma de supositorios o enemas de retención para administración rectal y/o vaginal. Las formulaciones presentadas como un supositorio pueden prepararse mezclando uno o más compuestos proporcionados en la presente memoria con uno o más excipientes o vehículos

- no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, glicéridos, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará el agente activo. Las formulaciones que son adecuadas para la administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen tales vehículos que se sabe en la técnica que son apropiados.
- En una realización, los compuestos terapéuticos se preparan con vehículos que protegerán a los compuestos terapéuticos contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etileno vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Dichas formulaciones se pueden preparar usando técnicas estándar, o se obtienen comercialmente, p. ej., en Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. También pueden usarse suspensiones liposomales (incluyendo liposomas dirigidos a células seleccionadas con anticuerpos monoclonales contra antígenos celulares) como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la Patente U.S. No. 4.522.811.
- Como se ha descrito anteriormente, las preparaciones de uno o más compuestos proporcionados en la presente memoria pueden darse por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Por supuesto, se proporcionan mediante formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, infusión; por vía tópica mediante loción o pomada; y por vía rectal mediante supositorios. En algunas realizaciones, la administración es oral.
- Las expresiones "administración parenteral" y "administrado parenteralmente", tal como se usan en la presente memoria, significan modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, normalmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal e infusión.
- Las expresiones "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente", tal como se usan en la presente memoria, significa la administración de un ligando, fármaco u otro material a través de una ruta que no sea directamente al sistema nervioso central, de manera que entre en el sistema del paciente y, de esta manera, esté sujeto al metabolismo y a otros procesos similares, por ejemplo, la administración subcutánea.
- Un compuesto proporcionado en la presente memoria puede administrarse a seres humanos y otros animales para terapia mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo la vía oral, nasal, por ejemplo, un aerosol, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, tal como por polvos, ungüentos o gotas, incluyendo por vía bucal y sublingual. Independientemente de la vía de administración seleccionada, un compuesto proporcionado en la presente memoria, que puede usarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria, se formula en una forma de dosificación farmacéuticamente aceptable mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. En otra realización, la composición farmacéutica es una disolución oral o una disolución parenteral. Otra realización es una preparación liofilizada que puede ser reconstituída antes de su administración. Como un sólido, esta formulación puede incluir también comprimidos, cápsulas o polvos.
- Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que es efectiva para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxico para el paciente.
- La concentración de un compuesto proporcionado en la presente memoria en una mezcla farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de diversos factores, incluyendo la dosificación del compuesto a administrar, las características farmacocinéticas del compuesto o compuestos empleados, y la vía de administración. En algunas realizaciones, las composiciones proporcionadas en la presente memoria pueden proporcionarse en una disolución acuosa que contiene aproximadamente del 0,1 al 10 % p/v de un compuesto descrito en la presente memoria, entre otras sustancias, para su administración parenteral. Los intervalos de dosificación típicos pueden incluir de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día, proporcionado en 1-4 dosis divididas. Cada dosis dividida puede contener los mismos o diferentes compuestos. La dosificación será una cantidad terapéuticamente efectiva dependiendo de diversos factores, incluyendo la salud general de un paciente, y la formulación y vía de administración del compuesto o compuestos seleccionados.
- Pueden prepararse formas de dosificación o composiciones que contienen un compuesto como se describe en la presente memoria en el intervalo del 0,005 % al 100 % con el equilibrio constituido a partir de un vehículo no tóxico. Los métodos para la preparación de estas composiciones son conocidos por los expertos en la técnica. Las composiciones contempladas pueden contener el 0,001 %-100 % de ingrediente activo, en una realización, el 0,1-95 %, en otra realización, el 75-85 %. Aunque la dosificación variará dependiendo de los síntomas, la edad y el peso corporal del paciente, la naturaleza y gravedad del trastorno a tratar o prevenir, la vía de administración y la

forma del fármaco, en general, se recomienda una dosis diaria de 0,01 a 2.000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, y esta se puede administrar en una dosis única o en dosis divididas. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material vehicular para producir una forma de dosificación única será generalmente la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico.

- 5 La composición farmacéutica puede administrarse de una vez, o puede dividirse en un número de dosis más pequeñas que se administrarán a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación precisa y la duración del tratamiento es una función de la enfermedad que se trata y se puede determinar empíricamente utilizando protocolos de ensayo conocidos o por extrapolación a partir de datos de ensayo *in vivo* o *in vitro*. Debe observarse que las concentraciones y valores de dosificación también pueden variar con la gravedad de la afección a aliviar. Debe entenderse además que, para cualquier paciente en particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse en el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración expuestos en la presente memoria son únicamente ejemplares y no pretenden limitar el alcance o la práctica de las composiciones reivindicadas.
- 10
- 15 El tiempo preciso de administración y/o la cantidad de la composición que dará los resultados más efectivos en cuanto a eficacia del tratamiento en un paciente dado dependerá de la actividad, la farmacocinética y la biodisponibilidad de un compuesto particular, afección fisiológica del paciente (incluyendo la edad, el sexo, el tipo y estadio de la enfermedad, la condición física general, la capacidad de respuesta a una dosis dada, y el tipo de medicamento), la vía de administración, etc. Sin embargo, las directrices anteriores pueden utilizarse como base para el ajuste preciso del tratamiento, p. ej., determinación del tiempo óptimo y/o la cantidad de administración, que no requerirá más que una experimentación rutinaria que consiste en monitorizar al paciente y ajustar la dosificación y/o la temporización.
- 20

Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un contenedor, envase o dispensador junto con instrucciones para la administración.

- 25 También se proporciona en la presente memoria una terapia conjunta en donde uno o más agentes terapéuticos se administran con un compuesto o una composición farmacéutica que comprende un compuesto proporcionado en la presente memoria. Dicho tratamiento conjunto puede conseguirse mediante la dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento. Los ejemplos no limitantes de terapias conjuntas incluyen los proporcionados en el documento WO 2010/048298.
- 30 En ciertas realizaciones, una composición proporcionada en la presente memoria se administra conjuntamente con uno o más inhibidores de proteasoma adicionales (véanse, p. ej., las Patentes U.S. Nos. 7.232.818 y 8.088.741). Los ejemplos adicionales de inhibidores de proteasoma incluyen bortezomib, MLN9708, marizomib, carfilzomib (véase, p. ej., la Patente U.S. No. 7.417.042), y los compuestos descritos en la Patente U.S. No. 7.687.456 y la Patente U.S. No. 7.691.852.
- 35 En ciertas realizaciones, una composición proporcionada en la presente memoria se administra conjuntamente con un quimioterapéutico. Los quimioterapéuticos adecuados pueden incluir productos naturales tales como alcaloides de vinca (p. ej., vinblastina, vincristina, y vinorelbina), paclitaxel, epidipodofilotoxinas (p. ej., etopósido y tenipósido), antibióticos (p. ej., dactinomicina (actinomicina D), daunorrubicina, doxorubicina, e idarrubicina), antraciclina, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina), mitomicina, enzimas (p. ej., L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente L-asparagina y priva a las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina), agentes antiplaquetarios, agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas de nitrógeno (p. ej., mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalán, y clorambucilo), etileniminas y metilmelaminas (p. ej., hexaamelmelaamina y tiotepa), inhibidores de CDK (p. ej., seliciclib, UCN-01, P1446A-05, PD-0332991, dinaciclib, P27-00, AT-7519, RGB286638, y SCH727965), sulfonatos de alquilo (p. ej., busulfán), nitrosoureas (p. ej., carmustina (BCNU) y análogos, y estreptozocina), trazenos-dacarbazina (DTIC), antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como análogos del ácido fólico (p. ej., metotrexato), análogos de pirimidina (p. ej., fluorouracilo, floxuridina, y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (p. ej., mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina), inhibidores de aromatasa (p. ej., anastrozol, exemestano, y letrozol), y complejos de coordinación de platino (p. ej., cisplatino y carboplatino), procarbazona, hidroxiurea, mitotano, aminoglutetimida, inhibidores de histona desacetilasa (HDAC) (p. ej., tricotostatina, butirato de sodio, apicidano, ácido suberilo anilida hidroámico, vorinostat, LBH 589, romidepsina, ACY-1215, y panobinostat), inhibidores de mTor (p. ej., temsirolimus, everolimus, ridaforolimus, y sirolimus), inhibidores de KSP(Eg5) (p. ej., Array 520), agentes de unión al ADN (p. ej., Zalypsis), inhibidor de PI3K delta (p. ej., GS-1101 y TGR-1202), inhibidor de PI3K delta y gamma (p. ej., CAL-130), inhibidor de múltiples quinasas (p. ej., TG02 y sorafenib), hormonas (p. ej., estrógeno) y agonistas de hormonas tales como agonistas de la hormona de liberación de la hormona luteinizante (LHRH) (p. ej., goserelina, leuprolida y triptorelina), anticuerpo neutralizante de BAFF (p. ej., LY2127399), inhibidores de IKK, inhibidores de p38MAPK, anti-IL-6 (p. ej., CNTO328), inhibidores de telomerasa (p. ej., GRN 163L), inhibidores de la quinasa aurora (p. ej., MLN8237), anticuerpos monoclonales de la superficie celular (p. ej., anti-CD38 (HUMAX-CD38), anti-CS1 (p. ej., elotuzumab), inhibidores de HSP90 (p. ej., 17 AAG y KOS 953), inhibidores de P13K / Akt (p. ej., perifosina), inhibidor de Akt (p. ej., GSK-2141795), inhibidores de PKC (p. ej., enzastaurina), FTI (p. ej., Zarnestra™), anti-CD138 (p. ej., BT062), inhibidor de la quinasa específica Torcl/2 (p. ej.,
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60

5 INK128), inhibidor de quinasa (p. ej., GS-1101), agente de direccionamiento de ER/UPR (p. ej., MKC-3946), inhibidor de cFMS (p. ej., ARRY-382), inhibidor de JAK1/2 (p. ej., CYT387), inhibidor de PARP (p. ej., olaparib y veliparib (ABT-888)), antagonista de BCL-2. Otros agentes quimioterapéuticos pueden incluir mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, navelbina, sorafenib, o cualquier análogo o derivado variante de los anteriores.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica como se proporciona en la presente memoria, se administra conjuntamente con una citocina. Las citocinas incluyen, pero sin limitación, interferón  $\gamma$ ,  $\alpha$ , y  $\beta$ , interleucinas 1-8, 10 y 12, factor estimulante de colonias de monocitos y granulocitos (GM-CSF), TNF- $\alpha$  y  $\beta$ , y TGF- $\beta$ .

10 En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente memoria se administra conjuntamente con un esteroide. Los esteroides adecuados pueden incluir, pero sin limitación, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluzacort, flucoronida, flumetasona, flunisolida, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, fluocortina butilo, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednido, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbat, prednisolona, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, prednisona, prednival, prednilidena, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, benetonido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, y sales y/o derivados de los mismos.

25 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente memoria se administra conjuntamente con un agente inmunoterapéutico. Los agentes inmunoterapéuticos adecuados pueden incluir, pero sin limitación, moduladores de MDR (p. ej., verapamilo, valsopodar, biricodar, tariquidar, laniquidar), ciclosporina, talidomida y lenalidomida (REVLIMID®), pomalidomida, y anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden ser simples o estar conjugados, tales como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetan, gemtuzumab ozogamicin, bevacizumab, cetuximab, erlotinib, y trastuzumab.

## Ejemplos

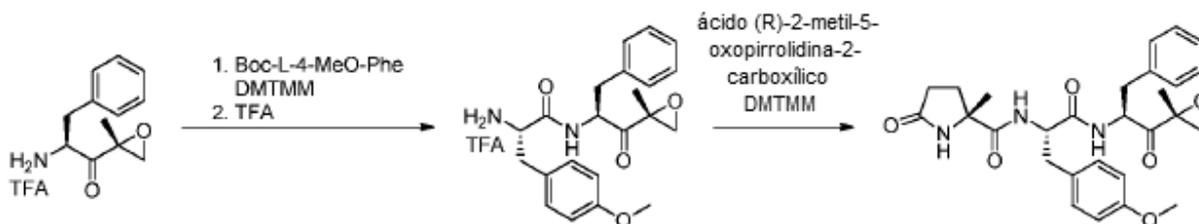
### Métodos experimentales generales

30 Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se registraron a 400 MHz para  $^1\text{H}$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se dan en ppm campo abajo de tetrametilsilano, un estándar interno, y las constantes de acoplamiento (valores de  $J$ ) están en hertzios (Hz). Se usó espectrometría de masas (MS) para confirmar la masa de los compuestos ionizando los compuestos para generar moléculas cargadas o fragmentos de molécula y midiendo sus relaciones masa-carga ( $m/z$ ). Como el método de ionización, se usó ionización por EI (impacto de electrones).

### Procedimientos sintéticos-compuestos de epoxi cetona dipeptídica y tripeptídica

#### 35 Ejemplo 1 (Tipo A)

Preparación de (R)-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-2-metil-5-oxopirrolidina-2-carboxamida (**C-3010**):



40 *Preparación de Boc-(S)-2-amino-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida usando cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (DMTMM)*

45 Se añadieron DMTMM (8,65 g, 31,3mmoles) y N-metilmorfolina (4,0 mg, 39 mmoles) a una disolución de Boc-L-4-MeO-fenilalanina (4,6 g, 15,7 mmoles) y (S)-2-amino-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-3-fenilpropan-1-ona (sal del ácido trifluoroacético (TFA), 5,0 g, 15,7 mmoles) en cloruro de metileno (100 mL) y dimetilformamida (DMF, 10 mL) a 0 °C con agitación. La suspensión se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (cloruro de metileno/metanol = 20:1) para rendir Boc-(S)-2-amino-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida (6,9 g, 91 % de rendimiento).

*Preparación de Boc-(S)-2-amino-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida usando 3-óxido hexafluorofosfato de 1-[Bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio (HATU)*

5 A un matraz cargado con Boc-L-4-MeO-fenilalanina (3,1 g, 10,3 mmoles), (S)-2-amino-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-3-fenilpropan-1-ona (sal de TFA, 3,0 g, 9,4 mmoles) y HATU (3,2 g, 10,3 mmoles) se añadió diclorometano (DCM, 20 mL). La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se basificó con *N,N*-Diisopropiletilamina (DIPEA) hasta pH=8. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y después se paró con agua (30 mL). La mezcla resultante se extrajo con metil butil terciario éter (MTBE; 30 mL x 3). Los orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 5:1 a 4:1) para rendir Boc-(S)-2-amino-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida como un sólido blanco (4,5 g, 88 % de rendimiento).

15 Se añadió TFA (2 mL) a una disolución de Boc-(S)-2-amino-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida (800 mg, 1,66 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h y después se concentró a sequedad. El residuo se azeotropó tres veces con EtOAc (5 mL x 3) para eliminar el TFA residual para rendir (S)-2-amino-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida (1,66 mmoles) como su sal de TFA, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Se añadieron DMTMM (916 mg, 3,3 mmoles) y *N*-metilmorfolina (500 mg, 5 mmoles) a una disolución de (S)-2-amino-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida (1,66 mmoles) y (R)-2-metil-5-oxopirrolidina-2-carboxílico (500 mg, 4 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y DMF (5 mL) a 20 0 °C con agitación. La suspensión se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y se añadieron EtOAc (100 mL) y agua (100 mL). Las dos fases resultantes se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL x 3), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 20:1) para rendir (R)-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-2-metil-5-oxopirrolidina-2-carboxamida (150 mg, 17 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

25 <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,20-7,30 (m, 4H), 7,15 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,95-7,10 (m, 3H), 6,85 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,65 (m, 1H), 6,25 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 4,45 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,25 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,10 (m, 1H), 2,80-2,99 (m, 3H), 2,70 (m, 1H), 2,10-2,35 (m, 3H), 1,95 (m, 1H), 1,49 (s, 3H), 1,40 (s, 3H). MS (EI) para C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 506,1 [M-H]<sup>-</sup>.

30 Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera similar:

35 (S)-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-2-metil-5-oxopirrolidina-2-carboxamida (**C-3011**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,20-7,30 (m, 4H), 7,10-7,20 (m, 5H), 6,85 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,80 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 4,56 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,28 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,10 (m, 1H), 2,80-2,99 (m, 3H), 2,70 (m, 1H), 2,00-2,30 (m, 3H), 1,90 (m, 1H), 1,47 (s, 3H), 1,41 (s, 3H). MS (EI) para C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 508,1 [M+H]<sup>+</sup>.

40 (S)-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (**C-3002**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,26-7,21 (m, 2H), 7,10 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,03-7,01 (m, 2H), 6,83-6,78 (m, 3H), 6,22-6,18 (m, 2H), 4,73-4,70 (m, 1H), 4,56 (q, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,99-3,97 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,27-3,21 (m, 2H), 3,12-3,08 (m, 1H), 2,94-2,92 (m, 3H), 2,71-2,61 (M, 2H), 1,50 (s, 3H). MS (EI) para C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 480,2 [M+H]<sup>+</sup>.

45 (R)-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (**C-3003**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,26-7,20 (m, 3H), 7,09 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 7,02-7,01 (m, 2H), 6,93 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,38 (s, 1H), 6,33 (d, *J* = 6,8, 1H), 4,71-4,69 (m, 1H), 4,55 (q, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,98 (q, *J* = 2,8 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,26-3,20 (m, 2H), 3,08 (dd, *J* = 12,0, 4,8 Hz, 1H), 2,95-2,91 (m, 3H), 2,81-2,77 (m, 1H), 2,62 (dd, *J* = 13,8, 8,6 Hz, 1H), 1,72 (s, 1H), 1,48 (s, 3H). MS (EI) para C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 480,2 [M+H]<sup>+</sup>.

50 ((S)-1-(((S)-3-(4-Metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de metilo (**C-2009**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,41 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,75 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,31-7,19 (m, 6H), 4,61-4,55 (m, 1H), 4,45-4,35 (m, 1H), 3,97-3,86 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,20-3,14 (m, 1H), 2,98-2,80 (m, 3H), 2,75-2,6 (m, 2H), 1,35 (s, 3H), 1,14 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 1,08-1,05 (m, 3H). LC-MS para C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 512,38 [M+H]<sup>+</sup>.

55 ((R)-1-(((S)-3-(4-Metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de metilo (**C-2010**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,42 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,31-7,21 (m, 5H), 7,07 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,767 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,60-4,44 (m, 2H), 3,98-3,94 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,22 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,00-2,89 (m, 3H), 2,76-2,70 (m, 1H), 2,61-2,55 (1H), 1,35 (s, 3H), 0,93 (s, 3H). MS (EI) para C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 512,3 [M+H]<sup>+</sup>.

(S)-3-(4-Metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)-2-((S)-2-(2,2,2-trifluoroacetamido)propanamido)propanamida (**C-2011**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9,43 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H),

8,45 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,06 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,34-7,15 (m, 5H), 7,08 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,76 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,70-4,50 (m, 1H), 4,48-4,40 (m, 1H), 4,36-4,31 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,18-3,16 (m, 1H), 2,99-2,85 (m, 3H), 2,73-2,68 (m, 2H), 1,35 (s, 3H), 1,23-1,05 (m, 3H). MS (EI) para  $C_{26}H_{29}N_5O_5$ , encontrado 492,48 [M+H]<sup>+</sup>.

5 (S)-2-(2-(1H-1,2,3-Triazol-1-il)acetamido)-3-(4-metoxifenil)-N-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida (**C-3004**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,61 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,42 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,34-7,22 (m, 5H), 7,09 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,80 (d,  $J = 8,4$  Hz), 4,88-4,78 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,20-3,19 (m, 1H), 3,00-2,87 (m, 3H), 2,72-2,62 (m, 3H), 1,36 (s, 3H). MS (EI) para  $C_{27}H_{30}N_3O_6$ , encontrado 550,51 [M+H]<sup>+</sup>.

10 2-Amino-N-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-2-metilpropanamida (**C-3006**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,97 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 7,26 - 7,19 (m, 3H), 7,13 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,98 (dd,  $J = 7,5, 1,8$  Hz, 2H), 6,85 - 6,79 (m, 2H), 6,36 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 4,74 (td,  $J = 7,6, 5,1$  Hz, 1H), 4,50 - 4,39 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,27 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H), 3,05 (dd,  $J = 14,0, 5,0$  Hz, 1H), 2,97 (dd,  $J = 6,9, 2,0$  Hz, 2H), 2,90 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H), 2,71 (dd,  $J = 14,0, 7,8$  Hz, 1H), 1,22 (d,  $J = 13,6$  Hz, 6H). MS (EI) para  $C_{26}H_{33}N_3O_5$ , encontrado 468,3 [M+H]<sup>+</sup>.

15 (R)-3,3,3-Trifluoro-2-hidroxi-N-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-2-metilpropanamida (**C-3007**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,23 (dd,  $J = 5,1, 2,0$  Hz, 3H), 7,15 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,94 (dd,  $J = 7,1, 2,3$  Hz, 2H), 6,84 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 5,80 (d,  $J = 7,0$  Hz, 1H), 4,72 - 4,62 (m, 1H), 4,55 - 4,46 (m, 1H), 4,11 (s, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,24 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H), 3,06 (td,  $J = 14,4, 5,3$  Hz, 2H), 2,96 (s, 2H), 2,95 - 2,81 (m, 2H), 2,60 (dd,  $J = 13,9, 8,2$  Hz, 1H), 1,51 (s, 3H), 1,47 (s, 3H). MS (EI) para  $C_{26}H_{29}F_3N_2O_6$ , encontrado 523,0 [M+H]<sup>+</sup>.

25 N-(((S)-3-(4-Metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carboxamida (**C-3008**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11,13 (s, 0H), 8,76 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,33 - 7,11 (m, 7H), 7,02 (s, 2H), 6,84 - 6,72 (m, 4H), 4,72 (s, 1H), 4,62 (ddd,  $J = 9,3, 7,6, 4,4$  Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,17 (d,  $J = 5,0$  Hz, 2H), 3,06 - 2,91 (m, 4H), 2,86 - 2,76 (m, 2H), 2,75-2,65 (m, 7H), 1,38 (s, 3H). MS (EI) para  $C_{28}H_{29}N_3O_6$ , encontrado 504,0 [M+H]<sup>+</sup>.

30 (R)-N-(((S)-3-(4-Metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-6-oxopiperidina-2-carboxamida (**C-3009**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,26 - 7,20 (m, 3H), 7,15 - 7,11 (m, 2H), 6,99 (dd,  $J = 7,6, 1,8$  Hz, 2H), 6,89 - 6,80 (m, 2H), 6,55 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 6,08 - 5,97 (m, 2H), 4,74 - 4,65 (m, 1H), 4,49 (q,  $J = 7,4$  Hz, 1H), 3,89 (td,  $J = 7,2, 6,1, 2,4$  Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,24 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H), 3,08 (dd,  $J = 14,0, 4,8$  Hz, 1H), 3,02 - 2,86 (m, 3H), 2,62 (dd,  $J = 14,0, 8,3$  Hz, 1H), 2,33 (td,  $J = 6,4, 2,1$  Hz, 2H), 1,99 - 1,90 (m, 1H), 1,79 - 1,64 (m, 3H), 1,59 (s, 3H), 1,50 (s, 3H). MS (EI) para  $C_{28}H_{33}N_3O_6$ , encontrado 508,0 [M+H]<sup>+</sup>.

35 (R)-3-(((Benciloxi)carbonil)amino)-4-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo (**C-2016**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 7,44 - 7,32 (m, 5H), 7,23 - 7,10 (m, 4H), 7,09 - 6,96 (m, 6H), 6,78 - 6,68 (m, 4H), 6,38 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 3,09 - 2,92 (m, 4H), 2,89 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 2,84 (dd,  $J = 14,0, 6,6$  Hz, 1H), 2,65 (dd,  $J = 13,8, 8,9$  Hz, 1H), 2,55 (dd,  $J = 17,3, 5,7$  Hz, 1H), 1,62 (s, 2H), 1,45 (s, 3H), 1,42 (s, 8H). MS (EI) para  $C_{38}H_{45}N_3O_9$ , encontrado 688,0 [M+H]<sup>+</sup>.

40 N-(((S)-1-(((S)-3-Ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carboxamida (**C-3014**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,61 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 7,50 (dd,  $J = 9,0, 6,9$  Hz, 1H), 7,18 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,87 - 6,79 (m, 5H), 6,75 (d,  $J = 9,1$  Hz, 1H), 6,21-6,09 (m, 1H), 4,77 (q,  $J = 7,0, 6,5$  Hz, 1H), 4,51-4,43 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,22 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H), 3,15 (dd,  $J = 13,9, 6,1$  Hz, 1H), 3,03 (dd,  $J = 13,9, 7,5$  Hz, 1H), 2,90 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 1,78 - 1,30 (m, 12H), 1,19 - 0,89 (m, 2H). LC-MS para  $C_{27}H_{33}N_3O_6$ , encontrado 496,0 [M+H]<sup>+</sup>.

45 N-(((S)-1-(((S)-3-(Ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carboxamida (**C-3015**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,50 (dd,  $J = 9,2, 6,8$  Hz, 1H), 7,23 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,87-6,76 (m, 4H), 5,85 (d,  $J = 6,4$  Hz, 1H), 5,25 (app s, 1H), 4,72-4,69 (m, 1H), 4,52-4,48 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,26 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,15 (dd,  $J = 13,6, 5,2$  Hz, 1H), 2,99 (dd,  $J = 13,6, 8,4$  Hz, 1H), 2,91 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 2,55-2,45 (m, 1H), 2,19-2,11 (m, 6H), 1,82-1,76 (m, 4H), 1,52 (s, 3H), 1,49-1,42 (m, 1H). MS (EI) para  $C_{27}H_{33}N_3O_6$ , encontrado 494,2 [M+H]<sup>+</sup>.

50 N-(((S)-1-(((S)-1-((R)-2-Metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carboxamida (**C-3016**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11,19 (br s, 1H), 8,62 (br s, 1H), 8,32 (br s, 1H), 7,75 (br s, 1H), 7,29-7,17 (m, 8H), 6,78 (br s, 1H), 4,58-4,74 (m, 2H), 3,22 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 3,03 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 2,96 (dd,  $J = 14,4, 4,0$  Hz, 1H), 2,69-2,63 (m, 1H), 1,38 (s, 3H), 1,26 (d, 6,8 Hz, 3H). MS (EI) para  $C_{21}H_{23}N_3O_5$ , encontrado 398,0 [M+H]<sup>+</sup>.

55 N-(((S)-3-Hidroxi-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carboxamida (**C-3017**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11,23 (s, 1H), 8,58-8,56 (m, 1H), 8,31-8,29 (m, 1H), 7,79 (br s, 1H), 7,50 (br s, 1H), 7,27-7,16 (m, 5H), 6,84 (br s, 1H), 5,10-4,90 (m, 1H), 4,65-4,60 (m, 1H), 4,53-4,48 (m, 1H), 3,63-3,61 (m, 2H), 3,20 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 3,00 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 2,93 (dd,  $J = 14,0, 4,8$  Hz, 1H), 2,70 (dd,  $J = 14,0, 9,6$  Hz, 1H), 1,36 (s, 3H). MS (EI) para  $C_{21}H_{23}N_3O_6$ , encontrado 414,0 [M+H]<sup>+</sup>.

N-((S)-1-(((S)-3-Ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carboxamida (**C-3018**):  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11,19 (s, 1H), 8,51-8,20 (m, 2H), 7,80-7,25 (m, 2H), 6,83 (br s, 1H), 4,60-4,55 (m, 1H), 4,34-4,28 (m, 1H), 3,18 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 3,02 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 1,82-1,41 (m, 12H), 1,29 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 1,39-1,10 (m, 2H). MS (EI) para  $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5$ , encontrado 390,0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

5 N-((S)-1-(((S)-3-Ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il)-6-oxo-1,6-dihidropiridina-2-carboxamida (**C-3019**):  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11,25 (s, 1H), 8,45-8,25 (m, 2H), 8,80 (br s, 1H), 8,50 (br s, 1H), 7,80 (br s, 1H), 5,00-4,97 (m, 1H), 4,58-4,53 (m, 1H), 4,38-4,35 (m, 1H), 3,66-6,63 (m, 2H), 3,18 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,01 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 1,90-1,40 (m, 11H), 1,15-1,05 (m, 4H). MS (EI) para  $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6$ , encontrado 406,0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

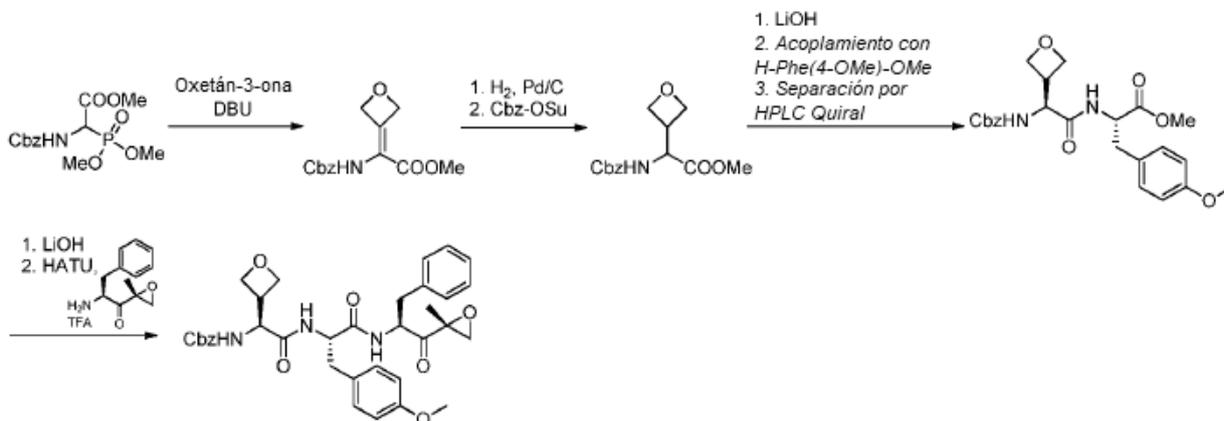
10 Ácido (R)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-4-oxobutanoico (**C-2017**):  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,54 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 8,47 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,44 - 7,09 (m, 15H), 7,04 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,71 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 5,01 (s, 2H), 4,54 (ddd,  $J = 8,9, 7,1, 4,9$  Hz, 1H), 4,38 (td,  $J = 9,2, 4,0$  Hz, 1H), 4,13 (q,  $J = 6,4$  Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,44 - 3,19 (m, 3H), 2,87 (ddt,  $J = 33,0, 22,8, 7,1$  Hz, 6H), 2,61 (dd,  $J = 13,8, 9,5$  Hz, 1H), 2,25 (dd,  $J = 16,0, 5,6$  Hz, 1H), 2,14 (dd,  $J = 16,0, 6,5$  Hz, 1H), 1,34 (s, 3H). MS (EI) para  $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_9$ , encontrado 630,2  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

15 ((S)-1-(1-Hidroxiciclopropil)-2-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-2-oxoetil)carbamato de bencilo (**C-2046**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,45 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 7,75 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,20-7,60 (m, 9H), 7,00-7,15 (m, 3H), 6,75 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 5,48 (s, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,65 (m, 1H), 4,55 (m, 1H), 3,95 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,18 (m, 1H), 2,85-3,00 (m, 3H), 2,65-2,80 (m, 1H), 1,34 (s, 3H), 0,50-0,80 (m, 4H). LC-MS para  $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_8$ , encontrado 630,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

20 Se usó ácido (S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-2-(1-((trietilsilil)oxi)ciclopropil)acético en el acoplamiento final seguido de desprotección TBAF estándar.  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,45 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 7,75 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,20-7,60 (m, 9H), 7,00-7,15 (m, 3H), 6,75 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 5,48 (s, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,65 (m, 1H), 4,55 (m, 1H), 3,95 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,18 (m, 1H), 2,85-3,00 (m, 3H), 2,65-2,80 (m, 1H), 1,34 (s, 3H), 0,50-0,80 (m, 4H). LC-MS para  $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_8$ , encontrado 630,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### Ejemplo 2 (Tipo A2)

Preparación de ((S)-2-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-(oxetán-3-il)-2-oxoetil)carbamato de bencilo (**C-2035**)



30 2-(Benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-iliden)acetato de metilo

Se añadió gota a gota 1,8-Diazabicycloundec-7-eno (DBU; 16,25 g, 95 mmoles) a una disolución de N-benciloxi carbonil-(fosfona glicina trimetiléster) (23,0 g, 70 mmoles) y oxetán-3-ona (5,0 g, 70 mmoles) en cloruro de metileno (200 mL) a temperatura ambiente bajo  $\text{N}_2$ . La mezcla de reacción se agitó durante 48 h a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó y el residuo se disolvió en EtOAc (500 mL). La disolución resultante se lavó con  $\text{KHSO}_4$  acuoso al 5 % (300 mL x 2),  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado (300 mL x 3) y salmuera (200 mL x 1), respectivamente. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 5:1) para rendir 2-(benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-iliden)acetato de metilo (13,5 g, 69% de rendimiento).

2-(Benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-il)acetato de metilo

40 Se añadió Pd/C (10 %, 5,0 g) a una disolución del compuesto 2-(benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-iliden)acetato de metilo (10,0 g, 36 mmoles) en MeOH (100 mL). La suspensión se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 12 h. El catalizador se eliminó por filtración y se lavó con MeOH (100 mL). El filtrado y

los lavados se combinaron seguido de la adición de Cbz-OSu (10,0 g, 40 mmoles) y trietilamina (15,2 mL, 108 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 12 h a temperatura ambiente y después se concentró. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 5:1) para rendir 2-(benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-il)acetato de metilo (4,3 g, 41 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

5 *(S)*-2-(((*S*)-2-(benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-il)acetamido)-3-(4 metoxifenil)propanoato de metilo

Una disolución de LiOH (650 mg, 27 mmoles) en agua (10 mL) se añadió a una disolución de 2-(benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-il)acetato de metilo (2,5 g, 9,0 mmoles) en THF (50 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 12 h y después se acidificó con HCl 2 N acuoso hasta pH=3. La mayor parte del disolvente se eliminó y la mezcla remanente se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL x 1), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron para rendir el ácido correspondiente (2,0 g), que se usó directamente sin purificación adicional.

Se añadieron DMTMM (4,4 g, 16 mmoles) y *N*-metilmorfolina (3,2 g, 32 mmoles) a una disolución del ácido (2,0 g, 8,0 mmoles) e hidrocioruro el éster metílico de *L*-4-metoxifenilalanine (2,0 g, 8,2 mmoles) en cloruro de metileno (100 mL) a 0 °C con agitación. La suspensión se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y después se lavó con KHSO<sub>4</sub> acuoso al 5 % (100 mL x 2), NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (100 mL x 3) y salmuera (50 mL x 1), respectivamente. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 3:1) para rendir una mezcla de dos diastereómeros (2,5 g), que se separó adicionalmente por HPLC preparativa quiral para proporcionar (*S*)-2-(((*S*)-2-(Benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-il)acetamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de metilo (1,1 g, 26 % de rendimiento) como un sólido blanco.

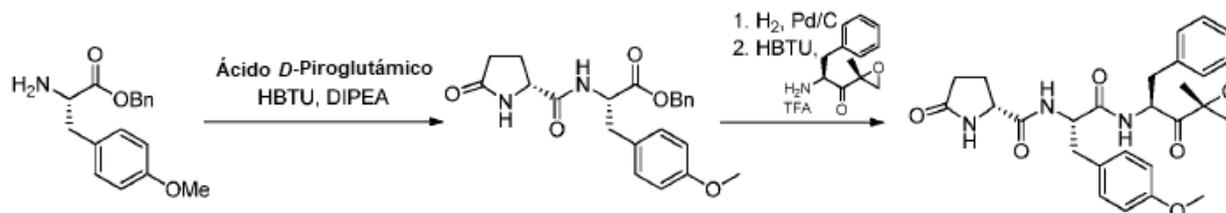
(((*S*)-2-(((*S*)-3-(4-Metoxifenil)-1-(((*S*)-1-((*R*)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-(oxetán-3-il)-2-oxoetil)carbamato de bencilo.

Una disolución de LiOH (70 mg, 2,8 mmoles) en agua (10 mL) se añadió a una disolución de (*S*)-2-(((*S*)-2-(benciloxicarbonilamino)-2-(oxetán-3-il)acetamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de metilo (0,50 g, 0,94 mmoles) en tetrahidrofurano (THF; 50 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h y después se acidificó con HCl 2 N acuoso hasta pH=3. La mayor parte del disolvente se eliminó y la mezcla remanente se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL x 1), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron para rendir el ácido correspondiente (0,50 g), que se usó directamente sin purificación adicional. Se añadieron HATU (380 mg, 1,0 mmoles) y DIPEA (0,62 mL, 3,6 mmoles) a una disolución del ácido (0,5 g, 0,9 mmoles) y (*S*)-2-amino-1-((*R*)-2-metiloxiran-2-il)-3-fenilpropan-1-ona (sal de TFA, 290 mg, 0,9 mmoles) en DMF (20 mL) a 0 °C con agitación. La suspensión se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y después se diluyó con EtOAc (100 mL). La mezcla resultante se lavó con KHSO<sub>4</sub> acuoso al 5 % (50 mL x 3), NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (50 mL x 3) y salmuera (50 mL x 1), respectivamente. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 3:1) para rendir (((*S*)-2-(((*S*)-3-(4-Metoxifenil)-1-(((*S*)-1-((*R*)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-(oxetán-3-il)-2-oxoetil)carbamato de bencilo (200 mg, 35 % de rendimiento) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,30-7,50 (m, 5H), 7,20-7,30 (m, 2H), 7,08 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,95-7,05 (m, 2H), 6,80 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,70 (m, 1H), 6,15 (m, 1H), 5,40 (m, 1H), 5,15 (2d, 2H), 4,60-4,80 (m, 3H), 4,30-4,50 (m, 4H), 3,78 (s, 3H), 3,28 (m, 2H), 3,10 (m, 1H), 2,90-3,00 (m, 2 H), 2,70 (m, 1H), 1,60-1,70 (m, 4H), 1,51 (s, 3H). LC-MS para C<sub>35</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>, encontrado 630,4 [M+H]<sup>+</sup>.

**Ejemplo 3 (Tipo A3)**

(*R*)-*N*-(((*S*)-3-(4-metoxifenil)-1-(((*S*)-1-((*R*)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-5-oxopirrolidina-2-carboxamida



45

*(S)*-3-(4-Metoxifenil)-2-((*R*)-5-oxopirrolidina-2-carboxamido) propanoato de bencilo

A una disolución de (*S*)-2-amino-3-(4-metoxifenil)propanoato de bencilo (1,0 g, 2,26 mmoles) en DMF (10 mL) a 0 °C se añadieron HBTU (1,02 g, 2,7 mmoles) y HOBt (457 mg, 3,39 mmoles). La mezcla se agitó durante 5 min y se añadieron ácido *D*-piroglutámico (321 mg, 2,5 mmoles) y DIPEA (1,58 mL, 9,04 mmoles). La mezcla de reacción se

agitó a temperatura ambiente durante 30 min y se añadió bicarbonato de sodio saturado (50 mL). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2) y los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Heptano a Heptano/EtOAc = 2:3) para rendir (S)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-5-oxopirrolidina-2-carboxamido) propanoato de bencilo (800 mg, 89 % de rendimiento) como un sólido blanco.

*(R)-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-5-oxopirrolidina-2-carboxamida*

A una disolución de (S)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-5-oxopirrolidina-2-carboxamido) propanoato de bencilo (800 mg, 2,02 mmoles) en THF (10 mL) se añadió Pd/C (10 %, 500 mg). La suspensión se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 4 h. El catalizador se eliminó por filtración y se lavó con MeOH (5 mL). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron a sequedad para rendir el ácido correspondiente (700 mg, cuantitativo), que se usó directamente sin purificación adicional.

A una disolución del ácido (700 mg, 2,29 mmoles) en DMF (7 mL) a 0 °C se añadió HBTU (1,3 g, 3,44 mmoles). La mezcla se agitó durante 5 min y se añadieron el compuesto (S)-2-amino-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-3-fenilpropan-1-ona (469 mg, 2,29 mmoles) y DIPEA (1,59 mL, 9,16 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y se añadió bicarbonato de sodio saturado (50 mL). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2) y los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (DCM/MeOH = 50:1 a 10:1) para rendir (R)-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-5-oxopirrolidina-2-carboxamida (220 mg, 22 % de rendimiento en dos etapas) como un sólido blanco.

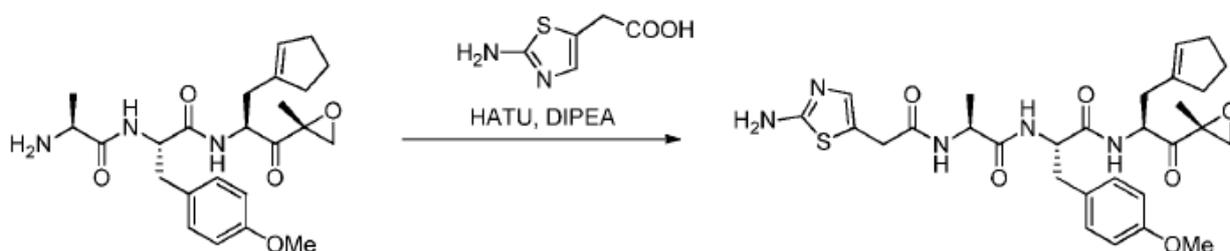
<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,28-7,23 (m, 5H), 7,19-7,08 (m, 5H), 7,05 (q, J = 3,7 Hz, 2H), 7,00 (dd, J = 7,4, 2,0 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,70 (br s, 1H), 6,55 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,74 (m, 1H), 4,65-4,62 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,27 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,11 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 3,07 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,98 (m, 2H), 2,68 (dd, J = 13,8, 8,1 Hz, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,20 (m, 3H), 1,48 (s, 3H). MS (EI) para C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 494,2 [M+H]<sup>+</sup>.

Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera similar:

(S)-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-5-oxopirrolidina-2-carboxamida (**C-3013**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,28-7,23 (m, 5H), 7,19-7,08 (m, 5H), 7,07 (m, 2H), 7,00 (dd, J = 7,4, 2,0 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,70 (br s, 1H), 6,55 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,74 (m, 1H), 4,65-4,62 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,27 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,11 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 3,07 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,98 (m, 2H), 2,68 (dd, J = 13,8, 8,1 Hz, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,20 (m, 3H), 1,48 (s, 3H). MS (EI) para C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 494,1 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 4 (Tipo D)

Preparación de (S)-2-((S)-2-(2-(2-aminotiazol-5-il)acetamido)propanamido)-N-((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)propanamida (**C-2066**)



Se añadieron HATU (635 mg, 1,68 mmoles) y DIPEA (0,78 mL, 4,48 mmoles) a una disolución de (S)-2-((S)-2-aminopropanamido)-N-((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)propanamida (sal de TFA, 600 mg, 1,11 mmoles) y ácido 2-(2-aminotiazol-5-il)acético (175 mg, 1,11 mmoles) en DMF (10 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 50:1) para rendir el compuesto del título (150 mg, 23 % de rendimiento) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,31 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 8,11 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,79-6,64 (m, 5H), 5,39 (br s, 2H), 4,49 (m, 2H), 4,42 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,42 (m, 2H), 3,17 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,98 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 2,23 (m, 5H), 1,81 (m, 2H), 1,37 (s, 3H), 1,11 (d, J = 4,8 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>29</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S, encontrado 584,91 [M+H]<sup>+</sup>.

Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera similar:

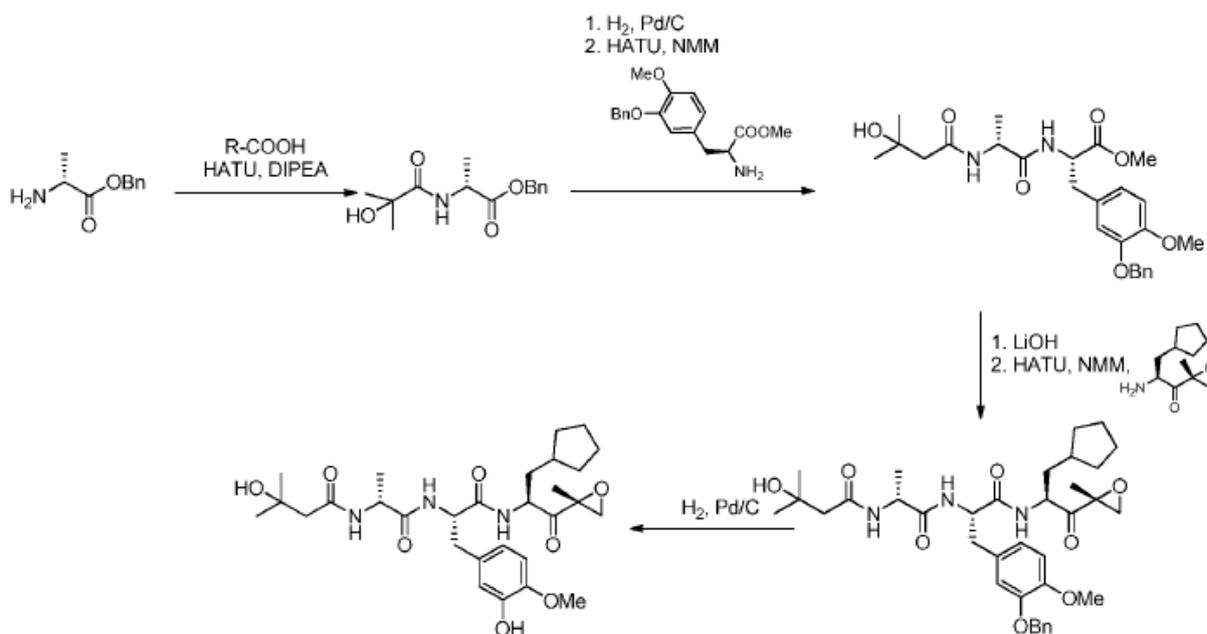
- 5 (S)-N-((S)-3-(ciclo-pent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-2-((S)-2-(2-(2-(dimetilamino)tiazol-5-il)acetamido)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanamida (**C-2067**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,23 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,18 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 7,93 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,08 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,85 (s, 1H), 6,78 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 5,38 (s, 1H), 4,40-4,60 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,48 (m, 2H), 3,18 (m, 1H), 2,80-3,10 (m, 8H), 2,65 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 2,10-2,30 (m, 5H), 1,70-1,90 (m, 2H), 1,37 (s, 3H), 1,12 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ , encontrado 610,33 [M-H] $^-$ .
- 10 (S)-2-((S)-2-(2-(2-(azetidín-1-il)tiazol-5-il)acetamido)propanamido)-N-((S)-3-(ciclo-pent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)propanamida (**C-2068**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,25 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 8,18 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 7,93 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 7,08 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,84 (s, 1H), 6,78 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 5,38 (m, 1H), 4,40-4,60 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 3,95 (m, 4H), 3,69 (s, 3H), 3,48 (m, 2H), 3,18 (m, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 2,50-2,80 (m, 2H), 2,30-2,50 (m, 4H), 2,10-2,30 (m, 5H), 1,70-1,90 (m, 2H), 1,37 (s, 3H), 1,12 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ , encontrado 623,72 [M+H] $^+$ .
- 15 (S)-N-((S)-3-(ciclo-pent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-2-((S)-2-(2-(2-(pirrolidín-1-il)tiazol-5-il)acetamido)propanamido)propanamida (**C-2069**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,25 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 8,15 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,93 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,08 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,84 (s, 1H), 6,78 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 5,38 (s, 1H), 4,40-4,60 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,50 (m, 2H), 3,30 (m, 4H), 3,18 (m, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 2,65 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 2,21 (m, 5H), 1,90-2,00 (m, 4H), 1,85 (m, 2H), 1,37 (s, 3H), 1,12 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ , encontrado 638,64 [M+H] $^+$ .
- 20 (S)-2-((S)-2-(2-(2-aminooxazol-5-il)acetamido)propanamido)-N-((S)-3-(ciclo-pent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)propanamida (**C-2070**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,29 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,11 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 7,98 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,11 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,79 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,38 (m, 3H), 5,39 (br s, 1H), 4,49 (m, 2H), 4,42 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,17 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 2,98 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,37 (m, 1H), 2,21 (m, 5H), 1,81 (m, 2H), 1,37 (s, 3H), 1,11 (d,  $J = 4,8$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_7$ , encontrado 568,76 [M+H] $^+$ .
- 25 (S)-2-acetamido-3-hidroxi-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)propanamida utilizando (S)-2-amino-3-hidroxi-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)propanamida y el ácido activado correspondiente (**C-2007**):  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,43 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H), 7,14 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,07 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,86 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,78 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,70 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,57 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H), 6,22 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 6,11 (s, 1H), 4,69 (td,  $J = 8,1, 4,7$  Hz, 1H), 4,48 (q,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 4,38 (p,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,73-3,65 (m, 5H), 3,22 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H), 3,09 - 2,79 (m, 8H), 2,58 (dd,  $J = 14,1, 8,3$  Hz, 1H), 2,53 - 2,39 (m, 4H), 1,63 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,30 (s, 3H). MS (EI) para  $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_7$ , encontrado 512,3 [M+H] $^+$ .
- 30 (S)-2-((S)-2-(3-hidroxi-propanamido)propanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida utilizando (S)-2-((S)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida y el ácido activado correspondiente (**C-2012**):  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,34 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,96 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,78 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,31-7,22 (m, 5H), 7,06 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 6,77 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,64-4,57 (m, 2H), 4,39-4,38 (m, 1H), 4,21-4,19 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,58-3,56 (m, 2H), 3,17 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,98-2,91 (m, 3H), 2,74-2,64 (m, 2H), 2,25-2,22 (m, 2H), 1,34 (s, 3H), 1,07 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H). MS (EI) para  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_7$ , encontrado 526,3 [M+H] $^+$ .
- 35 (S)-2-((S)-2-(3-(metoximetoxi)propanamido)propanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida utilizando (S)-2-((S)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida y el ácido activado correspondiente (**C-2013**):  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,38 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,98 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,78 (d, 8,0 Hz, 1H), 7,31-7,20 (m, 5H), 7,06 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,77 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,58-4,57 (m, 1H), 4,48 (s, 2H), 4,41-4,40 (m, 2H), 4,23-4,19 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,63-3,58 (m, 2H), 3,19-3,16 (m, 4H), 2,98-2,86 (m, 3H), 2,74-2,65 (m, 2H), 2,37-2,30 (m, 2H), 1,45 (s, 3H), 1,07 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H). MS (EI) para  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_8$ , encontrado 570,57 [M+H] $^+$ .
- 40 (S)-2-((S)-1-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metil-1H-indeno-2-carboxamida utilizando (S)-2-((S)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida y el ácido activado correspondiente (**C-2049**):  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,49 (t,  $J = 5,7, 5,7$  Hz, 2H), 7,44-7,28 (m, 2H), 7,28-7,09 (m, 5H), 7,03 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,65 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 4,75 (dd,  $J = 9,1, 4,6$  Hz, 1H), 4,54 (d,  $J = 14,0$  Hz, 1H), 4,48 (d,  $J = 24,2$  Hz, 1H), 3,66-3,47 (m, 5H), 3,21 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 3,06 (d,  $J = 14,0$  Hz, 1H), 2,98 (dd,  $J = 13,9, 5,8$  Hz, 1H), 2,91 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 2,81 (dd,  $J = 13,9, 8,2$  Hz, 1H), 2,72 (dd,  $J = 13,8, 9,2$  Hz, 1H), 2,43 (t,  $J = 2,2, 2,2$  Hz, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,33 (d,  $J = 7,1$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_6$ , encontrado 610,0 [M+H] $^+$ .
- 50 (S)-3-hidroxi-N-((R)-1-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metilbutanamida utilizando (S)-2-((R)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida y el ácido activado correspondiente (**C-2056**):  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8,41 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 8,07 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 7,95 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H), 7,34 - 7,17 (m, 5H), 7,09 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,78 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 4,76 (s, 1H), 4,58 (ddd,  $J = 9,2, 7,6, 4,6$  Hz, 1H),

4,50 - 4,40 (m, 1H), 4,22 (p, J= 7,4 Hz, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,67 - 3,57 (m, 1H), 3,22 (d, J= 5,1 Hz, 1H), 3,18 - 3,10 (m, 1H), 3,01-2,89 (m, 3H), 2,79 - 2,67 (m, 1H), 2,61-2,53 (m, 1H), 2,19 (s, 1H), 2,07 (s, 1H), 1,34 (s, 3H), 1,28 - 1,19 (m, 6H), 1,11 (d, J= 4,7 Hz, 5H), 0,94 (d, J= 7,0 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>30</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 554,2 [M+H]<sup>+</sup>

5 N-((R)-1-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-1H-indeno-2-carboxamida utilizando (S)-2-((R)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida y el ácido activado correspondiente (**C-2057**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,44 (d, J= 7,3 Hz, 1H), 8,15 (d, J= 7,2 Hz, 1H), 8,03 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,63 (s, OH), 7,57 - 7,49 (m, 1H), 7,37 - 7,25 (m, 6H), 7,24 - 7,16 (m, 1H), 7,07 (d, J= 8,7 Hz, 2H), 6,72 (d, J= 8,7 Hz, 2H), 4,65 - 4,52 (m, 1H), 4,51-4,41 (m, 1H), 4,40 - 4,30 (m, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,22 (d, J= 5,3 Hz, 1H), 3,00 - 2,90 (m, 3H), 2,89 (s, 2H), 2,78 (dd, J= 13,9, 9,3 Hz, 1H), 2,73 (s, 1H), 2,61 (dd, J= 13,8, 10,1 Hz, 1H), 1,34 (s, 3H), 1,09 (d, J= 7,2 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>30</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 594,2 [M-H]<sup>-</sup>

15 N-((R)-1-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)ciclopent-1-encarboxamida utilizando (S)-2-((R)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida y el ácido activado correspondiente (**C-2058**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, ) δ 8,40 (d, J= 7,3 Hz, 1H), 8,28 - 8,03 (m, 2H), 7,99 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,71 (d, J= 7,2 Hz, 1H), 7,33 - 7,24 (m, 3H), 7,24 - 7,17 (m, 1H), 7,07 (d, J= 8,7 Hz, 2H), 6,76 (d, J= 8,7 Hz, 2H), 6,53 (t, J= 1,9 Hz, 1H), 4,58 (ddd, J= 9,2, 7,3, 4,6 Hz, 2H), 4,42 (td, J= 10,1, 4,0 Hz, 1H), 4,24 (t, J= 7,2 Hz, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,62 (pd, J= 6,6, 4,0 Hz, 3H), 3,22 (d, J= 5,4 Hz, 1H), 3,14 (qd, J= 7,4, 4,3 Hz, 4H), 3,02 - 2,90 (m, 3H), 2,89 (s, 3H), 2,73 (s, 3H), 2,69 (s, 4H), 2,58 (dd, J= 13,7, 10,2 Hz, 1H), 2,47 - 2,37 (m, 4H), 1,85 (p, J= 7,7 Hz, 2H), 1,35 (s, 3H), 1,31-1,19 (m, 31H), 1,02 (d, J= 7,1 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>32</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 548,0 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 5 (Tipo E)



Preparación de N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida (**C-2059**)

25 (R)-2-(3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanoato de bencilo

Se añadió DIPEA (8,9 mL, 77 mmoles) a una mezcla de ácido 3-hidroxi-3-metilbutanoico (2,2 g, 18,6 mmoles), hidrocloreto de (R)-2-aminopropanoato de bencilo (3,7 g, 17,1 mmoles) y HATU (7,2 g, 18,9 mmoles) en diclorometano (50 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Se añadió agua (100 mL) y las dos capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con diclorometano (100 mL x 3). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1 a 3:1) para proporcionar (R)-2-(3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanoato de bencilo (4,7 g, 98 % de rendimiento).

35 Se hidrogenó (R)-2-(3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanoato de bencilo (4,7 g, 16,8 mmoles) en presencia de Pd/C (0,5 g) en metanol (20 mL) durante 1 h a temperatura ambiente. El Pd/C se eliminó por filtración y el filtrado se concentró para proporcionar el ácido correspondiente (3,0 g) como un sólido blanquecino.

5 El ácido (1,5 g, 7,9 mmoles) se disolvió en diclorometano (30 mL) y se añadieron (S)-2-amino-3-(3-(benciloxi)-4-metoxifenil)propanoato de metilo (sal de TFA, 3,4 g, 7,9 mmoles) y HATU (3,3 g, 8,7 mmoles). Después, se añadió N-metilmorfolina (2,4 g, 23,7 mmoles) a la disolución resultante a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y se añadió agua (100 mL). Las dos capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (100 mL x 3). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (diclorometano/metanol = 200:1 a 100:1) para proporcionar (S)-3-(3-(benciloxi)-4-metoxifenil)-2-((R)-2-(3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanamido)propanoato de metilo (1,5 g, 39 % de rendimiento).

10 *N-((R)-1-((S)-3-(3-(Benciloxi)-4-metoxifenil)-1-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-ilamino)-1-oxopropan-2-ilamino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida*

15 Se trató (S)-3-(3-(benciloxi)-4-metoxifenil)-2-((R)-2-(3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanamido)propanoato de metilo (1,5 g, 3,1 mmoles) con una disolución de hidróxido de litio-H<sub>2</sub>O (0,26 g, 6,2 mmoles) en agua/THF (10 mL/4 mL) durante 30 min. El THF se eliminó y la fase acuosa se acidificó hasta pH=3-4 con KHSO<sub>4</sub> acuoso al 10 %. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 3). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron para proporcionar el ácido correspondiente (1,2 g) como un sólido amarillo. El ácido (0,63 g, 1,3 mmoles) se disolvió en diclorometano (30 mL) y se añadieron (S)-2-amino-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)propan-1-ona (sal de TFA, 0,4 g, 1,3 mmoles) y HATU (0,56 g, 1,4 mmoles). Se añadió N-metilmorfolina (0,33 g, 3,2 mmoles) a la disolución resultante a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y se añadió agua (100 mL). Las dos capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (100 mL x 3). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (diclorometano/metanol = 200:1 a 100:1) para proporcionar *N-((R)-1-((S)-3-(3-(benciloxi)-4-metoxifenil)-1-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-ilamino)-1-oxopropan-2-ilamino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida* (0,3 g, 35 % de rendimiento).

25 *N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida*

30 Se hidrogenó *N-((R)-1-((S)-3-(3-(benciloxi)-4-metoxifenil)-1-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-ilamino)-1-oxopropan-2-ilamino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida* (0,3 g, 0,46 mmoles) en presencia de Pd/C (0,1 g) en metanol (20 mL) durante 2 h a 0 °C. El Pd/C se eliminó por filtración y el filtrado se concentró. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (diclorometano/metanol = 100:1 a 50:1) para rendir *N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida* (162 mg, 62 % de rendimiento) como un sólido blanco.

35 <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,70 (s, 1H), 8,21 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,11 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,99 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,76 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,65 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 6,59 (dd, *J* = 1,8, 8,4 Hz, 1H), 4,77 (s, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,26 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,23 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 3,01 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,50 (m, 1H), 2,20 (s, 2H), 1,41-1,93 (m, 11H), 1,41 (s, 3H), 1,12 (s, 6H), 0,98 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>, encontrado 562,3 [M+H]<sup>+</sup>.

Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera similar:

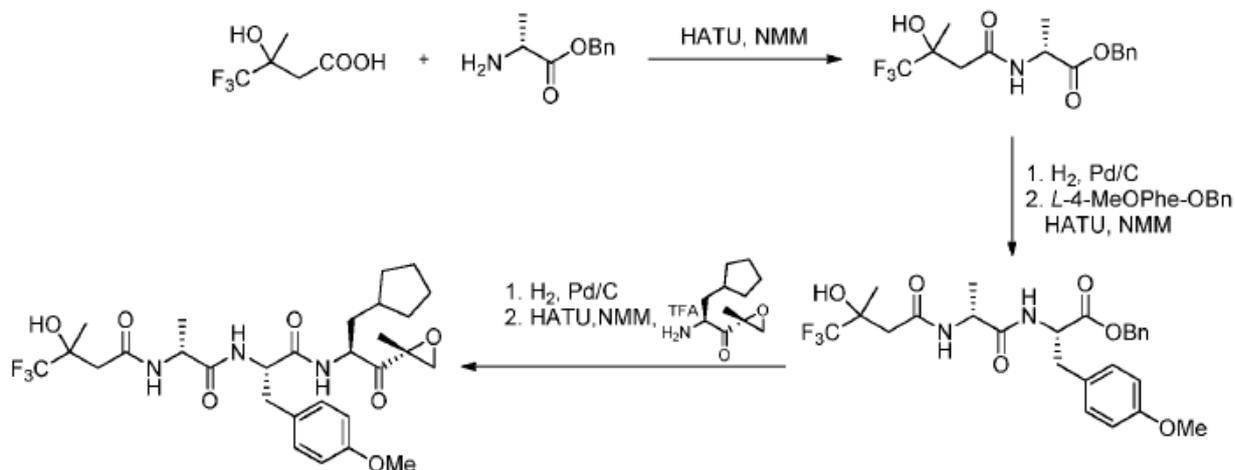
40 *N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-oxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-(metilsulfonyl)fenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida* (**C-2055**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,39 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 8,34 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 8,03 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,50 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 4,65 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,70 (s, 1H), 3,20 (m, 1H), 3,17 (s, 3H), 3,05 (m, 1H), 2,80-2,90 (m, 2H), 2,20 (s, 2H), 1,40-1,90 (m, 10H), 1,00-1,30 (m, 8H), 0,94 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S, encontrado 580,3 [M+H]<sup>+</sup>.

45 *N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-(metilsulfonyl)fenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida* (**C-2050**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,32 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,22 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,81 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,47 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,65 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,20 (m, 2H), 3,17 (s, 3H), 3,10 (m, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 1,40-1,90 (m, 13H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,30 (m, 9H), 0,94 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S, encontrado 594,3 [M+H]<sup>+</sup>.

55 *N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida* con el orden cambiado de acoplamiento final y desprotección del ácido bencilo (**C-2060**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,71 (s, 1H), 8,25 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 8,09 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,66 (m, 1H), 6,58 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,41 (s, 1H), 4,78 (s, 1H), 4,51 (m, 2H), 4,27 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,23 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 2,99 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 2,84 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 2,24 (m, 6H), 1,81 (m, 2H), 1,38 (s, 3H), 1,12 (s, 6H), 0,90 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>, encontrado 582,4 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Ejemplo 6 (Tipo F)**

Preparación de N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamida (**C-2054**)



5 *(2R)-2-(4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanoato de bencilo*

Se añadió N-Metilmorfolina (1,17 g, 11,6 mmoles) a una mezcla de ácido 4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanoico (1,0 g, 5,8 mmoles), hidrocloreto de (R)-2-aminopropanoato de bencilo (1,25 g, 5,8 mmoles) y HATU (2,42 g, 6,4 mmoles) en diclorometano (50 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y se añadió agua (50 mL). La mezcla resultante se extrajo con diclorometano (50 mL x 3). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1 a 5:1) para proporcionar (2R)-2-(4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanoato de bencilo (1,4 g, 72 % de rendimiento).

15 *(2S)-3-(4-metoxifenil)-2-((2R)-2-(4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanamido)propanoato de bencilo*

Se hidrogenó (2R)-2-(4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanoato de bencilo (0,63 g, 1,8 mmoles) en presencia de Pd/C (0,1 g) en metanol (20 mL) durante 1 h a temperatura ambiente. El catalizador se eliminó por filtración y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en diclorometano (30 mL) seguido de la adición de L-4-MeOPhe-OBn (sal de HCl, 0,67 g, 2,0 mmoles) y HATU (0,79 g, 2,0 mmoles). Se añadió N-Metilmorfolina (1,1 g, 10,8 mmoles) se añadió a la disolución a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y se añadió agua (30 mL). La mezcla resultante se extrajo con diclorometano (30 mL x 3). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1 a 1:1) para proporcionar el compuesto (2S)-3-(4-metoxifenil)-2-((2R)-2-(4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanamido)propanoato de bencilo (0,7 g, 76 % de rendimiento).

25 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamida

Se hidrogenó (2S)-3-(4-metoxifenil)-2-((2R)-2-(4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamido)propanamido)propanoato de bencilo (0,7 g, 1,3 mmoles) en presencia de Pd/C (0,1 g) en metanol (20 mL) durante 1 h a temperatura ambiente. El catalizador se eliminó por filtración y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en diclorometano (30 mL) seguido de la adición de (S)-2-amino-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)propan-1-ona (0,44 g, 1,3 mmoles) y HATU (0,53 g, 1,3 mmoles). Se añadió N-Metilmorfolina (0,8 g, 7,9 mmoles) a la disolución a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente seguido de la adición de agua (30 mL). La mezcla resultante se extrajo con diclorometano (30 mL x 3). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1 a 1:1) para rendir una mezcla de isómeros de N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-3-metilbutanamida (140 mg, 18 % de rendimiento).

1H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,27 (m, 1H), 8,17 (m, 2H), 7,13 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 6,80 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,27 (m, 1H), 4,51 (m, 1H), 4,29 (m, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,22 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 3,02 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,21-2,65 (m, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,28 (m, 3H), 1,07-1,93 (m, 11H), 0,96 (d, J = 6,6 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 600,2 [M+H]<sup>+</sup>

Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera similar, con la excepción de que la desprotección de los

ésteres de bencilo se realizó con 1,2 eq de LiOH en una mezcla 2:1 de MeOH:H<sub>2</sub>O seguido de acidificación hasta pH 3 y filtración:

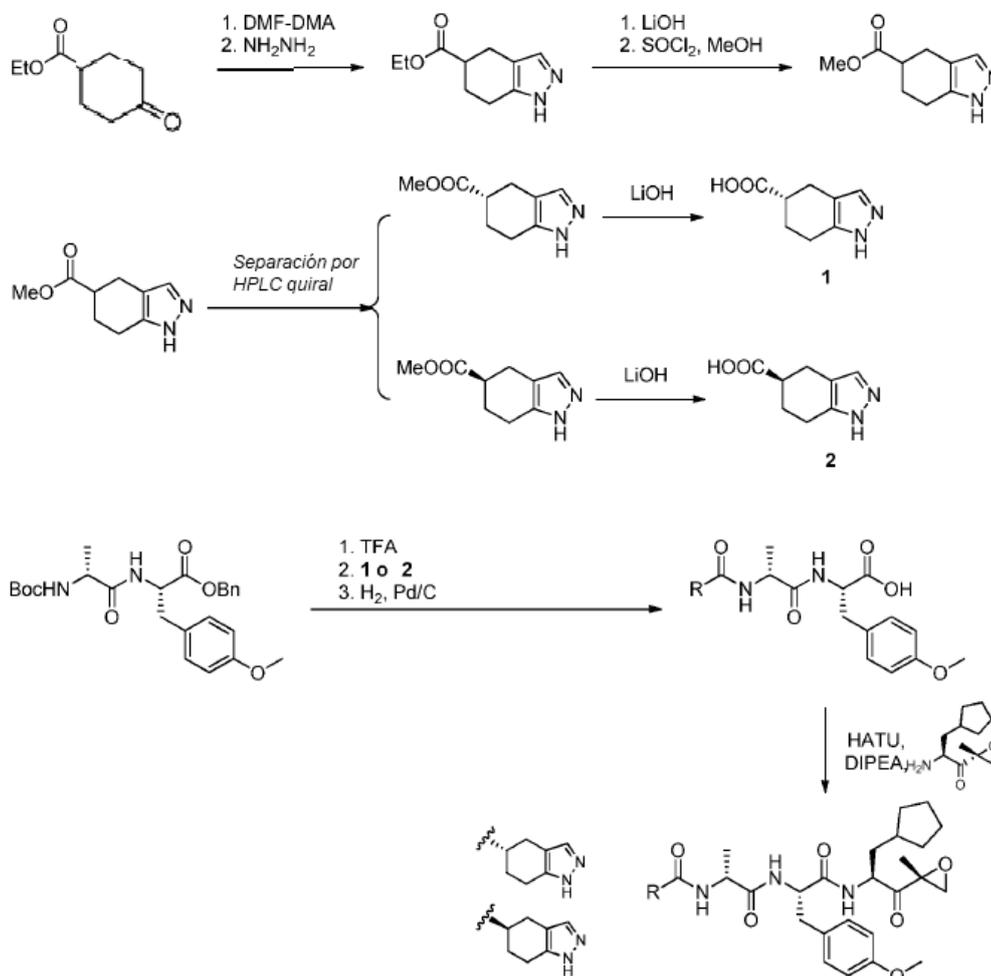
5 N-(2-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-2-oxoetil)-3-metil-1H-inden-2-carboxamida (**C-2039**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7,49 (m, 2H), 7,39 (m, 2H), 7,11 (d, J= 8,7 Hz, 2H), 6,80 (m, 1H), 6,72 (d, J= 8,7 Hz, 2H), 6,70 (m, 1H), 6,52 (m, 1H), 6,49 (m, 3H), 4,66 (m, 1H), 4,52 (m, 1H), 4,05 (d, J= 5,7 Hz, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,59 (m, 2H), 3,27 (d, J= 5,1 Hz, 1H), 3,10 (m, 1H), 3,06 (m, 1H), 2,88 (d, J= 4,8 Hz, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,06-1,83 (m, 2H), 1,71-1,70 (m, 3H), 1,68 (m, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,28 (m, 1H), 1,11 (m, 1H), 1,06 (m, 1H), 0,90 (m, 1H). LC-MS para C<sub>34</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 588,8 [M+H]<sup>+</sup>.

10 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(1H-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metil-1H-indeno-2-carboxamida (**C-2047**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10,81 (br s, 1H), 8,25 (d, J= 6,9 Hz, 1H), 8,11 (d, J= 8,4 Hz, 1H), 7,76 (d, J= 6,9 Hz, 1H), 7,58 (d, J= 8,1 Hz, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,29 (m, 3H), 7,11-6,94 (m, 3H), 4,39 (m, 1H), 4,37 (m, 2H), 3,65 (m, 2H), 3,15 (m, 3H), 3,01 (m, 2H), 2,96 (m, 2H), 2,51 (s, 3H), 1,98 (m, 1H), 1,70 (m, 5H), 1,42 (s, 3H), 1,40 (m, 6H), 1,24 (d, J= 6,9 Hz, 3H), 0,80 (m, 2H). LC-MS para C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, encontrado 611,3 [M+H]<sup>+</sup>.

15 N-((R)-1-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metil-1H-indeno-2-carboxamida (**C-2048**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,44 (d, J= 8,4 Hz, 1H), 8,04 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 7,74 (d, J= 6,9 Hz, 1H), 7,50 (d, J= 6,9 Hz, 2H), 7,36-7,23 (m, 7H), 7,10 (d, J= 8,1 Hz, 2H), 6,72 (d, J= 8,4 Hz, 2H), 4,61 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 3,71 (m, 2H), 3,61 (s, 3H), 3,23 (m, 1H), 3,01 (m, 2H), 2,80-2,52 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,10 (d, J= 6,9 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>36</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 610,3 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 7 (Tipo H)

Preparación de (R)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxamida (**C-2064**) y (S)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxamida (**C-2065**)



*4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxilato de etilo*

Una disolución de 4-oxociclohexanocarboxilato de etilo (50 g, 0,29 moles) en DMF-DMA (275 mL) se calentó a 110 °C durante 12 h. La mezcla se concentró para rendir el intermedio deseado, que se usó directamente sin purificación adicional.

- 5 Una mezcla del intermedio (66,1 g, 0,29 mol) e hidrato de hidrazina (73,5 g, 1,47 moles) en etanol (1.000 mL) se calentó bajo reflujo toda la noche. La mayor parte del etanol se eliminó y la mezcla remanente se trató con agua (400 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (400 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (400 mL) y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (DCM/MeOH = 30:1) para rendir 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxilato de etilo crudo (18 g) como un sólido blanco.

*4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxilato de metilo*

- 15 A una disolución de 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxilato de etilo (3,0 g, 15,5 mmoles) en metanol (10 mL) se añadieron agua (10 mL) e hidrato de hidróxido de litio (780 mg, 5,9 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche y después se concentró para eliminar la mayor parte del metanol. La mezcla remanente se acidificó con HCl acuoso diluido hasta pH=4 y después se concentró. El residuo se secó en vacío para rendir el ácido correspondiente (1,7 g, 66 % de rendimiento) como un sólido blanco, que se usó directamente sin purificación adicional. Una mezcla del ácido (1,7 g, 10 mmoles) y SOCl<sub>2</sub> (2,5 g, 21 mmoles) en metanol (20 mL) se calentó bajo reflujo durante 2 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y después se concentró. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (DCM/MeOH = 30:1) para rendir el compuesto 10 (1,0 g, 55 % de rendimiento) como un sólido amarillo claro, que se separó adicionalmente por HPLC preparativa quiral para rendir (S)- y (R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (0,2 g), (0,2g), respectivamente.

*Ácido (S)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxílico*

- 25 A una disolución de (S)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (500 mg, 2,8 mmoles) en metanol (20 mL) se añadieron agua (10 mL) e hidrato de hidróxido de litio (234 mg, 5,57 mmoles) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y después se concentró para eliminar la mayor parte del metanol. La mezcla remanente se acidificó con HCl acuoso diluido hasta pH=4 y después se concentró. El residuo se secó en vacío para rendir ácido (S)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxílico (380 mg, 81 % de rendimiento) como un sólido blanco, que se usó directamente sin purificación adicional.

*Ácido (R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxílico*

- 30 Preparado a partir de (R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxilato de metilo siguiendo el mismo procedimiento que para el ácido (S)-4,5,6,7-Tetrahidro-1H-indazol-5-carboxílico.

*Ácido (S)-3-(4-Metoxifenil)-2-((R)-2-((S)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxamido)propanamido)propanoico*

- 35 A una disolución de (S)-2-((R)-2-(terc-butoxicarbonil)amino)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de bencilo (1,0 g, 2,2 mmoles) en DCM (6 mL) se añadió TFA (6 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 15 min a temperatura ambiente y después se concentró a sequedad para rendir (S)-2-((R)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de bencilo como su sal de TFA.

- 40 A una disolución de ácido (S)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxílico (300 mg, 1,81 mmoles) en DMF (20 mL) a 0 °C se añadió HATU (826 mg, 2,17 mmoles). La mezcla se agitó durante 5 min seguido de la adición de (S)-2-((R)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de bencilo (sal de TFA, 819 mg, 1,81 mmoles) y DIPEA (1,26 mL, 7,24 mmoles). La mezcla de reacción se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. Se añadió bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 mL) y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron para rendir (S)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-((R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxamido)propanamido)propanoato de bencilo (970 mg, 94 % de rendimiento) como un sólido blanco. A una disolución de (S)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-((R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxamido)propanamido)propanoato de bencilo (300 mg, 0,6 moles) en metanol (10 mL) se añadió Pd/C (100 mg, 10 %). La mezcla se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (1 atm) a temperatura ambiente toda la noche y después se filtró a través de una almohadilla de celite. El filtrado se concentró a sequedad hasta ácido (S)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-((R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-il)acetamido)propanamido)propanoico (250 mg, cuantitativo) como un sólido blanco.

- 50 *(S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-((R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-il)acetamido)propanamido)propanamida*

- 55 Una mezcla de (S)-2-amino-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)propan-1-ona (sal de TFA, 180 mg, 0,61 mmoles), ácido (S)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-((R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-il)acetamido)propanamido)propanoico (250 mg, 0,61 mmoles) y HATU (278 mg, 0,73 mmoles) en DMF (10 mL) se enfrió hasta 0 °C y se añadió DIPEA (0,43 mL, 2,44 mmoles). La mezcla de reacción se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó

durante 15 min. Se añadió bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 mL) y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (DCM/MeOH = 50:1 a 20:1) para rendir (S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-(2-((R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-il)acetamido)propanamido)propanamida (103 mg, 28 % de rendimiento) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12,27 (br s, 1 H), 8,25 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 8,05 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,80 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,23 (m, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,22 (m, 2H), 3,01 (m, 2H), 2,77 (m, 2H), 2,09 (m, 2H), 1,90 (m, 3H), 1,69-1,67 (m, 6H), 1,50 (s, 3H), 1,28 (m, 1H), 1,04 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H), 0,96 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>32</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 594,31 [M+H]<sup>+</sup>.

(S)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxamida

Se preparó (S)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxamida a partir del ácido (R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-carboxílico siguiendo el mismo procedimiento que para (S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-(2-((R)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-indazol-5-il)acetamido)propanamido)propanamida.

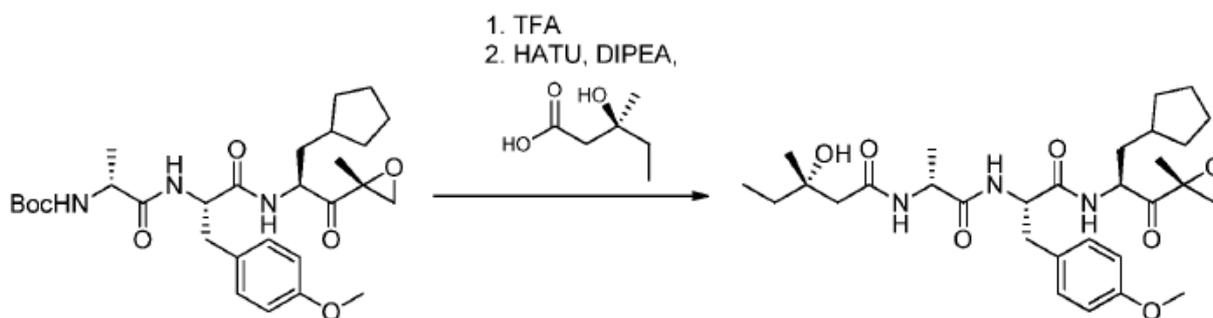
<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12,28 (br s, 1 H), 8,26 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,08 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 8,05 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 7,12 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,80 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,23 (m, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,22 (m, 1H), 3,01 (m, 2H), 2,65 (m, 2H), 2,09 (m, 2H), 1,90 (m, 3H), 1,69-1,67 (m, 6H), 1,50 (s, 3H), 1,28 (m, 1H), 1,04 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H), 0,97 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>32</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 594,31 [M+H]<sup>+</sup>.

Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera similar:

3-hidroxi-N-((R)-1-(((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-oxiran-2-il)-1-oxo-3-(*p*-tolil)propan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metilbutanamida (**C-2053**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,46 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 8,20 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,10-7,30 (m, 6H), 6,80 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,78 (s, 1H), 4,40-4,60 (m, 2H), 4,25 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,70 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 2,70-3,10 (m, 5H), 2,60 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,18 (m, 2H), 1,10 (s, 6H), 0,98 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>30</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 552,2 [M-H]<sup>-</sup>

### Ejemplo 8 (Tipo H2)

Preparación de (S)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilpentanamida (**C-2051**)



Se añadió TFA (4 mL) a una disolución de ((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de *tert*-butilo 0,1 M en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h y después se concentró a sequedad. El residuo se azeotropó tres veces con EtOAc (5 mL para cada parte) para eliminar el TFA residual. El producto crudo y ácido (S)-3-hidroxi-3-metilpentanoico (1,3 eq) se disolvió en DMF hasta 0,05 M en el material de partida y se añadieron HATU (1,8 eq) y DIPEA a 0 °C con agitación. La suspensión resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Se añadieron EtOAc (100 mL) y agua (100 mL). Las dos capas se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL x 3), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice para rendir (S)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilpentanamida. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,25 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 8,11 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 8,02 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,12 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,79 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,67 (s, 1H), 4,60 (m, 1H), 4,20-4,40 (m, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,22 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 2,90-3,10 (m, 2H), 2,65 (m, 1H), 2,15 (s, 2H), 1,50-2,00 (m, 8H), 1,42 (s, 3H), 1,10-1,30 (m, 4H), 1,10 (s, 3H), 0,96 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,80 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 558,4 [M-H]<sup>-</sup>

Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera similar:

5 (R)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilpentanamida (**C-2052**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,24 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,11 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 8,00 (d,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 7,12 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,79 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,67 (s, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,20-4,40 (m, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,22 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 2,90-3,10 (m, 2H), 2,65 (m, 1H), 2,15 (2d, 2H), 1,90 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 8H), 1,45 (s, 3H), 1,10-1,40 (m, 3H), 1,10 (s, 3H), 0,96 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H), 0,80 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_7$ , encontrado 558,2 [M-H] $^-$

10 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-1H-indazol-5-carboxamida (**C-2061**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  13,29 (s, 1H), 8,48 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,27 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,09 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,87 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 7,56 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 7,10 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,70 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,40-4,60 (m, 2H), 4,30 (m, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,22 (m, 1H), 2,90-3,10 (m, 2H), 2,70 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,40-1,80 (m, 6H), 1,41 (s, 3H), 1,16 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_6$ , encontrado 590,24 [M+H] $^+$ .

15 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxamida (**C-2062**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12,53 (br s, 1H), 8,30-8,40 (m, 3H), 8,10 (m, 1H), 7,94 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 7,60-7,90 (m, 3H), 7,06 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,68 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,30-4,60 (m, 3H), 3,64 (s, 3H), 3,22 (m, 1H), 2,90-3,10 (m, 2H), 2,75 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,40-1,80 (m, 6H), 1,41 (s, 3H), 1,16 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_6$ , encontrado 590,18 [M+H] $^+$ .

20 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-1H-indazol-6-carboxamida (**C-2063**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  13,39 (s, 1H), 8,61 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,27 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 8,10-8,20 (m, 3H), 7,82 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,62 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,10 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,70 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,40-4,60 (m, 2H), 4,30 (m, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,22 (m, 1H), 2,90-3,10 (m, 2H), 2,70 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,40-1,80 (m, 6H), 1,41 (s, 3H), 1,16 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_6$ , encontrado 590,24 [M+H] $^+$ .

25 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-2-metiltiazol-5-carboxamida (**C-2026**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,64 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,26 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 8,18 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 7,12 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,75 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 4,60 (m, 1H), 4,25-4,50 (m, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,22 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 3,02 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 2,70 (s, 3H), 2,65 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 7H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 2H), 1,26 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). MS (EI) para  $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ , encontrado 571,7 [M+H] $^+$ .

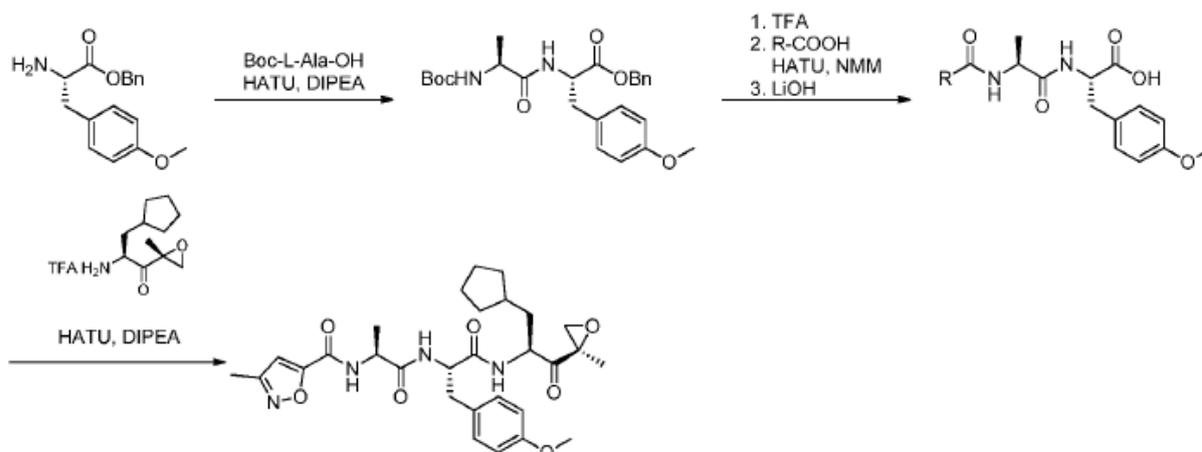
30 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il)-3-metilisoxazol-5-carboxamida (**C-2030**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,63 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,06 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,99 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 6,81 (s, 1H), 6,73 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,54 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 4,66 (m, 3H), 4,12 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,75 (m, 1H), 3,26 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,08 (m, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,90 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,47 (s, 3H), 1,50 (s, 3H), 1,27-1,71 (m, 11H). LC-MS para  $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_8$ , encontrado 571,4 [M+H] $^+$ .

40 N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-morfolino-1-oxopropan-2-il)-3-metilisoxazol-5-carboxamida (**C-2044**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,75 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 8,52 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 8,35 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 7,10 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,99 (s, 1H), 6,77 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,57 (m, 2H), 4,33 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,44 (m, 4H), 3,20 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,03 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,67 (m, 1H), 2,30-2,45 (m, 5H), 2,31 (m, 4H), 1,42 (s, 3H), 1,03-1,93 (m, 11H). LC-MS para  $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_8$ , encontrado 639,9 [M+H] $^+$ .

45 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-morfolino-1-oxopropan-2-il)-3-metilisoxazol-5-carboxamida (**C-2045**):  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,73 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 8,39 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 8,33 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 7,08 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,98 (s, 1H), 6,75 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 4,56 (m, 2H), 4,35 (m, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,43 (m, 4H), 3,16 (d,  $J = 5,7$  Hz, 1H), 3,02 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 2,91 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,36 (m, 4H), 2,31 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,07-1,93 (m, 11H). LC-MS para  $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_8$ , encontrado 640,7 [M+H] $^+$ .

### Ejemplo 9 (Tipo H3)

50 Preparación de N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metilisoxazol-5-carboxamida (**C-2022**)



*(S)-2-((R)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de bencilo*

5 Se añadieron HATU (19,3 g, 51mmoles) y DIPEA (29,6 mL, 170 mmoles) a una disolución de Boc-L-alanina (7,7 g, 40,7 mmoles) y sal de p-toluenosulfonato del éster bencilico de L-4-MeO-fenilalanina (15,0 g, 34 mmoles) en DMF (200 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 12 h. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 3:1) para rendir *(S)-2-((R)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de bencilo* (13,7 g, 88 % de rendimiento).

*Ácido (S)-3-(4-Metoxifenil)-2-((S)-2-(3-metilisoxazol-5-carboxamido)propanamido)propanoico*

10 Se añadió TFA (10 mL) a una disolución de *(S)-2-((R)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de bencilo* (1,02 g, 2,2 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h y después se concentró a sequedad. El residuo se azeotropó tres veces con EtOAc (5 mL para cada parte) para eliminar el TFA residual. El producto crudo y ácido 3-metilisoxazol-5-carboxílico (280 mg, 2,2 mmoles) se disolvieron en DMF (10 mL) y la disolución se enfrió hasta 0 °C. Se añadieron HATU (1,25 g, 3,3 mmoles) y NMM (0,72 mL, 6,0 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 2:1) para rendir el éster bencilico de 3a (0,81 g, 78 % de rendimiento en dos etapas). El éster bencilico (650 mg, 1,4 mmoles) se disolvió en MeOH (20 mL) y se añadió una disolución de LiOH (400 mg, 9,6 mmoles) en agua (10 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h y después se acidificó con HCl acuoso 2 N hasta pH=3. La eliminación de los volátiles proporcionó el compuesto 3a (0,61 g, 20 cuantitativo), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

*N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metilisoxazol-5-carboxamida*

25 Se añadieron HATU (604 mg, 1,6 mmoles) y DIPEA (0,89 mL, 6,0 mmoles) a una disolución del compuesto ácido *(S)-3-(4-Metoxifenil)-2-((S)-2-(3-metilisoxazol-5-carboxamido)propanamido)propanoico* (375 mg, 1,1 mmoles) y *(S)-2-amino-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)propan-1-ona* (sal de TFA, 314 mg, 1,1 mmoles) en DMF (30 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 1:2:0,01) para rendir *N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metilisoxazol-5-carboxamida* (150 mg, 25% de rendimiento).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,85 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 8,22 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,10 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,98 (s, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 4,30-4,60 (m, 3H), 3,68 (s, 3H), 3,17 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 3,02 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 2,96 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 1,90 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 7H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 2H), 1,26 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H). MS (EI) para C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 555,2 [M+H]<sup>+</sup>.

35 Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera similar:

*N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)picolinamida (C-2031)*: <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,60-8,70 (m, 1H), 8,30-8,40 (m, 2H), 7,95-8,10 (m, 2H), 7,65 (m, 1H), 7,13 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,77 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,50-4,60 (m, 2H), 4,30 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,20 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 2,95-3,05 (m, 2H), 2,65 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 7H), 1,40 (s, 3H), 1,26 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H). LC-MS para C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 551,4 [M+H]<sup>+</sup>.

*N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)nicotinamida (C-2032)*: <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9,02 (s, 1H), 8,70-8,80 (m, 2H),

- 8,10-8,30 (m, 3H), 7,53 (m, 1H), 7,13 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,77 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,30-4,60 (m, 2H), 4,30 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,20 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 2,95-3,05 (m, 2H), 2,65 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 7H), 1,40 (s, 3H), 1,26 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). LC-MS para  $C_{30}H_{38}N_4O_6$ , encontrado 551,7 [M+H]<sup>+</sup>.
- 5 (S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-(3-metoxipropanamido)propanamido)propanamida (**C-2018**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,12 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,83 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,72 (m, 2H), 6,55 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 4,60 (m, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,65 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,30 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,03 (m, 2H), 2,89 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,49 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 1,50 (s, 3H), 1,31 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H), 0,85-1,83 (m, 11H). MS (EI) para  $C_{28}H_{41}N_3O_7$ , encontrado 532,9 [M+H]<sup>+</sup>.
- 10 (S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-2-((S)-2-(2-etoxiacetamido)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanamida (**C-2020**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,12 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,83 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 6,78 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,77 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 6,36 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 4,47-4,61 (m, 3H), 3,92 (d,  $J = 15,3$  Hz, 1H), 3,80 (d,  $J = 15,3$  Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,56 (q,  $J = 6,9$  Hz, 2H), 3,27 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,99-3,04 (m, 2H), 2,90 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 1,53-1,90 (m, 9H), 1,52 (s, 3H), 1,39 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 1,26 (t,  $J = 6,9$  Hz, 3H), 1,10-1,20 (m, 2H). LC-MS para  $C_{28}H_{41}N_3O_7$ , encontrado 532,1 [M+H]<sup>+</sup>.
- 15 (S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-2-((R)-2-(2-etoxiacetamido)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanamida (**C-2021**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,13 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,04 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 6,82 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,68 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 6,47 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,39 (m, 1H), 3,94 (s, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,57 (m, 2H), 3,29 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 3,03 (m, 2H), 2,89 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,83 (s, 3H), 2,49 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,34 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H), 1,27 (t,  $J = 3,5$  Hz, 3H), 0,95-1,78 (m, 6H). MS (EI) para  $C_{28}H_{41}N_3O_7$ , encontrado 532,2 [M+H]<sup>+</sup>.
- 20 (S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-2-((R)-2-(3-metilisoxazol-5-il)acetamido)propanamido)propanamida (**C-2015**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,35 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 8,28 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 8,18 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 7,12 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,75 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 4,55 (m, 1H), 4,25-4,40 (m, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 3,22 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 3,02 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,15 (s, 3H), 1,95 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 7H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 2H), 1,26 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). MS (EI) para  $C_{30}H_{40}N_4O_7$ , encontrado 569,7 [M+H]<sup>+</sup>.
- 25 N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-2-metiliazol-5-carboxamida (**C-2025**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,65 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,20 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 7,90 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 7,12 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,75 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,25-4,50 (m, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,22 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 3,02 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 2,70 (s, 3H), 2,65 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 7H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 2H), 1,26 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). MS (EI) para  $C_{29}H_{38}N_4O_6S$ , encontrado 571,2 [M+H]<sup>+</sup>.
- 30 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metilisoxazol-5-carboxamida (**C-2023**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,82 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 8,32 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,16 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 7,10 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,96 (s, 1H), 6,75 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 4,30-4,60 (m, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,22 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 3,02 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 2,96 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 1,90 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 7H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 2H), 1,26 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). MS (EI) para  $C_{29}H_{38}N_4O_7$ , encontrado 555,2 [M+H]<sup>+</sup>.
- 35 N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida (**C-2027**): <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 7,10 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,91-7,00 (m, 1H), 6,81 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,38-6,52 (m, 2H), 4,60-4,67 (m, 1H), 4,47-4,53 (m, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,21 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,92-3,01 (m, 2H), 2,90 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,36 (d,  $J = 5,4$  Hz, 2H), 1,53-1,90 (m, 9H), 1,52 (s, 3H), 1,39 (d,  $J = 7,5$  Hz, 3H), 1,30 (s, 6H), 1,03-1,16 (m, 2H). LC-MS para  $C_{29}H_{43}N_3O_7$ , encontrado 546,4 [M+H]<sup>+</sup>.
- 40 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxi-3-metilbutanamida (**C-2028**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,11 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,88 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 6,83 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,69 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 6,48 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,47 (m, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,25 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,01 (m, 2H), 2,89 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,37 (m, 2H), 1,55 (s, 3H), 1,02-1,78 (m, 20H). LC-MS para  $C_{29}H_{43}N_3O_7$ , encontrado 546,4 [M+H]<sup>+</sup>.
- 45 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-carboxamida (**C-2029**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,27 (br s, 1H), 8,15 (br s, 1H), 7,67 (br s, 2H), 7,36-7,40 (m, 2H), 7,12 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,78 (br s, 1H), 6,70 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 5,12-5,22 (m, 1H), 4,82-4,88 (m, 1H), 4,48-4,56 (m, 1H), 3,56 (s, 3H), 3,18 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 3,07 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 2,82 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 1,54-1,67 (m, 4H), 1,54 (s, 3H), 1,51 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H), 1,26-1,51 (m, 4H), 0,95-1,06 (m, 3H). LC-MS para  $C_{32}H_{39}N_5O_6$ , encontrado 590,5 [M+H]<sup>+</sup>.
- 50 (S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-2-((S)-2-(3-metoxipropanamido)propanamido)propanamida (**C-2019**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,17 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 8,03 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,78 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 7,11 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,80 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,55 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,20 (m,
- 55

- 1H), 3,72 (s, 3H), 3,50 (m, 2H), 3,15-3,30 (m, 4H), 3,05 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,30 (m, 2H), 1,50-1,95 (m, 8H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 2H), 1,14 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). LC-MS para  $C_{28}H_{41}N_3O_7$ , encontrado 532,5 [M+H]<sup>+</sup>.
- 5 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-metil-1H-indeno-2-carboxamida (**C-2040**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,50 (m, 2H), 7,48 (m, 2H), 7,39 (m, 2H), 7,15 (m, 2H), 6,80 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,58 (m, 3H), 3,74 (s, 3H), 3,62 (m, 2H), 3,26 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,04 (m, 2H), 2,87 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 2,54 (s, 3H), 1,73-1,64 (m, 10H), 1,42 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H), 1,41-0,91 (m, 3H). LC-MS para  $C_{35}H_{43}N_3O_6$ , encontrado 602,5 [M+H]<sup>+</sup>.
- 10 (S)-N-((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-2-((S)-2-(2-(3-metilisoxazol-5-il)acetamido)propanamido)propanamida (**C-2014**): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,11 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,81 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,53 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 6,32 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 6,19 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H), 6,07 (s, 1H), 4,63 - 4,36 (m, 5H), 3,78 (s, 4H), 3,65 (s, 3H), 3,22 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 2,98 (qd,  $J = 14,1, 6,9$  Hz, 3H), 2,89 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 2,80 (s, 1H), 2,29 (s, 4H), 1,81-1,42 (m, 10H), 1,33 (d,  $J = 7,0$  Hz, 4H), 1,22 - 0,94 (m, 1H). MS (EI) para  $C_{30}H_{40}N_4O_7$ , encontrado 569,0 [M+H]<sup>+</sup>.
- 15 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)isonicotinamida (**C-2033**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,28-7,23 (m, 5H), 7,19-7,08 (m, 5H), 7,05 (q,  $J = 3,7$  Hz, 2H), 7,00 (dd,  $J = 7,4, 2,0$  Hz, 2H), 6,81 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 6,70 (br s, 1H), 6,55 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 4,74 (m, 1H), 4,65-4,62 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,27 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,11 (d,  $J = 4,5$  Hz, 1H), 3,07 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,98 (m, 2H), 2,68 (dd,  $J = 13,8, 8,1$  Hz, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,20 (m, 3H), 1,48 (s, 3H). LC-MS para  $C_{30}H_{38}N_4O_6$ , encontrado 551,6 [M+H]<sup>+</sup>.
- 20 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-1H-imidazol-2-carboxamida (**C-2034**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,00-8,28 (br s, 2H), 7,20 (s, 2H), 7,11 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,73 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,90-5,00 (m, 1H), 4,75-4,83 (m, 1H), 4,45-4,52 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,20 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 3,10 (d,  $J = 6,3$  Hz, 1H), 2,88 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 1,58-1,69 (m, 4H), 1,51 (s, 3H), 1,41 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H), 1,26-1,51 (m, 5H), 0,95-1,06 (m, 2H). LC-MS para  $C_{28}H_{37}N_5O_6$ , encontrado 540,6 [M+H]<sup>+</sup>.
- 25 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-1H-indeno-2-carboxamida (**C-2036**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,30 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 8,20 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 8,10 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,55 (d,  $J = 4,8$  Hz, 2H), 7,33 (d,  $J = 4,8$  Hz, 2H), 7,12 (m, 2H), 6,75 (m, 2H), 4,38 (m, 1H), 4,32 (m, 2H), 3,66 (s, 3H), 3,23 (m, 1H), 3,03 (m, 2H), 2,72 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 1,72 (m, 2H), 1,54 (m, 6H), 1,26 (s, 3H), 1,24 (m, 1H), 1,13 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H). LC-MS para  $C_{34}H_{41}N_3O_6$ , encontrado 588,8 [M+H]<sup>+</sup>.
- 30 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)ciclopent-1-enocarboxamida (**C-2037**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,12 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,83 (d,  $J = 8,4$  Hz, 3H), 6,76 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,57 (m, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,27 (m, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,30 (m, 2H), 2,87 (m, 1H), 2,54 (m, 4H), 2,06 (m, 2H), 1,61 (m, 4H), 1,54 (m, 3H), 1,51 (m, 6H), 1,37 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H), 1,32 (m, 2H), 1,28 (m, 1H). LC-MS para  $C_{30}H_{41}N_3O_6$ , encontrado 540,4 [M+H]<sup>+</sup>.
- 35 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-4-metilisoxazol-5-carboxamida (**C-2024**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9,02 (s, 1H), 8,65-8,80 (m, 2H), 8,10-8,30 (m, 3H), 7,55 (m, 1H), 7,12 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,75 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,30-4,60 (m, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,23 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 2,95-3,05 (m, 2H), 2,65 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 10H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 2H), 1,26 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). LC-MS para  $C_{29}H_{38}N_4O_7$ , encontrado 555,4 [M+H]<sup>+</sup>.
- 40 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-1-metil-1H-benzof[d]imidazol-2-carboxamida (**C-2038**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,12 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 7,80 (d,  $J = 6,9$  Hz, 2H), 7,38-7,47 (m, 3H), 7,11 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,70 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,68 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 6,44 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 4,50-4,70 (m, 3H), 4,20 (s, 3H), 3,66 (s, 3H), 3,27 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 2,98-3,15 (m, 2H), 2,88 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 1,50-2,00 (m, 8H), 1,51 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 1,49 (s, 3H), 1,06-1,16 (m, 3H). LC-MS para  $C_{33}H_{41}N_5O_6$ , encontrado 604,5 [M+H]<sup>+</sup>.
- 45 N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)isoxazol-5-carboxamida (**C-2041**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,90 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,30 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 8,19 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,12 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,75 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 4,50 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,23 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 3,02 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,65 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 7H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 2H), 1,26 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). LC-MS para  $C_{28}H_{36}N_4O_7$ , encontrado 541,4 [M+H]<sup>+</sup>.
- 50 (R)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxitbutanamida (**C-2042**): <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,26 (d,  $J = 6,3$  Hz, 1H), 8,06 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,97 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 7,12 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,80 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 4,66 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,22 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 3,02 (d,
- 55

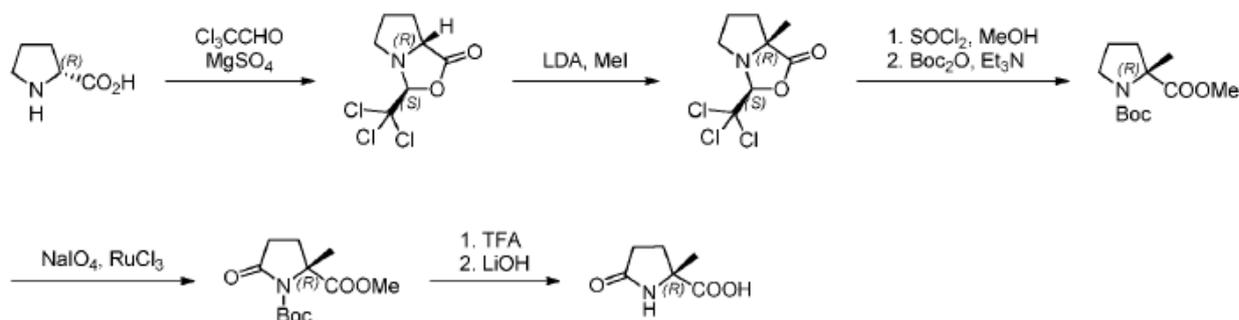
$J = 5,1$  Hz, 1H), 2,94 (m, 2H), 2,52 (m, 1H), 2,18-2,12 (m, 2H), 1,83 (m, 2H), 1,59-1,42 (m, 6H), 1,42 (s, 3H), 1,18 (m, 2H), 1,04 (d,  $J = 6,0$  Hz, 3H), 0,96 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H). LC-MS para  $C_{28}H_{41}N_3O_7$ , encontrado 532,4  $[M+H]^+$ .

5 (S)-N-((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)-3-hidroxiobutanamida (**C-2043**):  $^1H$  RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,23 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 8,05 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 7,95 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,11 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,80 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 4,61 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,23 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 3,00 (m, 2H), 2,52 (m, 1H), 2,18-2,12 (m, 2H), 1,83 (m, 2H), 1,59-1,42 (m, 6H), 1,39 (s, 3H), 1,18 (m, 2H), 1,04 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H), 0,96 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H). LC-MS para  $C_{28}H_{41}N_3O_7$ , encontrado 532,6  $[M+H]^+$ .

### Síntesis de intermedios seleccionados

#### 10 Ejemplo 10

Preparación de ácido (R)-2-metil-5-oxopirrolidina-2-carboxílico (Bloque de construcción para **C-3010**):



#### (7aR)-3-(Triclorometil)tetrahidropirrol[1,2-c]oxazol-1(3H)-ona

15 Se añadió  $MgSO_4$  anhidro (105 g, 0,88 moles) a una disolución de *D*-prolina (50 g, 0,43 moles) e hidrato cloral (108 g, 0,66 moles) en cloroformo (800 mL). La suspensión se calentó bajo reflujo durante 6 h y después se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se lavó con agua (300 mL x 3) y la fase acuosa se extrajo con cloroformo (200 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL x 1), se secaron sobre  $Na_2SO_4$  y se concentraron. El residuo se recrystalizó de EtOH para rendir el compuesto (7aR)-3-(triclorometil)tetrahidropirrol[1,2-c]oxazol-1(3H)-ona (42 g, 40% de rendimiento) como un sólido blanquecino.

#### 20 (7aR)-7a-Metil-3-(triclorometil)tetrahidropirrol[1,2-c]oxazol-1(3H)-ona

25 Se añadió gota a gota LDA (2M, 68 mL, 0,136 moles) a una disolución del compuesto (7aR)-3-(triclorometil)tetrahidropirrol[1,2-c]oxazol-1(3H)-ona (22,2 g, 91 mmoles) en THF (150 mL) a  $-78$  °C con agitación. La mezcla se agitó durante 1 h y se añadió gota a gota yodometano (38,7 g, 0,272 moles) a  $-78$  °C. La mezcla de reacción se agitó durante 0,5 h a  $-78$  °C y después se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó toda la noche. La reacción se paró con agua (200 mL) y la mezcla resultante se extrajo con  $CH_2Cl_2$  (200 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL x 1), se secaron sobre  $Na_2SO_4$  y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 4:1) para rendir el compuesto (7aR)-7a-metil-3-(triclorometil)tetrahidropirrol[1,2-c]oxazol-1(3H)-ona (17,8 g, 75 % de rendimiento).

#### Éster metílico de (R)-N-Boc-2-metilprolina

30 Se añadió gota a gota  $SOCl_2$  (10 mL, 138 mmoles) a una disolución del compuesto (7aR)-7a-metil-3-(triclorometil)tetrahidropirrol[1,2-c]oxazol-1(3H)-ona (17,8 g, 69 mmoles) en MeOH (200 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h y después se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 0,5 h. La mezcla se calentó adicionalmente bajo reflujo durante 5 h. Después de que la mezcla se enfriara hasta temperatura ambiente, se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en  $CH_2Cl_2$  (200 mL) y se añadieron  $Boc_2O$  (18,1 g, 83 mmoles) y trietilamina (48 mL, 345 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 5 h a temperatura ambiente y después se lavó con  $KHSO_4$  acuoso al 5 % (100 mL x 3),  $NaHCO_3$  acuoso saturado (100 mL x 3) y salmuera (100 mL x 1), respectivamente. La fase orgánica se secó sobre  $Na_2SO_4$  y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc=4:1) para rendir el compuesto éster metílico de (R)-N-Boc-2-metilprolina (12,1 g, 72 % de rendimiento).

#### 40 Éster metílico del ácido (R)-N-Boc-2-metilpiroglutámico

Una disolución de  $NaIO_4$  (8,2 g, 38 mmoles) en agua (40 mL) y  $RuCl_3$  (20 mg) se añadieron a una disolución del compuesto éster metílico de (R)-N-Boc-2-metilprolina (2,3 g, 9,6 mmoles) en EtOH (40 mL). La mezcla de reacción se agitó toda la noche a temperatura ambiente. Las dos capas se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL x 3), se secaron sobre  $Na_2SO_4$  y se

concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc =4:1) para rendir el compuesto éster metílico del ácido (*R*)-*N*-Boc-2-metilpiroglutámico (1,5 g, 61% de rendimiento) como un sólido amarillo claro.

#### Ácido (*R*)-2-metilpiroglutámico

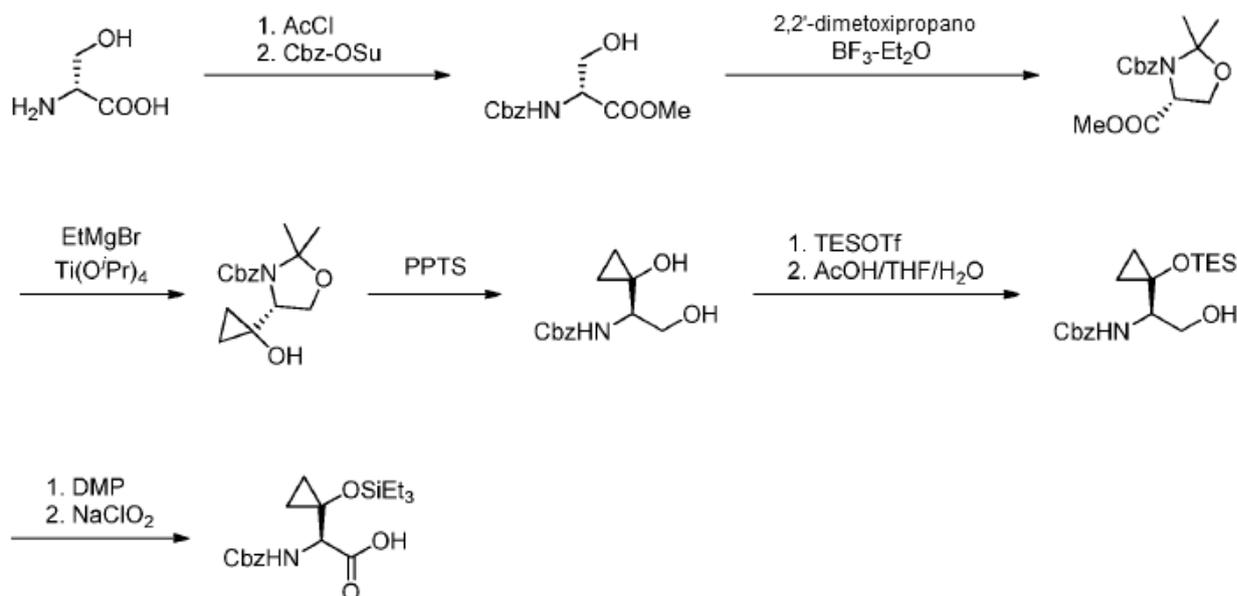
- 5 Se añadió TFA (10 mL) a una disolución del compuesto éster metílico del ácido (*R*)-*N*-Boc-2-metilpiroglutámico (2,0 g, 7,8 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla se agitó durante 1 h adicional y se concentró a sequedad. Y el residuo se azeotropó tres veces con EtOAc (5 mL x 3) para eliminar el TFA residual. El crudo se disolvió en MeOH (20 mL) y se añadió una disolución de LiOH (1,3 g, 31 mmoles) en agua (10 mL) a 0 °C con agitación. Después de agitar la mezcla de reacción durante 3 h, se acidificó con HCl acuoso 2 N hasta pH=3, La mezcla resultante se concentró para rendir ácido (*R*)-2-metilpiroglutámico crudo (~ 100% de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

#### Ácido (*S*)-2-metilpiroglutámico

Se preparó ácido (*S*)-2-Metilpiroglutámico a partir de *L*-prolina en siete etapas siguiendo los mismos procedimientos que para el ácido (*R*)-2-metilpiroglutámico.

### 15 Ejemplo 11

Preparación de ácido (*S*)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-2-(1-((trietilsilil)oxi)ciclopropil)acético (Bloque de construcción par **C-2046**)



#### (*R*)-2-(benciloxycarbonilamino)-3-hidroxiopropanoato de metilo (4)

- 20 Se añadió cloruro de acetilo (40 mL, 0,57 moles) a una suspensión de *D*-serina (50,0 g, 0,47 moles) en MeOH (300 mL) a 0 °C con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 12 h y después se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en MeOH (200 mL) seguido de la adición de trietilamina (50 mL). Se añadió Cbz-OSu (93,0 g, 0,4 moles) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 12 h. La mezcla se concentró a sequedad y el residuo se disolvió en cloruro de metileno (500 mL). La disolución resultante se lavó con salmuera (200 mL x 2), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró para proporcionar el compuesto crudo (*R*)-2-(benciloxycarbonilamino)-3-hidroxiopropanoato de metilo (68,0 g, 57 % de rendimiento) como un aceite, que se usó directamente sin purificación adicional.

#### (*R*)-4-metil 2,2-dimetiloxazolidina-3,4-dicarboxilato de 3-bencilo

- 30 Una mezcla del compuesto (*R*)-2-(benciloxycarbonilamino)-3-hidroxiopropanoato de metilo (43,0 g, 0,17 moles), 2,2-dimetoxipropano (200 mL, 1,7 moles) y dietil eterato de trifluoruro de boro (5 mL) se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y después se calentó bajo reflujo durante 4 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y después se concentró. El residuo se vertió en una mezcla de agua (200 mL) y EtOAc (200 mL). Las dos fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (200 mL x 2). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (500 mL x 3) y salmuera (200 mL x 1), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 3:1) para rendir el compuesto (*R*)-4-metil 2,2-dimetiloxazolidina-3,4-dicarboxilato de 3-bencilo (38,2 g, 77 % de rendimiento).

*(R)-4-(1-hidroxiciclopropil)-2,2-dimetiloxazolidina-3-carboxilato de bencilo*

Se añadió isopropóxido de titanio(IV) (1,45 g, 5,1 mmoles) a una disolución del compuesto (*R*)-4-metil 2,2-dimetiloxazolidina-3,4-dicarboxilato de 3-bencilo (5,0 g, 17,1 mmoles) en THF (100 mL) a 0 °C y después se añadió gota a gota EtMgBr (42,7 mmoles, una disolución en Et<sub>2</sub>O) durante 30 min. La disolución muy oscura se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La reacción se paró por la adición lenta de agua (20 mL) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (100 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (100 mL x 3) y salmuera (100 mL x 1), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 2:1) para rendir el compuesto (*R*)-4-(1-hidroxiciclopropil)-2,2-dimetiloxazolidina-3-carboxilato de bencilo (2,8 g, 56 % de rendimiento).

10 *(R)-2-hidroxi-1-(1-hidroxiciclopropil)etilcarbamato de bencilo*

Se añadió *p*-toluensulfonato de piridinio (10,0 g, 40 mmoles) a una disolución del compuesto (*R*)-4-(1-hidroxiciclopropil)-2,2-dimetiloxazolidina-3-carboxilato de bencilo (9,0 g, 3,1 mmoles) en MeOH (100 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h y después se concentró. El residuo se disolvió en agua (200 mL) y la disolución resultante se extrajo con EtOAc (100 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (100 mL x 3) y salmuera (100 mL x 1), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 1:1) para rendir el compuesto (*R*)-2-hidroxi-1-(1-hidroxiciclopropil)etilcarbamato de bencilo (3,8 g, 48 % de rendimiento).

*(R)-1-(1-(trietilsililo)ciclopropil)-2-hidroxi-1-(1-hidroxiciclopropil)etilcarbamato de bencilo*

Se añadió triflato de trietilsililo (3,2 mL, 12 mmoles) a una disolución del compuesto (*R*)-2-hidroxi-1-(1-hidroxiciclopropil)etilcarbamato de bencilo (1,2 g, 4,8 mmoles) en diclorometano (10 mL) que contenía TEA (10 mL) a -78 °C con agitación. La mezcla de reacción se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 12 h. La reacción se paró con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (50 mL) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (50 mL x 3) y salmuera (30 mL x 1), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 10:1) para rendir el compuesto protegido con di-TES (*R*)-2-hidroxi-1-(1-hidroxiciclopropil)etilcarbamato de bencilo (780 mg). Se añadió (*R*)-2-hidroxi-1-(1-hidroxiciclopropil)etilcarbamato de bencilo protegido con di-TES (5,0 g, 10,4 mmoles) a una mezcla de AcOH/THF/H<sub>2</sub>O (26 mL, 4:8:1) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y después se añadió NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (50 mL x 3) y salmuera (30 mL x 1), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron para rendir el compuesto (*R*)-1-(1-(trietilsililo)ciclopropil)-2-hidroxi-1-(1-hidroxiciclopropil)etilcarbamato de bencilo (4,8 g, 43 % de rendimiento), que se usó directamente sin purificación adicional.

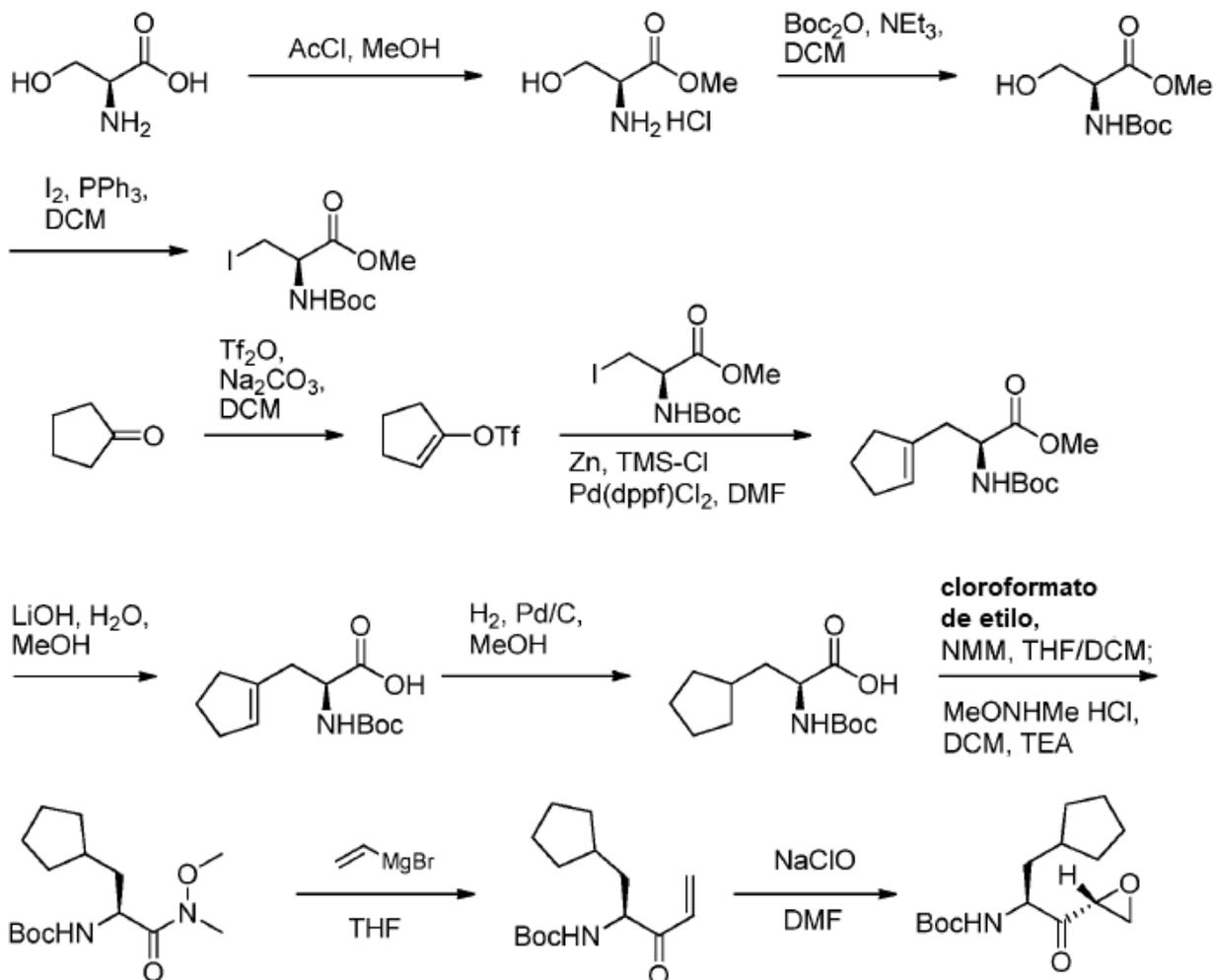
*Ácido (S)-2-(Benciloxicarbonilamino)-2-(1-(trietilsililo)ciclopropil)acético*

Se añadió peryodinano de Dess-Martin (3,2 g, 7,5 mmoles) a una disolución del compuesto (*R*)-1-(1-(trietilsililo)ciclopropil)-2-hidroxi-1-(1-hidroxiciclopropil)etilcarbamato de bencilo (2,1 g, 5,8 mmoles) en diclorometano (30 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y después se lavó con hidróxido de sodio acuoso (1N, 50 mL x 3), tiosulfato de sodio acuoso (1N, 50 mL x 3), NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (50 mL x 3) y salmuera (30 mL x 1), respectivamente. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró para proporcionar el aldehído correspondiente.

El aldehído crudo se disolvió en alcohol *tert*-butílico (20 mL) y THF (20 mL) y se añadió gota a gota una disolución de clorito de sodio (80 %, 2,5 g, 22 mmoles) y monohidrato de dihidrógenofosfato de sodio (7,9 g, 66 mmoles) en agua (20 mL) durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h y después se diluyó con ácido clorhídrico (0,1N, 100 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (50 mL x 1). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con KHSO<sub>4</sub> acuoso al 5 % (100 mL x 3) y salmuera (100 mL x 1), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc = 2:1) para rendir el compuesto ácido (*S*)-2-(benciloxicarbonilamino)-2-(1-(trietilsililo)ciclopropil)acético (1,3 g, 59 % de rendimiento).

**Ejemplo 12**

Preparación de ((*S*)-3-ciclopentil-1-((*R*)-oxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato de *tert*-butilo (Método 1 ; Intermedio para **C-2053** y **C-2055**)



Se enfrió metanol (450 mL) en un matraz de fondo redondo hasta 0 °C y se añadió gota a gota cloruro de acetilo (55 mL, 0,77 moles). Después de completar la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min y se añadió en tres partes H-Ser-OH (30 g, 0,29 moles). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 2 h y después se concentró. El residuo se secó en vacío para rendir hidrocloreto de (S)-2-amino-3-hidroxiopropanoato de metilo (cuantitativo) como un sólido incoloro, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El hidrocloreto de (S)-2-amino-3-hidroxiopropanoato de metilo crudo (0,29 moles) se suspendió en DCM (200 mL) y a esta mezcla mixture se añadió trietilamina (79 mL, 0,57 moles) y Boc<sub>2</sub>O (68 g, 0,31 moles) a 0 °C. El baño de enfriamiento se retiró y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche y después se diluyó con MTBE (300 mL). La mezcla se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice para rendir (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxiopropanoato de metilo (60 g, 94 % de rendimiento) como un aceite incoloro.

Una mezcla de trifetilfosfina (131 g, 0,500 moles) e imidazol (34 g, 0,50 moles) en DCM (600 mL) se enfrió hasta 0 °C y se añadió yodo en pequeñas partes (127 g, 0,50 moles) durante 0,5 h. El baño de enfriamiento se retiró y la mezcla se agitó durante 0,5 h. Después de volver a enfriar la mezcla hasta 0 °C, se añadió gota a gota una disolución de (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxiopropanoato de metilo (73 g, 0,33 moles) en DCM (300 mL). Después de la adición, el baño de enfriamiento se retiró y la mezcla se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 h. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró para eliminar la mayor parte del disolvente. Se añadió MTBE (400 mL) al residuo y la mezcla se filtró para eliminar el óxido de trifetilfosfina. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice para rendir (R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-yodopropanoato de metilo (74,0 g, 68 % de rendimiento) como un sólido incoloro.

A una disolución de ciclopentanona (55 g, 0,66 moles) en DCM (1,3 L) se añadió Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (104 g, 0,98 moles) y la mezcla se enfrió hasta -20 °C. Se añadió gota a gota anhídrido trifluorometanosulfónico (121 mL, 0,72 moles). Después de la adición, el baño de enfriamiento se retiró y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche. El análisis por GC-MS mostró que la reacción no se había completado y se añadió más anhídrido trifluorometanosulfónico (33 mL, 0,20 moles). La mezcla de reacción se agitó durante otras 4 h y después se paró

con agua (800 mL). Las dos fases resultantes se separaron y la fase acuosa se extrajo con DCM (300 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, y se concentraron para rendir trifluorometanosulfonato de ciclopent-1-en-1-ilo como un aceite viscoso (104 g, 73 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

5 A una suspensión de cinc (123 g, 1,90 moles) en DMF (500 mL) se añadió TMSCl (46 mL) gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 min. El líquido claro superior se eliminó por drenaje y el residuo se lavó con DMF (2 x 200 mL). El sólido resultante se resuspendió en DMF (200 mL) y la mezcla se enfrió hasta 0 °C. Se añadió una disolución de (*R*)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-yodopropanoato de metilo (104 g, 0,32 moles) en DMF (300 mL). La mezcla se agitó a 0 °C bajo nitrógeno durante 20 min. El líquido claro superior se eliminó por drenaje y se  
10 añadió gota a gota a una disolución de trifluorometanosulfonato de ciclopent-1-en-1-ilo (90 g, 0,37 moles) y Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (3,9 g, 4,7 mmoles) en DMF (500 mL). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 50 °C bajo nitrógeno toda la noche, después se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió salmuera (500 mL) y la mezcla resultante se extrajo con MTBE (3 x 300 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 100:1 a 40:1) para rendir (*S*)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-(ciclopent-1-en-1-il)propanoato de metilo como un  
15 aceite viscoso (62 g, 72 % de rendimiento).

A una disolución de (*S*)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-(ciclopent-1-en-1-il)propanoato de metilo (62 g, 0,23 moles) en agua/metanol (900 mL, 2:1) se añadió hidrato de hidróxido de litio (19,3 g, 0,46 moles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche y después se concentró para eliminar la mayor parte del metanol. El  
20 residuo se lavó con DCM (400 mL) y la fase acuosa se acidificó con HCl diluido hasta pH=3-4. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 300 mL). Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron para rendir ácido (*S*)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-(ciclopent-1-en-1-il)propanoico (56 g, 95 % de rendimiento) como un aceite viscoso, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

A una disolución de ácido (*S*)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-(ciclopent-1-en-1-il)propanoico (56 g, 0,22 moles) en metanol (500 mL) se añadió Pd/C (23 g, 0,022 moles, 10%). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (1 atm) a temperatura ambiente toda la noche y después se filtró a través de una almohadilla de celite. El filtrado se concentró bajo presión reducida para rendir ácido (*S*)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-ciclopentilpropanoico (55 g,  
25 97 % de rendimiento) como un aceite viscoso, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

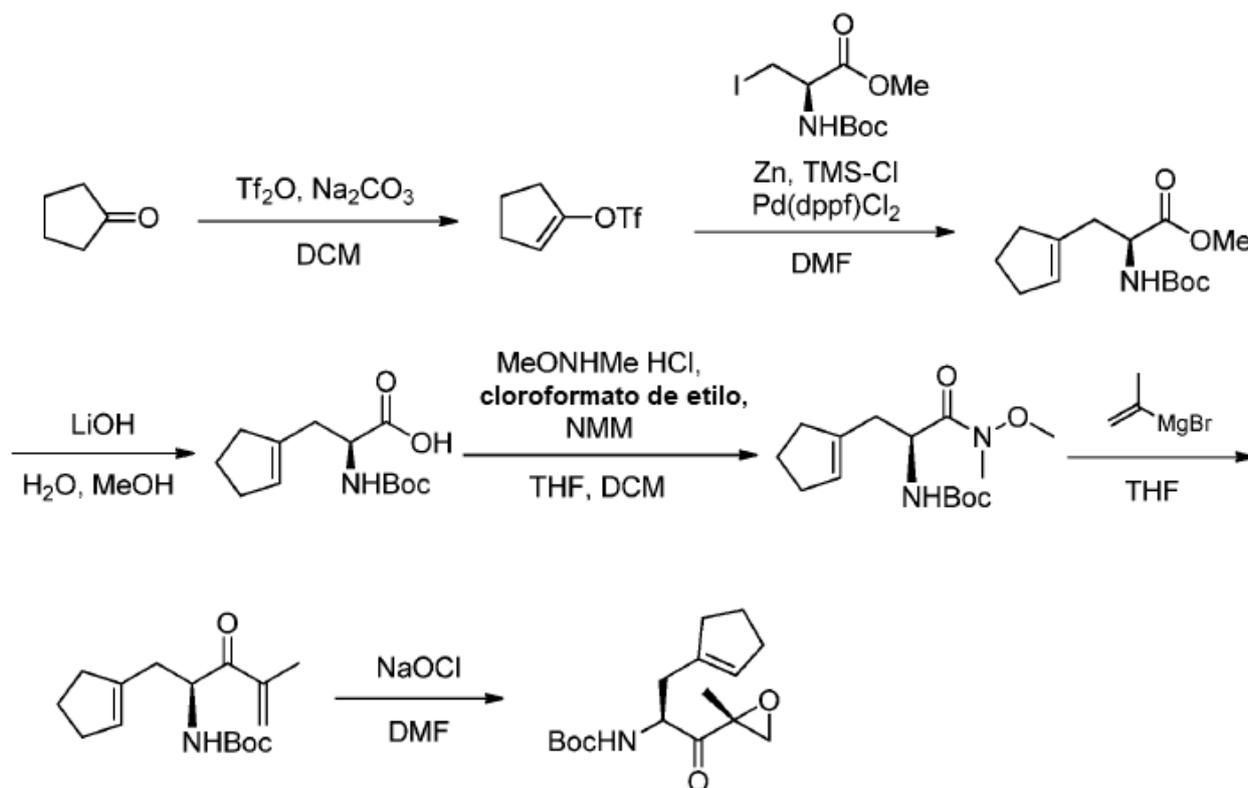
A un matraz cargado con el compuesto ácido (*S*)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-ciclopentilpropanoico (55 g, 214 mmoles) se añadió THF/DCM (800 mL, 1:1). La disolución se enfrió hasta 0 °C y se añadieron gota a gota secuencialmente clorofornato de etilo (24,5 mL, 257 mmoles) y NMM (28,4 mL, 257 mmoles). Después de la adición, la mezcla se agitó a 0 °C bajo nitrógeno durante 1 h. Al otro matraz cargado con *N,O*-dimetilhidroxilamina HCl (25 g, 257 mmoles) se añadió DCM (400 mL). La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se añadió TEA (38,7 mL, 278 mmoles). La mezcla resultante se transfirió al anterior matraz de reacción. La mezcla de reacción se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó toda la noche. La reacción se paró con agua (500 mL) y las dos  
30 fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (500 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentró para rendir (*S*)-(3-ciclopentil-1-(metoxi(metil)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo como un aceite incoloro (60 g, 93 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

A una disolución de (*S*)-(3-ciclopentil-1-(metoxi(metil)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (2,5 g, 8,3 mmoles) en THF (35 mL) se añadió gota a gota bromuro de vinilmagnesio (16,7 mL, 33,3 moles) a 0 °C. Después de completar la adición, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h y después se paró con cloruro de amonio acuoso saturado (30 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 40 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 100:1) para rendir (*S*)-(1-ciclopentil-3-oxopent-4-en-2-il)carbamato de *terc*-butilo como un aceite amarillo (854 mg, 38 % de rendimiento).  
40 45

Una disolución de (*S*)-(1-ciclopentil-3-oxopent-4-en-2-il)carbamato de *terc*-butilo (854 mg, 3,2 mmoles) en DMF (70 mL) se enfrió hasta -20 °C y se añadió gota a gota una disolución de lejía (9,5 mL, 12,8 mmoles, 10% especie activa) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó hasta 0 °C y se agitó durante 1,5 h. Se añadió agua (70 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 50 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (2 x  
50 50 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 80:1) para rendir ((*S*)-3-ciclopentil-1-((*R*)-oxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo como un aceite viscoso (390 mg, contaminado con algunas impurezas, 43 % de rendimiento) como un aceite amarillo.

### Ejemplo 13

55 Preparación de ((*S*)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((*R*)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (Intermedio para: C-3001, C-2060, C-2066, C-2067, C-2068, C-2069, y C-2070)



5 A una disolución de ciclopentanona (55 g, 0,66 moles) en DCM (1,3 L) se añadió  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (104 g, 0,980 moles) y la mezcla se enfrió hasta  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ . Se añadió gota a gota anhídrido trifluorometanosulfónico (121 mL, 0,720 moles). Después de la adición, el baño de enfriamiento se retiró y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche. El análisis por GC-MS mostro que la reacción no se había completado y se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico adicional (33 mL, 0,20 moles). La mezcla de reacción se agitó durante otras 4 h, después se paró con agua (800 mL). La fase acuosa se extrajo con DCM (300 mL). Los orgánicos se combinaron, se lavaron con salmuera, y se concentraron para rendir ciclopenteniltrifluorometanosulfonato como un aceite viscoso (104 g, 73 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 A una suspensión de cinc (123 g, 1,90 moles) en DMF (500 mL) se añadió gota a gota TMS-Cl (46 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 min. El líquido claro superior se eliminó y el residuo se lavó con DMF (200 mL x 2). El sólido resultante se resuspendió en DMF (200 mL) y la mezcla se enfrió hasta  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . Se añadió una disolución de (R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-yodopropanoato de metilo (104 g, 0,320 moles) en DMF (300 mL). La mezcla se agitó a  $0\text{ }^\circ\text{C}$  bajo nitrógeno durante 20 min. El líquido claro superior se eliminó y se añadió gota a gota a una disolución de trifluorometanosulfonato de ciclopent-1-en-1-ilo (90 g, 0,37 moles) y  $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$  (3,9 g, 4,7 mmoles) en DMF (500 mL). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a  $50\text{ }^\circ\text{C}$  bajo nitrógeno toda la noche después se engrió hasta temperatura ambiente. Se añadió salmuera (500 mL) y la mezcla resultante se extrajo con MTBE (300 mL x 3). Los orgánicos se combinaron, se lavaron con salmuera, y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/ $\text{EtOAc} = 100:1$  a  $40:1$ ) para rendir (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-ciclopentenilpropanoato de metilo como un aceite viscoso (62 g, 72 % de rendimiento).  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5,48 (br s, 1H), 4,97 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 4,40-4,43 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,46-2,63 (m, 2H), 2,23-2,34 (m, 4H), 1,82-1,93 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

25 A una disolución de (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-ciclopentenilpropanoato de metilo (62 g, 0,23 moles) en agua/metanol (900 mL, 2:1) se añadió hidrato de hidróxido de litio (19,3 g, 0,460 moles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche y después se concentró para eliminar la mayoría del metanol. El residuo se lavó con DCM (400 mL) y la fase acuosa se acidificó con HCl diluido hasta  $\text{pH}=3-4$ . La mezcla resultante se extrajo con DCM (300 mL x 3). Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron para rendir ácido (S)-2-((*tert*-Butoxicarbonil)amino)-3-ciclopentenilpropanoico (56 g, 95 % de rendimiento) como un aceite viscoso, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10,47 (br. s, 1H), 5,52 (br. s, 1H), 4,98 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 4,40-4,44 (m, 1H), 2,50-2,70 (m, 2H), 2,25-2,34 (m, 4H), 1,79-1,93 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

30 A un matraz cargado con ácido (S)-2-((*tert*-Butoxicarbonil)amino)-3-ciclopentenilpropanoico (55,0 g, 214 mmoles) se añadió THF/DCM (800 mL, 1:1). La disolución se enfrió hasta  $0\text{ }^\circ\text{C}$  y se añadieron gota a gota secuencialmente cloroformato de etilo (24,5 mL, 257 mmoles) y NMM (28,4 mL, 257 mmoles). Después de la adición, la mezcla se agitó a  $0\text{ }^\circ\text{C}$  bajo nitrógeno durante 1 h. Al otro matraz cargado con *N,O*-dimetilhidroxilamina HCl (25 g, 257 mmoles)

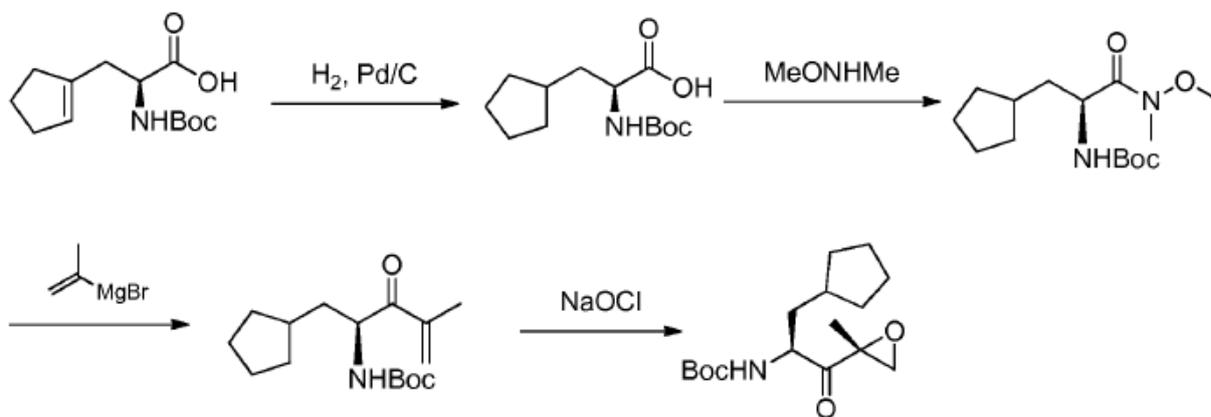
se añadió DCM (400 mL). La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se añadió TEA (38,7 mL, 278 mmoles). La mezcla resultante se transfirió al matraz anterior. La mezcla de reacción se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó toda la noche. La mezcla se paró con agua (500 mL) y la fase orgánica se lavó con agua (500 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentró para rendir (S)-(3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-(metoxi(metil)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo como un aceite incoloro (60 g, 93 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

A una disolución de (S)-(3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-(metoxi(metil)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo (81 g, 0,27 moles) en THF (600 mL) se añadió gota a gota bromuro de prop-1-en-2-ilmagnesio recién preparado (96,0 mL, 1,08 moles) a 0 °C. Después de completar la adición, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h, después se paró con cloruro de amonio acuoso saturado (500 mL). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (400 mL x 2). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 100:1) para rendir (S)-(1-(ciclopent-1-en-1-il)-4-metil-3-oxopent-4-en-2-il)carbamato de terc-butilo como un aceite incoloro (39,3 g, 52 % de rendimiento).

Una disolución de (S)-(1-(ciclopent-1-en-1-il)-4-metil-3-oxopent-4-en-2-il)carbamato de terc-butilo (10,0 g, 35,6 mmoles) en DMF (180 mL) se enfrió hasta -20 °C y se añadió lejía gota a gota (54,0 mL, 71,2 mmoles, 10%) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó hasta 0 °C y se agitó durante 1,5 h. Se añadió agua (200 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (200 mL x 2). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (200 mL x 2), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice para rendir ((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo como un aceite viscoso (5,6 g, 53 % de rendimiento). <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,62 (s, 1 H), 4,91 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 4,44-4,37 (m, 1H), 3,29 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,89 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,56-2,52 (m, 1H), 2,29-2,26 (m, 5H), 1,92-1,82 (m, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,41 (s, 9H).

#### Ejemplo 14

Preparación de ((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo (Método 2) (Intermedio para: C-3014, C-3018, C-3019, C-2014, C-2015, C-2018, C-2019, C-2020, C-2021, C-2022, C-2023, C-2025, C-2026, C-2027, C-2028, C-2029, C-2030, C-2031, C-2032, C-2033, C-2034, C-2036, C-2037, C-2038, C-2039, C-2040, C-2041, C-2042, C-2043, C-2044, C-2045, C-2047, C-2050, C-2051, C-2052, C-2054, C-2059, C-2061, C-2062, C-2063, C-2064, y C-2065)

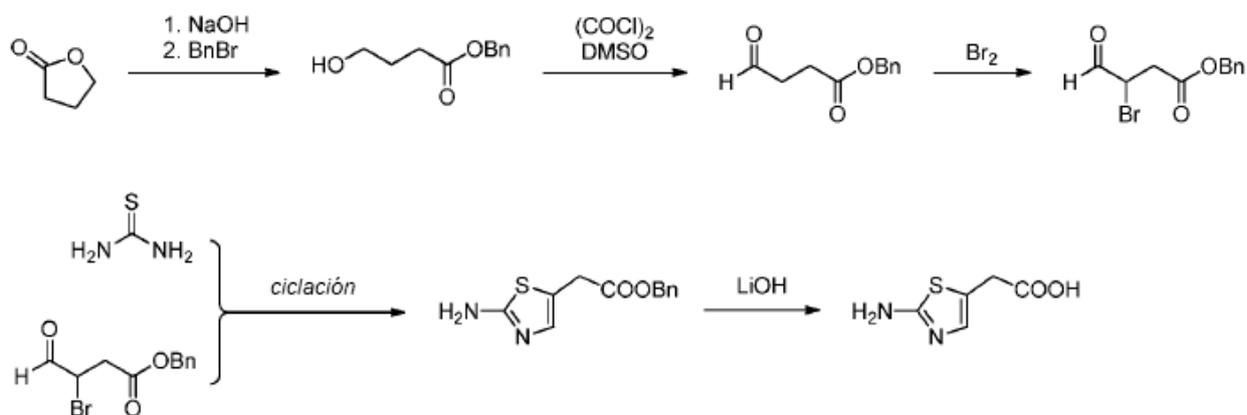


A una disolución de ácido (S)-2-(terc-Butoxicarbonilamino)-3-ciclopentenilpropanoico (56 g, 0,22 moles) en metanol (500 mL) se añadió Pd/C (23 g, 0,022 moles, 10%). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (1 atm) a temperatura ambiente toda la noche y después se filtró a través de una almohadilla de celite. El filtrado se concentró bajo presión reducida para rendir ácido (S)-2-(terc-Butoxicarbonilamino)-3-ciclopentenilpropanoico (55 g, 97% de rendimiento) como un aceite viscoso, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El resto de la síntesis de ((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo se llevó a cabo de una manera similar a la síntesis de ((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,90 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 3,30 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 2,90 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 1,57 (s, 3H), 1,51 (s, 9H), 1,95-1,20 (m, 11H).

#### Ejemplo 15

Preparación de ácido 2-(2-Aminotiazol-5-il)acético (Intermedio hacia C-2066)



#### 4-Hidroxibutanoato de bencilo

5 A una disolución de dihidrofuran-2(3H)-ona (20,0 g, 23,3 mmoles) en etanol (200 mL) se añadieron agua (100 ml) e hidróxido de sodio (9,3 g, 233 mmoles). La mezcla de reacción se calentó bajo reflujo toda la noche. La mezcla se concentró y el residuo se lavó con THF/EtOH (1:1, 100 mL) para rendir 4-hidroxi butanoato de sodio (26,1 g, 89 % de rendimiento) como un sólido blanco.

10 Una mezcla de 4-hidroxibutanoato de sodio (26,1 g, 20,7 mmoles) y bromuro de bencilo (42,5 g, 24,9 mmoles) en DMF (500 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se añadió agua (300 mL) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (300 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (300 mL) y salmuera (300 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 5:1 a 2:1) para rendir el compuesto 4-hidroxibutanoato de bencilo (8,0 g, 19 % de rendimiento) como un aceite.

#### 4-Oxobutanoato de bencilo

15 Un matraz secado con llama se cargó con DCM (26 mL) y después se enfrió hasta  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  con un baño de nieve carbónica/acetona. Se añadió cloruro de oxalilo (2,62 g, 20,6 mmoles) seguido de DMSO (2,41 g, 30,9 mmoles). La mezcla se mantuvo a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  durante 15 min y se añadió una disolución del compuesto 16 (2,0 g, 10,3 mmoles) en DCM (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  durante 1 h y se añadió trietilamina (7 mL, 51 mmoles). La mezcla se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente durante 30 min y después se vertió en HCl 1N caoso enfriado en hielo (100 mL). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (100 mL) y salmuera (100 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 5:1) para rendir el compuesto 4-oxobutanoato de bencilo (1,78 g, 89 % de rendimiento) como un aceite amarillo.

#### 3-Bromo-4-oxobutanoato de bencilo

25 Se añadió bromo gota a gota (1,46 g, 9,13 mmoles) a una disolución del compuesto 17 (1,75 g, 9,13 mmoles) en éter dietílico (8 mL) y dioxano (0,1 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y después se vertió en diclorometano (10 mL). Se añadieron carbonato de calcio (2,28 g, 22,8 mmoles) y bicarbonato de sodio (0,76 g, 10 mmoles) y la mezcla se agitó durante 12 h a temperatura ambiente. Los sólidos inorgánicos se eliminaron por filtración y el filtrado se concentró bajo presión reducida para rendir el compuesto 3-bromo-4-oxobutanoato de bencilo (2,44 g, que contenía un 30% de 17 por análisis de RMN de protón) como un aceite rojo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

#### 2-(2-Aminotiazol-5-il)acetato de bencilo

35 Una suspensión del compuesto 18 (crudo, 2,4 g, 8,86 mmoles) y tiourea (0,64 g, 8,42 mmoles) en metanol (10 mL) se calentó bajo reflujo durante 4 h. El disolvente se evaporó y el residuo se diluyó con acetato de etilo (30 mL). El sólido se recogió por filtración y se trató con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso al 10 % (30 mL). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (50 mL) y salmuera (50 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentraron. El residuo se suspendió en éter de petróleo/EtOAc (2:1, 30 mL) y el sólido amarillo se recogió por filtración para rendir el compuesto 2-(2-aminotiazol-5-il)acetato de bencilo (0,93 g, 42 % de rendimiento).

#### Ácido 2-(2-aminotiazol-5-il)acético

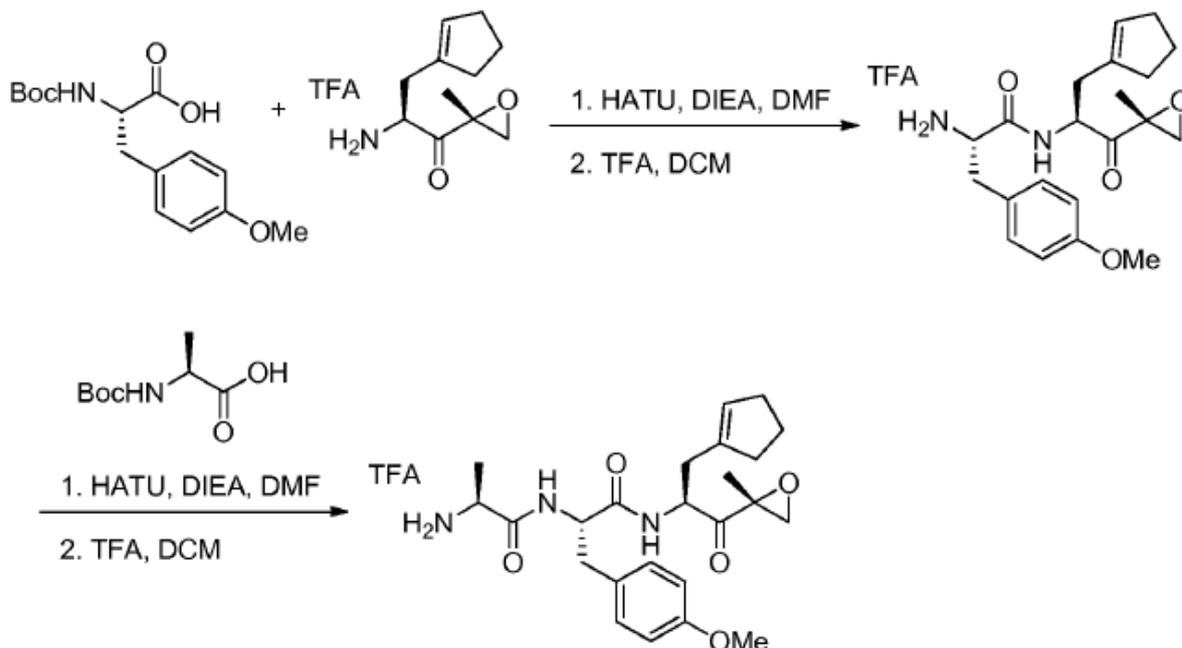
40 A una mezcla del compuesto 19 (930 mg, 3,75 mmoles) en metanol (12 mL) se añadieron agua (6 mL) e hidróxido de litio (236 mg, 5,6 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h y después se

diluyó con agua (50 mL). La mezcla resultante se lavó con acetato de etilo (25 mL). La fase acuosa se ajustó hasta pH=4 con HCl 2N acuoso (20 mL) y el precipitado se recogió por filtración y se secó para rendir el compuesto ácido 2-(2-aminotiazol-5-il)acético (330 mg, 55 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

El ácido 2-(2-aminooxazol-5-il)acético se sintetizó de una forma similar utilizando urea en lugar de tiourea.

## 5 Ejemplo 16

Preparación de (S)-2-((S)-2-aminopropanamido)-N-((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)propanamida (intermedio para: **C-2066**, **C-2067**, **C-2068**, **C-2069**, y **C-2070**)



10 Al ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-(4-metoxifenil)propanoico (2,00 g, 6,78 mmoles) y (S)-2-amino-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)propan-1-ona (1,98 g, 6,78 mmoles) en DMF (10 mL) a 0 °C se añadió HATU (3,00 g, 8,36 mmoles) seguido de DIEA (5,90 mL, 33,9 mmoles) y la mezcla se agitó durante 15 min, después se paró con NaHCO<sub>3</sub> (sat., ac.), se extrajo con EtOAc (2x), se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró. La purificación por cromatografía en columna (1:1 hexanos/EtOAc) proporcionó ((S)-1-(((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo (2,62 g, 82 %) como un aceite incoloro. MS(EI) para C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, encontrado 473,3 (MH)<sup>+</sup>.

20 A ((S)-1-(((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo (0,99 g, 2,1 mmoles) se añadió DCM (5 mL) y TFA (5 mL). La mezcla se dejó que permaneciera a temperatura ambiente durante 30 min, después se concentró para proporcionar (S)-2-amino-N-((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)propanamida cruda (cuant.) y se utilizó sin purificación adicional. MS(EI) para C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, encontrado 373,2 (MH)<sup>+</sup>.

25 A (S)-2-amino-N-((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)propanamida (sal de TFA, 2,00 g, 4,26 mmoles) y ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)propanoico (805 mg, 4,26 mmoles) en DMF (10 mL) a 0 °C se añadió HATU (1,94 g, 5,11 mmoles) seguido de DIEA (4,37 mL, 25,6 mmoles) y la mezcla se agitó durante 15 min, después se paró con NaHCO<sub>3</sub> (sat., ac.), se extrajo con EtOAc (2x), se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró. La purificación por cromatografía en columna (1:1 hexanos/EtOAc) proporcionó ((S)-1-(((S)-1-(((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo (1,94 g, 84 %) como un aceite incoloro. MS(EI) para C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, encontrado 544,3 (MH)<sup>+</sup>.

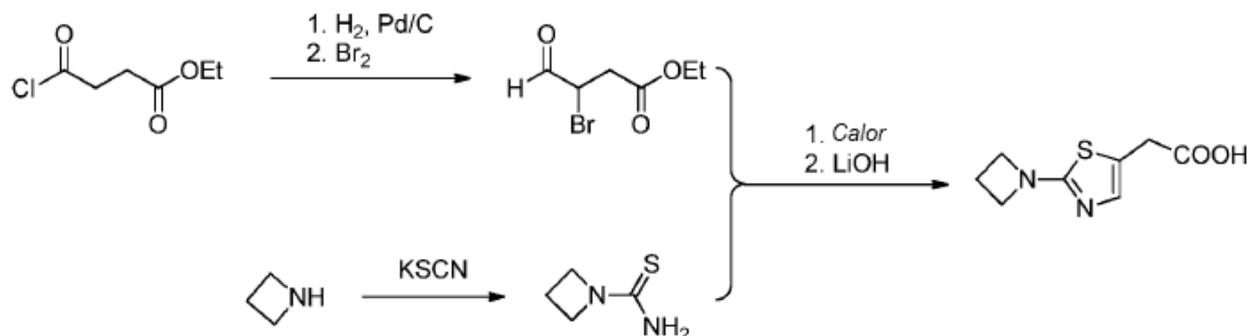
30 A ((S)-1-(((S)-1-(((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo (1,94 g, 2,18 mmoles) se añadió DCM (10 mL) y TFA (10 mL). La mezcla se dejó permanecer a temperatura ambiente durante 30 min, después se concentró para proporcionar (S)-2-((S)-2-aminopropanamido)-N-((S)-3-(ciclopent-1-en-1-il)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)propanamida (cuant.) que se utilizó sin purificación adicional. MS(EI) para C<sub>24</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, encontrado 444,2 (MH)<sup>+</sup>.

35 Se sintetizaron de una manera similar (S)-2-amino-3-hidroxi-N-((S)-3-(4-metoxifenil)-1-(((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-

1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)propanamida (intermedio para **C-2007**), (S)-2-((S)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida (intermedio para **C-2012**, **C-2013**, **C-2049**) y (S)-2-((R)-2-aminopropanamido)-3-(4-metoxifenil)-N-((S)-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)propanamida.

## 5 Ejemplo 17

Preparación de ácido 2-(2-(azetidín-1-il)tiazol-5-il)acético (intermedio para **C-2068**)



### 3-Bromo-4-oxobutanoato de etilo

Se añadió Pd/C (10%, 4 g) a una disolución de cloruro de 3-carbometoxipropionilo (18,0 g, 0,11 moles) y 2,6-dimetilpiridina (12,5 g, 0,11 moles) en THF (250 ml). La suspensión se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 10 h. El Pd/C se eliminó por filtración y se lavó con THF (50 mL). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron a sequedad. El residuo se disolvió en Et<sub>2</sub>O (200 mL) y la disolución resultante se lavó con HCl acuoso (1N, 100 mL x 3), NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (100 mL x 3) y salmuera (100 mL x 1), respectivamente. La disolución orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a sequedad.

El residuo se disolvió en Et<sub>2</sub>O (50 mL) y 1,4-dioxane (50 ml) y se añadió bromo (18,0 g, 0,11 mmoles) durante 0,5 h. Después de completar la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150 ml) y se añadió hidrógeno carbonato de sodio (20,0 g, 0,24 moles). La mezcla resultante se agitó toda la noche. Los sólidos se eliminaron por filtración y el filtrado se concentró para rendir el compuesto crudo 3-bromo-4-oxobutanoato de etilo (23 g, ~ 100 % de rendimiento).

### Azetidina-1-carbotioamida

Una disolución de HCl en dioxano (4N, 5,3 ml, 21 mmoles) se añadió a una disolución de hidrocloreuro de azetidina (1,9 g, 21 mmoles) en THF (10 mL) seguido de la adición de tiocianato de potasio (2,0 g, 21 mmoles). La mezcla de reacción se calentó bajo reflujo durante 4 h y después se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a sequedad para rendir azetidina-1-carbotioamida cruda (2,0 g, ~ 100% de rendimiento), que se usó directamente sin purificación adicional.

### Ácido 2-(2-(azetidín-1-il)tiazol-5-il)acético

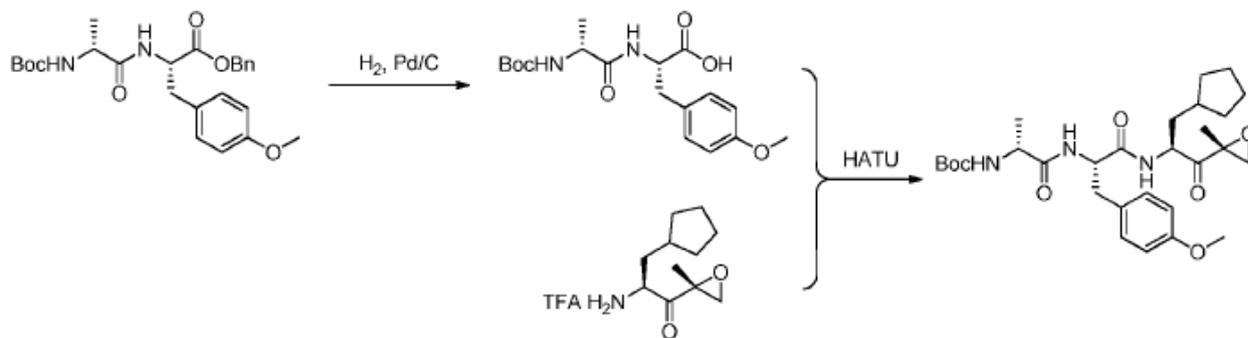
Una disolución de los compuestos 5 (2,0 g, crudo) y 6 (2,0 g, crudo) en EtOH (20 mL) se calentó bajo reflujo durante 4 h y después se enfrió hasta temperatura ambiente. El disolvente se eliminó y el residuo se disolvió en EtOAc (100 mL) seguido de la adición de amoníaco acuoso (10 %, 100 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (50 mL x 1), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc = 5:1) para rendir éster etílico del ácido 2-(2-(azetidín-1-il)tiazol-5-il)acético (300 mg, ~6% de rendimiento).

El compuesto éster etílico del ácido 2-(2-(azetidín-1-il)tiazol-5-il)acético (300 mg, 1,2 mmoles) se trató con una disolución de hidróxido de litio-H<sub>2</sub>O (360 mg, 8,6 mmoles) en agua/THF (10 mL/4 mL) durante 1 h. El THF se eliminó y la fase acuosa se acidificó hasta pH=3-4 con HCl 1N. La mezcla se concentró a sequedad para rendir ácido 2-(2-(azetidín-1-il)tiazol-5-il)acético crudo (~100% de rendimiento), que se usó directamente sin purificación adicional.

Se sintetizaron de una forma similar ácido 2-(2-(pirrolidin-1-il)tiazol-5-il)acético (intermedio para **C-2069**), y ácido 2-(2-(dimetilamino)tiazol-5-il)acético (intermedio para **C-2067**).

## Ejemplo 18

Preparación de ((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbomato de terc-butilo (intermedio para: **C-2051**, **C-2052**, **C-2061**, **C-2062**, **C-2063**, **C-2026**, **C-2030**, **C-2044**, y **C-2045**)



*Ácido (S)-2-((R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoico*

Se añadió Pd/C (10 %, 10 g) a una disolución de (S)-2-((R)-2-(terc-butoxicarbonil)amino)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoato de bencilo (4,6 g, 10 mmoles) en MeOH (200 mL). La suspensión se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 12 h. El Pd/C se eliminó por filtración y se lavó con MeOH (50 mL). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron a sequedad para rendir ácido (S)-2-((R)-2-(terc-Butoxicarbonilamino)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoico (4,1 g, ~100% de rendimiento) como un sólido blanco.

10 *((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo*

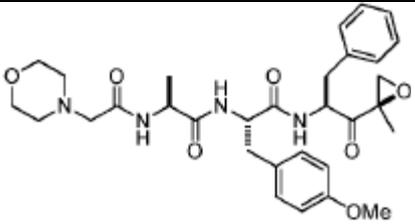
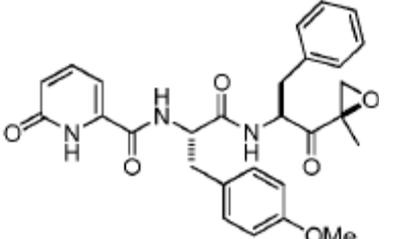
Se añadieron HATU (3,0 g, 8 mmoles) y DIPEA (4,45 mL, 30 mmoles) a una disolución de ácido (S)-2-((R)-2-(terc-Butoxicarbonilamino)propanamido)-3-(4-metoxifenil)propanoico (2,1 g, 5,5 mmoles) y (S)-2-amino-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)propan-1-ona cruda (sal de TFA, 1,5 g, 5,5 mmoles) en DMF (50 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía flash en columna de gel de sílice (EtOAc/hexano = 1:5) para rendir el compuesto ((R)-1-(((S)-1-(((S)-3-ciclopentil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de terc-butilo (2,3 g, 88 % de rendimiento).

20  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,20 (m, 1H), 7,93 (m, 1H), 7,09 (m, 2H), 6,80 (m, 2H), 4,49 (m, 1H), 4,33 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,20 (m, 1H), 2,90-3,10 (m, 2H), 1,70 (m, 1H), 1,50-2,00 (m, 8H), 1,40 (s, 3H), 1,00-1,20 (m, 4H), 0,95 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H). LC-MS para  $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_7$ , encontrado 544,24 [M-H].

## Ensayos

### Ejemplo 19 - Ensayos de subunidades de proteasoma

Se utilizó una técnica basada en ELISA, el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima de las subunidades constitutivas de proteasoma/inmunoproteasoma (ProCISE), para la evaluación cuantitativa de la actividad específica de subunidad como se ha descrito previamente en Parlati, et al. *Blood* (2009) 114:3439-3447. Este ensayo se usó para evaluar la actividad inhibidora frente a cada uno de LMP2, LMP7, MECL1,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ , y  $\beta 5$ . Brevemente, los compuestos de ensayo se diluyeron de forma seriada en DMSO a una concentración 100X, después se diluyeron hasta 10X en tampón de lisis hipotónico acuoso. El lisado de la línea celular de leucemia linfoblástica aguda humana, MOLT-4, se trató durante 1 hora a 25 °C con compuesto a una concentración final 1X. El lisado celular tratado se incubó entonces con una sonda de unión al sitio activo del proteasoma biotinilada durante 2 horas a 25 °C. Después de esto, el lisado se desnaturalizó en hidrócloruro de guanidina, y las subunidades unidas a la sonda se aislaron con lechos de sefarosa conjugados con estreptavidina. Las subunidades individuales se ensayaron con anticuerpos primarios específicos de subunidad, seguido de anticuerpos secundarios conjugados con HRP. Se usó un sustrato quimioluminiscente para generar una señal asociada con la unión de HRP, que se detectó en un lector de placas. La señal luminiscente se normalizó respecto al contenido de proteínas, después, el porcentaje de actividad se calculó respecto a los controles tratados con DMSO para generar curvas de  $\text{CI}_{50}$ .

Compuesto	LMP2	LMP7	MECL1	$\beta$ 1	$\beta$ 2	$\beta$ 5
 (ONX-0914)	255	41	1.316	4.293	1.070	435
	109	5.155	>250K	99.212	>250K	20.582

Los resultados para compuestos seleccionados proporcionados en la presente memoria se muestran en la siguiente tabla:

Comp.	ProCISE beta5 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: $Cl_{50}$ (nM)	ProCISE LMP2 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: $Cl_{50}$ (nM)	ProCISE LMP7 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: $Cl_{50}$ (nM)	Solubilidad pH 7 ( $\mu$ g/mL)
C-2003	NT	NT	NT	0,7
C-2004	NT	NT	NT	1,9
C-2005	NT	NT	NT	735,3
C-2006	179,84	NT	34,43	NT
C-2007	477,98	NT	211,44	728,5
C-2008	NT	NT	NT	2.331,1
C-2009	NT	NT	NT	162,8
C-2010	NT	NT	NT	300,5
C-2011	341,5	NT	97,08	NT
C-2012	NT	NT	NT	3.828,4
C-2013	358,72	NT	66,67	725,2
C-2014	372,34	NT	56,39	NT
C-2015	30.354,92	NT	3.063,63	169,2
C-2016	279,16	NT	69,72	NT

ES 2 687 368 T3

Comp.	ProCISE beta5 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI <sub>50</sub> (nM)	ProCISE LMP2 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI <sub>50</sub> (nM)	ProCISE LMP7 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI <sub>50</sub> (nM)	Solubilidad pH 7 (µg/mL)
C-2017	129,43	NT	37,17	NT
C-2018	34.929,21	NT	1.181,56	129,3
C-2019	NT	NT	NT	315,6
C-2020	NT	NT	NT	59,1
C-2021	30.811,37	NT	1.891,13	102,8
C-2022	429,15	NT	194,61	84,7
C-2023	2.690,25	NT	318,19	100,5
C-2024	NT	NT	NT	44,1
C-2025	NT	NT	NT	144,2
C-2026	3.453,13	NT	169,63	126,1
C-2027	3.601,4	NT	617,59	753,1
C-2028	1.163,98	NT	75,69	775,7
C-2029	NT	NT	NT	1,7
C-2030	2.127,26	NT	314,74	286,4
C-2031	26.730,69	NT	1.448,56	41,7
C-2032	4.045,94	NT	451,59	172,1
C-2033	>250.000	NT	46.736,39	164,8
C-2034	>250.000	471,02	19.689,04	55,5
C-2035	21,06	NT	13,21	3,1
C-2036	4.863,52	NT	130,28	2,1
C-2037	9.632,93	NT	465,76	3,6
C-2038	2.698,61	NT	286,46	1,8
C-2039	NT	NT	NT	1,7
C-2040	3.753,57	NT	74,96	0,3
C-2041	NT	NT	NT	65,9
C-2042	5.924,3	NT	620,95	1.834,5
C-2043	11.007,5	NT	593,46	2.382,9
C-2044	NT	NT	NT	130,5

ES 2 687 368 T3

<b>Comp.</b>	<b>ProCISE beta5 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI<sub>50</sub> (nM)</b>	<b>ProCISE LMP2 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI<sub>50</sub> (nM)</b>	<b>ProCISE LMP7 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI<sub>50</sub> (nM)</b>	<b>Solubilidad pH 7 (µg/mL)</b>
C-2045	2.943,85	NT	219,79	159,9
C-2046	NT	NT	NT	10,7
C-2047	1.095,99	NT	68,74	0,3
C-2048	379,14	NT	48,64	1,4
C-2049	57,65	NT	45,78	0,8
C-2050	594,69	NT	67,05	6.157,8
C-2051	882,95	NT	54,28	240,7
C-2052	560,31	NT	38,5	160,2
C-2053	5,27	NT	1,82	1.259,3
C-2054	670,04	NT	74,98	122,1
C-2055	354,41	NT	17,61	1.972,5
C-2056	290,58	NT	52,24	3.725,8
C-2057	2.364,53	NT	57,36	0,8
C-2058	4.291,71	NT	539,02	45,4
C-2059	534,17	NT	70,97	2.447,5
C-2060	367,69	NT	60,43	3.014,8
C-2061	NT	NT	NT	26,3
C-2062	NT	NT	NT	56
C-2063	NT	NT	NT	21,4
C-2064	6.114,85	1.245,72	138,68	143,9
C-2065	6.627,63	910,47	156,83	120,9
C-2066	NT	NT	NT	43,6
C-2067	NT	NT	NT	61,6
C-2068	NT	NT	NT	54,6
C-2069	NT	NT	NT	26,6
C-2070	NT	NT	NT	1.019,1
C-3001	5.590,24	525,56	4.766,89	NT
C-3002	1.930	NT	934,35	1.463,1
C-3003	1.219,79	NT	512,78	1.200

Comp.	ProCISE beta5 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI <sub>50</sub> (nM)	ProCISE LMP2 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI <sub>50</sub> (nM)	ProCISE LMP7 lisado de MOLT4 Hu 1h CONT: CI <sub>50</sub> (nM)	Solubilidad pH 7 (µg/mL)
C-3004	NT	NT	NT	995,7
C-3005	NT	NT	NT	1.915
C-3006	NT	NT	NT	384,7
C-3007	9.843,63	273,74	3.456,3	86,7
C-3008	20.581,62	109,3	5.154,72	NT
C-3009	8.286,07	517,46	4.573,92	NT
C-3010	4.296,63	NT	1.164,51	1.381,1
C-3011	NT	NT	NT	1.228,9
C-3012	6.043,13	NT	2.745,4	4.408,6
C-3013	14.177,74	NT	3.478,43	1.908,6
C-3014	NT	34,85	NT	69,4
C-3015	NT	37,64	NT	143,4
C-3016	NT	55,05	NT	7.524,4
C-3017	NT	33,04	NT	6.639,3
C-3018	NT	24,88	NT	515,6
C-3019	NT	16,81	NT	639,2

NT = no ensayado

#### Ejemplo 20 - Ensayos del proteasoma 20S

5 Se determinaron las actividades de tipo quimotripsina, de tipo caspasa, y de tipo tripsina del proteasoma para diversos compuestos proporcionados en la presente memoria usando succinil-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC (10 Amoles/L), Z-Leu-Leu-Glu-AMC (10 Amoles/L), y Boc-Leu-Arg-Arg-AMC (50 Amoles/L), respectivamente, con proteasoma 20S humano purificado (2, 4, y 8,0 nmoles/L, respectivamente) o lisado de células HT-29 (0,125, 0,25, y 0,25 Ag proteína/mL, respectivamente). El tampón de ensayo consistió en tampón TE [20 mmoles/L Tris (pH 8,0), 0,5 mmoles/L de EDTA] con (20S) o sin (lisado celular) 0,03 % de SDS. Las reacciones se iniciaron mediante la adición de enzima o lisado y se monitorizaron para detectar la formación del producto AMC a 27°C con un espectrofluorímetro basado en placa (Tecan). Los valores de CI<sub>50</sub> se determinaron sobre la base de la velocidad de reacción medida entre 60 y 75 min. Véase también Demo, S. D. et al., *Cancer Res.* 2007, 67, 6383-6391.

10 Los resultados para compuestos seleccionados proporcionados en la presente memoria se muestran en la siguiente tabla:

Estructura	LLVY i20S Hu 1h CONT: CI <sub>50</sub> (nM)	LLVY c20S Hu 1h CONT: CI <sub>50</sub> (nM)
C-2014	16,6	45,7
C-2018	570	12.800
C-2020	560	797
C-2021	1.220	99.000
C-2015	2.920	18.600
C-2022	23,5	65,3

ES 2 687 368 T3

<b>Estructura</b>	<b>LLVY i20S Hu 1h CONT: Cl<sub>50</sub> (nM)</b>	<b>LLVY c20S Hu 1h CONT: Cl<sub>50</sub> (nM)</b>
C-2025	569	289
C-2023	55,3	857
C-2026	64,6	1.360
C-2027	470	2.130
C-2028	11,9	323
C-2029	2.580	3.400
C-2030	71,7	785
C-2031	763	18.300
C-2019	332	579
C-2032	107	1.890
C-2033	1.450	10.100
C-2034	19.500	64.400
C-2036	1.380	5.140
C-2037	891	6.080
C-2024	2.270	6.030
C-2038	722	3.550
C-2039	2.520	3.950
C-2040	624	4.610
C-2041	1.400	9.800
C-2042	336	9.450
C-2044	1.604	286
C-2043	271	15.100
C-2045	102	1.290
C-2050	49,2	521
C-2051	34,0	459
C-2052	10,8	316
C-2054	55,0	723
C-2059	15,9	246
C-2060	17,3	201
C-2035	4,6	15,3
C-2046	5,2	7,9
C-2007	118	432
C-2008	558	1.590
C-2010	414	1.051

## ES 2 687 368 T3

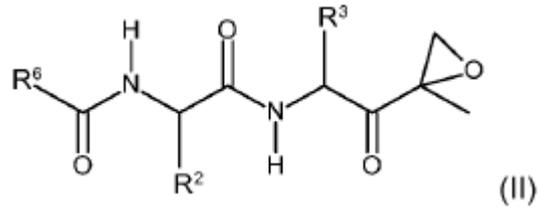
<b>Estructura</b>	<b>LLVY i20S Hu 1h CONT: Cl<sub>50</sub> (nM)</b>	<b>LLVY c20S Hu 1h CONT: Cl<sub>50</sub> (nM)</b>
C-2079	0,235	0,0301
C-2080	0,28	0,0314
C-2006	6,1	29,0
C-2011	13,5	68,6
C-2012	86,9	262
C-2013	40,2	117
C-2056	28,9	191
C-3009	9.890	87.800
C-3010	1.605	4.080
C-3011	4.550	3.320
C-3012	4.790	14.500
C-3013	4.050	15.900
C-2018	570	12.800
C-2020	560	797
C-2021	1.220	99.000
C-2027	470	2.130
C-2028	11,9	323
C-2019	332	579
C-2042	336	9.450
C-2043	271	15.100
C-2050	49,2	521
C-2051	34,0	459
C-2052	10,8	316
C-2054	55,0	723
C-2059	15,9	246
C-2060	17,3	201
C-2004	562	3.610
C-2036	199	2.710
C-2048	55,2	411
C-2038	649	7.630

### Otras realizaciones

Se debe entender que, aunque la descripción se lea conjuntamente con la descripción detallada de la misma, se pretende que la descripción anterior ilustre y no limite el alcance de la descripción, que se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

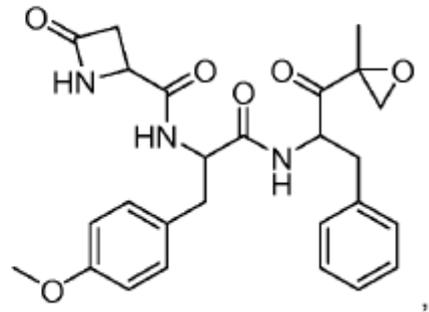
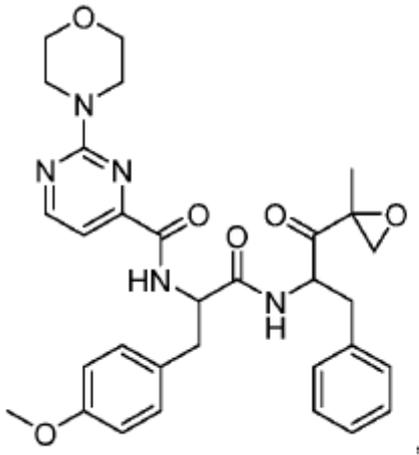
REIVINDICACIONES

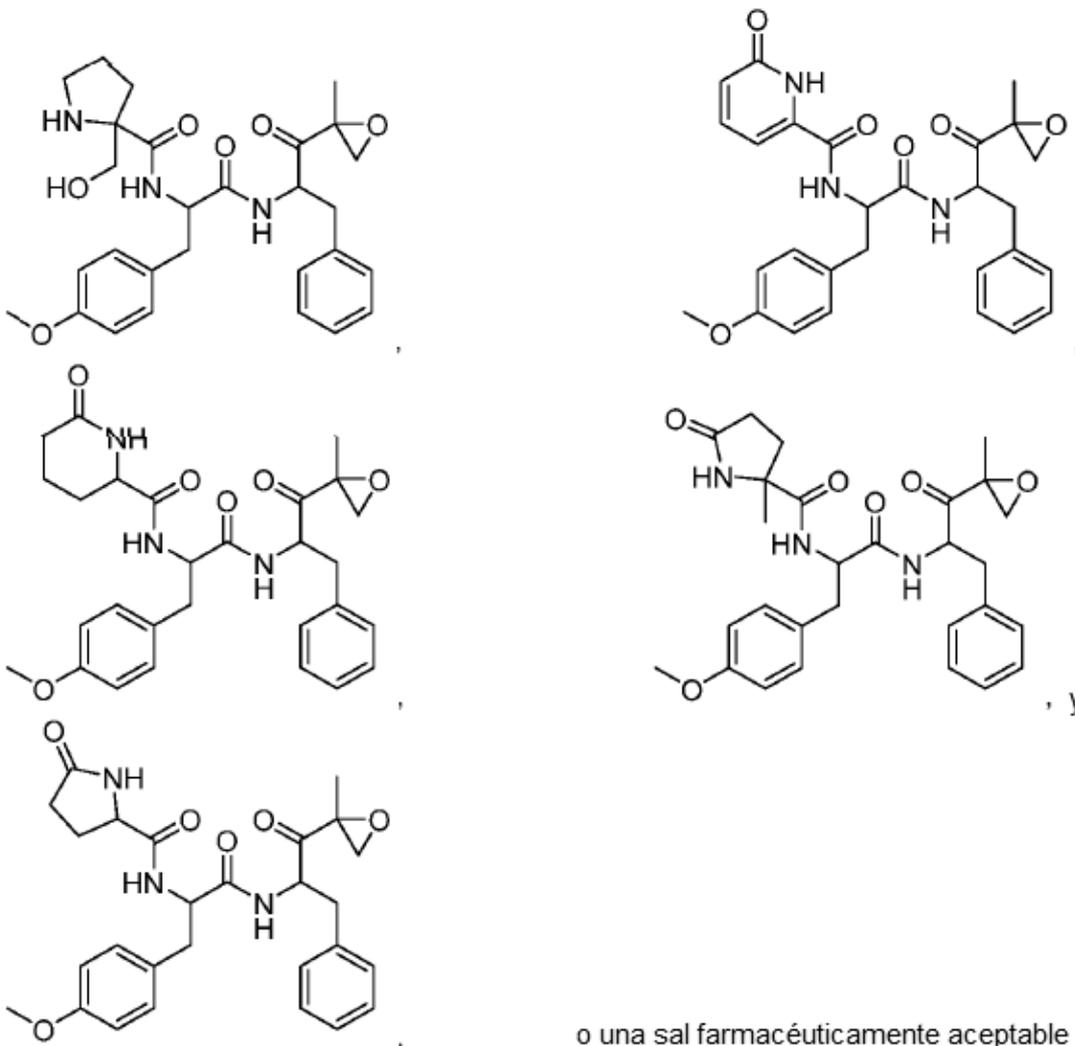
1. Un compuesto de Fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



en donde:

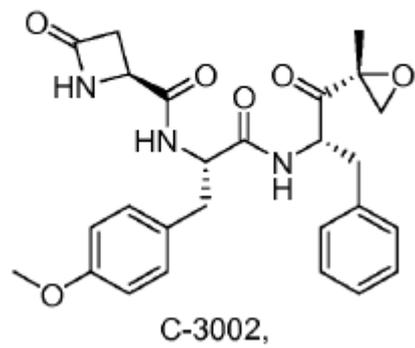
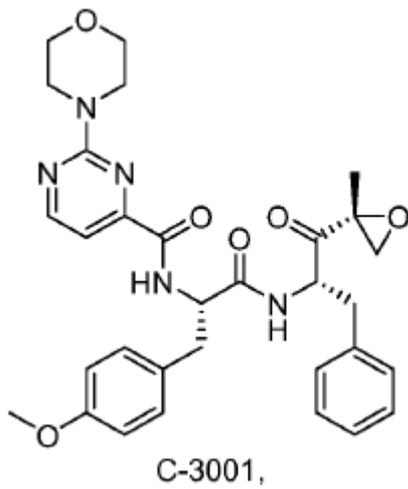
- 5 R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> se seleccionan cada uno independientemente de aralquilo C<sub>1-6</sub> y heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>; y R<sup>6</sup> se selecciona de heterociclilo y heteroarilo.
- 2. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>2</sup> es heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>.
- 3. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>2</sup> es aralquilo C<sub>1-6</sub>.
- 4. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>3</sup> es heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>.
- 10 5. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>3</sup> es aralquilo C<sub>1-6</sub>.
- 6. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>6</sup> es heterociclilo.
- 7. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>6</sup> es heteroarilo.
- 8. Un compuesto según la reivindicación 1 que tiene una estructura seleccionada del grupo que consiste en:

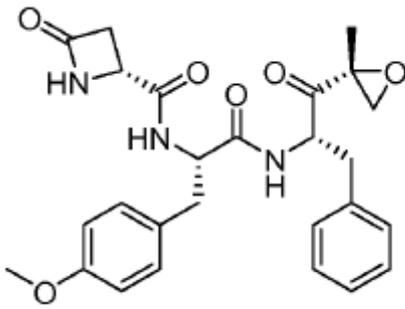




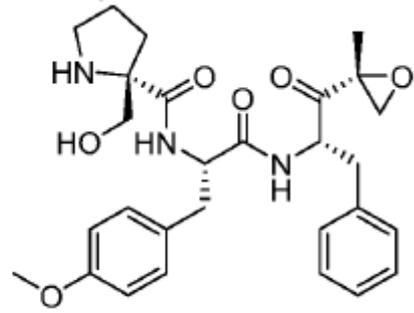
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. Un compuesto según la reivindicación 1 que tiene una estructura seleccionada del grupo que consiste en:

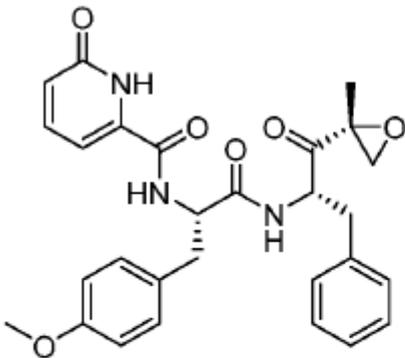




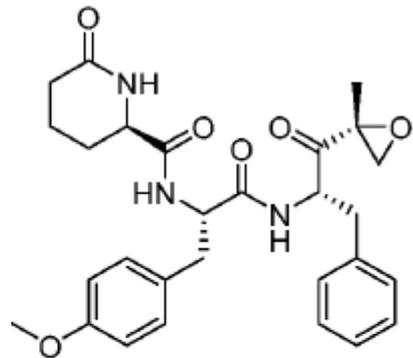
C-3003,



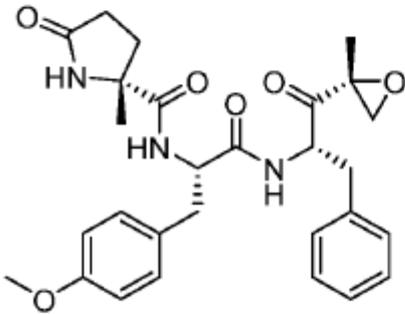
C-3005,



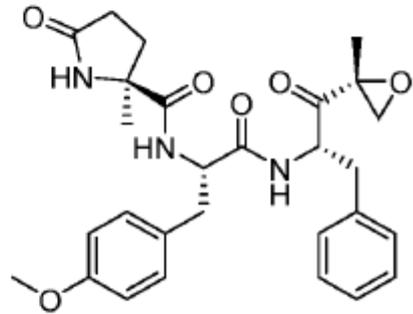
C-3008,



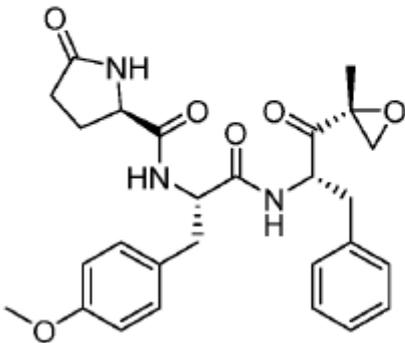
C-3009,



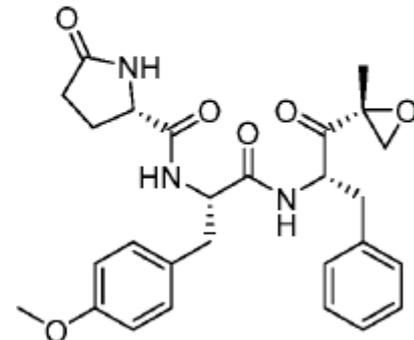
C-3010,



C-3011,



C-3012, y

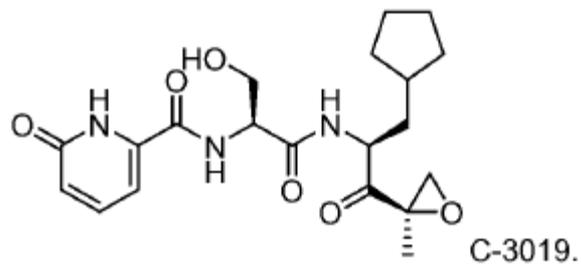
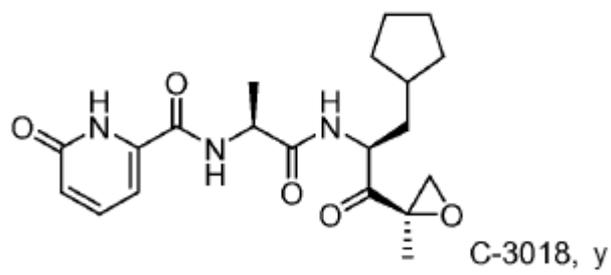
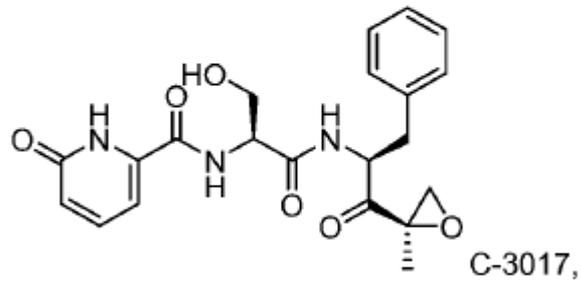
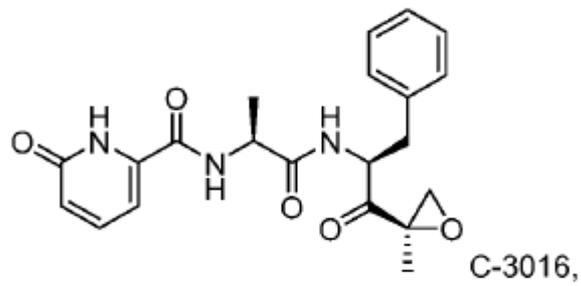
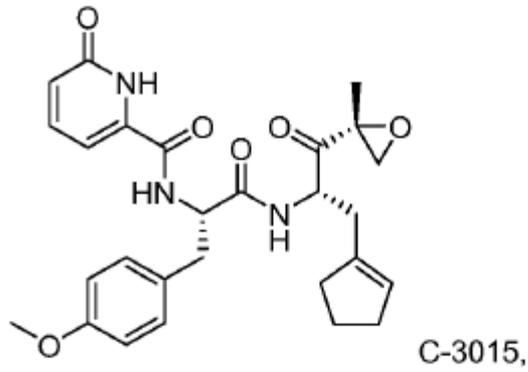


C-3013,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. Un compuesto que tiene una estructura seleccionada del grupo que consiste en:





11. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

12. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o la composición de la reivindicación 11, para su uso en un método para inhibir el inmunoproteasoma de una célula.
13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o la composición de la reivindicación 11, para su uso en la inhibición de un inmunoproteasoma en un sujeto humano.
- 5 14. Un compuesto para su uso según la reivindicación 12 o reivindicación 13, en donde el compuesto inhibe la subunidad LMP2 del inmunoproteasoma.
15. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o la composición de la reivindicación 11, para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) una enfermedad relacionada con la inmunidad; o
- 10 (b) cáncer; o
- (c) inflamación; o
- (d) infección; o
- (e) enfermedad proliferativa; y
- (f) enfermedad neurodegenerativa.